



BAHIANA
ESCOLA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA E SAÚDE HUMANA

ESTUDO DOS DETERMINANTES DE RISCO PARA INFECÇÃO PELO HTLV EM
DOADORES DE SANGUE DO ESTADO DA BAHIA E CARACTERIZAÇÃO GENOTÍPICA
DOS ISOLADOS VIRAIS

Augusto César de Andrade Mota

Salvador-Bahia
Brasil
2006



BAHIANA
ESCOLA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA

ESTUDO DOS DETERMINANTES DE RISCO PARA INFECÇÃO PELO HTLV EM
DOADORES DE SANGUE DO ESTADO DA BAHIA E CARACTERIZAÇÃO GENOTÍPICA
DOS ISOLADOS VIRAIS

Tese apresentada ao curso de Pós-graduação em
Medicina e Saúde Humana da Escola Bahiana de
Medicina e Saúde Pública para obtenção do título de
Doutor em Medicina.

Autor: Augusto César de Andrade Mota

Orientadores: Prof. Dr. Bernardo Galvão Castro Filho
Prof. Dr. Luiz Carlos Júnior Alcântara

Salvador-Bahia

2006

L732 Mota, Augusto César de Andrade

Estudo dos Determinantes de Risco para Infecção pelo HTLV em Doadores de Sangue do Estado da Bahia e Caracterização Genotípica dos Isolados Virais.

Augusto César de Andrade Mota. – Salvador: A.C.A. Mota, 2006.

81f.

Orientadores:

Prof. Dr. Bernardo Galvão Castro Filho

Prof. Dr. Luiz Carlos Júnior Alcântara

Tese (doutorado) – Escola Bahiana de Medicina, 2006.

1. HTLV-1. 2. Bahia-Salvador I. Título.

CDU: 616.988.2(813.8)

Catálogo: Sonia Maria Ferreira da Silva.



BAHIANA
ESCOLA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA

ESTUDO DOS DETERMINANTES DE RISCO PARA INFECÇÃO PELO HTLV EM
DOADORES DE SANGUE DO ESTADO DA BAHIA E CARACTERIZAÇÃO GENOTÍPICA
DOS ISOLADOS VIRAIS

Augusto César de Andrade Mota

Folha de Aprovação

Comissão Examinadora

Prof. Dr. Auro del Giglio

Professor Titular da Disciplina de Hematologia e Oncologia - FMABC

Livre-Docente em Clínica Médica, Universidade de São Paulo

Prof. Dr. Fernando Augusto Proietti

Professor de Saúde e Ecologia Humana, UFMG

Doutor em Ciências Epidemiológicas, Universidade Johns Hopkins, EUA

Profa. Dra. Inês Dourado

Professora Associada, Instituto de Saúde Coletiva, UFBA

Doutora em Saúde Pública, Universidade da Califórnia em Los Angeles, EUA

Prof. Dr. Luís Cláudio Lemos Correia

Professor Adjunto da Escola Bahiana de Medicina

Doutor em Medicina e Saúde, Universidade Federal da Bahia

Profa. Dra. Ana Verena Almeida Mendes

Professora Adjunta da Escola Bahiana de Medicina

Doutora em Infectologia, Universidade de São Paulo

“A morte do homem começa no instante em que ele desiste de aprender”.
(Albino Teixeira)

- I – À minha família, meu referencial.
- II - À minha esposa, pela sua paciência e apoio durante todo este tempo.
- III – Aos meus filhos, minha fonte inesgotável de energia.

Instituições Envolvidas:

- 1 - HEMOBA – Fundação de Hematologia e Hemoterapia da Bahia.
- 2 - Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública/Fundação para Desenvolvimento das Ciências
- 3 - Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz – Fundação Oswaldo Cruz - Bahia

Fontes de Financiamento:

- 1 - Secretaria de Saúde do Estado da Bahia
- 2 - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (Fapesb)
- 3 - CNPq

EQUIPE

Dr. Augusto César de Andrade Mota, doutorando

Prof. Dr. Bernardo Galvão Castro Filho, orientador

Prof. Dr. Luiz Carlos Jr. Alcântara, orientador

Viviana Olavarria, bióloga da Fiocruz-Ba, responsável pelos testes de sequenciamento

Artur Queiroz, estudante de iniciação científica, participação nos testes de sequenciamento

Noilson Gonçalves, responsável pela coleta das amostras e realização dos testes sorológicos

Sônia Rangel, funcionária do Centro de HTLV, responsável pelo contato com os participantes do estudo e pelo agendamento das entrevistas

AGRADECIMENTOS

I – Ao Prof. Dr. Bernardo Galvão-Castro, por todo o ensinamento durante o desenvolvimento deste trabalho.

II – A Luiz Carlos Jr. Alcântara, pela orientação e pela sua grande contribuição na análise filogenética dos isolados virais.

III – A Viviana Olavarria, pela sua assistência técnica nos testes de sequenciamento.

IV – Aos funcionários do Hemoba, em particular ao Sr. Antônio Carlos Moraes pela sua presteza no fornecimento das informações necessárias à realização do trabalho.

IV – Aos funcionários do Centro de HTLV, em particular a querida Sônia, pela sua eficiência e dedicação no contato com os participantes do estudo e no agendamento das entrevistas.

V – Ao amigo Noilson Gonçalves, pela sua inestimável colaboração na coleta das amostras e na realização dos testes sorológicos.

VI – Aos funcionários e pesquisadores do LASP que de alguma forma contribuíram com este trabalho.

VII – Aos colegas de trabalho, pela compreensão e apoio durante a realização deste trabalho.

VIII – Aos doadores de sangue que participaram do estudo. Por terem participado, mas principalmente por terem tido a atitude nobre de ter doado sangue.

ÍNDICE

Índice de Tabelas	3
Índice de Figuras	4
I. Resumo	5
II. Introdução	6
III. Revisão da Literatura	8
III.A. Histórico	8
III.B. Morfologia do HTLV	8
III.C. Estrutura genética do HTLV	9
III.D. O receptor celular do HTLV	12
III.E. Subtipos de HTLV	13
III.F. Epidemiologia da infecção pelo HTLV-1	13
III.F.1. Epidemiologia da infecção pelo HTLV-1 no Brasil	14
III.F.2. Epidemiologia da infecção pelo HTLV-1 no Bahia	16
III.F.3. Fatores de Risco para a infecção pelo HTLV-1	18
III.F.4. Epidemiologia da infecção pelo HTLV-1 em doadores de sangue	20
III.F.5. Fatores de risco associados à infecção pelo HTLV-1 em doadores de sangue	22
III.G. Epidemiologia molecular da infecção pelo HTLV-1	25
III.G.1. Métodos filogenéticos moleculares	25
III.G.1.a. Árvores filogenéticas	26
III.G.1.b. Modelos de substituição nucleotídica	27
III.G.1.c. Modelos de γ -distribuição	28
III.G.1.d. Métodos filogenéticos baseados no cálculo da matriz de distâncias	29
III.G.1.e. Métodos de máxima verossimilhança (<i>maximum likelihood</i>)	29
III.G.1.f. O <i>bootstrap</i>	29
III.H. A história do HTLV nas populações humanas	30
IV. Objetivos	35
V. Justificativa	36
VI. Casuística, material e métodos	38
VI.A. Delineamento do estudo	38
VI.A.1. Definição de Caso	38
VI.A.2. Definição de Controle	38
VI.A.3. Recrutamento	38
VI.A.3.a. Casos	38
VI.A.3.b. Controles	39
VI.B. Coleta de Dados	39
VI.C. Coleta de Material	40
VI.D. Locais de estudo	40

VI.E. Diagnóstico laboratorial	41
VI.E.1. Triagem	41
VI.E.1. Confirmação	41
VI.F. Caracterização molecular	42
VI.F.1. Extração de DNA e amplificação de PCR	42
VI.F.2. Sequenciamento e análise filogenética	42
VI.F.3. Números de acesso	43
VI.G. Análise estatística	44
VI.H. Considerações éticas	45
VII. Resultados	46
VII.A. População estudada	46
VII.B. Análise descritiva	46
VII.B.1. Características demográficas e socioeconômicas	46
VII.B.2. Características comportamentais de risco	48
VII.B.3. Análise univariada e multivariada	51
VII.B.4. Análise dos fatores de risco estratificada por gênero	53
VII.B.5. Resultados de outros testes sorológicos	57
VII.C. Análise filogenética	58
VIII. Discussão	62
IX. Conclusões	75
X. Perspectivas de estudo	76
XI. Abstract	77
XII. Referências bibliográficas	78
XIII. Anexos	95

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Características demográficas dos doadores participantes do estudo.	47
Tabela 2. Características comportamentais sexuais dos doadores participantes do estudo (parte 1)	49
Tabela 3. Características comportamentais sexuais dos doadores participantes do estudo (parte 2)	50
Tabela 4. Características comportamentais outras dos doadores participantes do estudos	51
Tabela 5. Análise univariada dos fatores de risco para infecção pelo HTLV-1	52
Tabela 6. Análise multivariada dos fatores de risco para infecção pelo HTLV-1	53
Tabela 7. Comparação das características demográficas entre homens e mulheres	54
Tabela 8. Comparação das características comportamentais entre homens e mulheres	55
Tabela 9. Variação da Razão de Chances em modelo de regressão logística	57

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ilustração de um vírion de HTLV.	9
Figura 2. Organização genômica do HTLV.	10
Figura 3. Esquema ilustrativo da regulação da expressão gênica do HTLV-1.	12
Figura 4. Distribuição global da prevalência de infecção pelo HTLV-1.	14
Figura 5. Taxas de prevalência de infecção pelo HTLV-1/2 em doadores de sangue no	23
<small>Brazil</small> Figura 6. Relação filogenética proposta entre os diferentes isolados de STLV e HTLV-1.	31
Figura 7. Árvore NJ enraizada de cepas de HTLV-1 baseado na análise filogenética do	34
<small>ITD</small> Figura 8. Ilustração representativa do segmento da sequência da região LTR do isolado	61

I. RESUMO

Título: ESTUDO DOS DETERMINANTES DE RISCO PARA A INFECÇÃO PELO HTLV EM DOADORES DE SANGUE DO ESTADO DA BAHIA E CARACTERIZAÇÃO GENOTÍPICA DOS ISOLADOS VIRAIS. Objetivo: determinar os fatores de risco associados à infecção pelo HTLV em doadores de sangue do Estado da Bahia e caracterizar genotipicamente os isolados virais. Desenho do Estudo: Caso-controle. Material e métodos: 504 doadores com teste sorológico de triagem positivo (total de doações = 104.835, prevalência não confirmada de 0,48%) foram convidados por carta (X 2) e contato telefônico. 154 (33,1%) compareceram para o teste confirmatório (Western Blot [WB]), dos quais 139 foram positivos (91,9%). 99 dos 139 consentiram em participar do estudo (casos). 194 doadores com teste sorológico de triagem negativo participaram como controles. Foram obtidas informações de ordem demográfica, socioeconômica, educacional e relativas ao comportamento sexual através de um questionário padronizado aplicado por um único entrevistador. Isolados virais de 23 doadores foram sequenciados e analisados filogeneticamente. Resultados: A análise multivariada revelou que sexo feminino (OR=3,8), baixa renda familiar (OR=3,4), DST prévia (OR=6,1), uso inconstante de preservativo (OR=4,7) e número de parceiros durante a vida (OR=9,3) são fatores de risco independentes para infecção pelo HTLV-1. Observamos diferenças significativas de comportamento sexual entre homens e mulheres. Todos os isolados virais analisados pertenceram ao subgrupo transcontinental, subgrupo cosmopolita. Pela primeira vez foi observado um isolado da África do Sul inserido no grupamento latino-americano principal. Conclusão: Os fatores de risco identificados confirmam achados prévios de outros estudos. Os nossos achados sugerem que a principal via de transmissão de HTLV-1 na Bahia seja a sexual, e que as mulheres estão em uma posição de vulnerabilidade. A análise filogenética demonstrou que a África do Sul pode ter contribuído na introdução do HTLV-1 no Brasil. Observamos uma importante queda na prevalência da infecção pelo HTLV-1 em doadores de sangue no nosso Estado na última década.

II. INTRODUÇÃO

A infecção pelo HTLV-1 (sigla referente a *Human T-cell Lymphotropic Virus Type 1*) deve ser vista como um problema de saúde pública, apesar da patogenicidade relativamente baixa deste retrovírus quando comparada à do HIV. Estimativas sugerem que 20 milhões de pessoas em todo o mundo sejam portadores do HTLV-1, com algumas áreas reconhecidamente tendo prevalências bastante elevadas. O Brasil é considerado um país onde a infecção pelo HTLV-1 é endêmica, ainda que a prevalência seja relativamente baixa quando comparado a países como Japão e Jamaica. Apesar disso, em função das suas dimensões continentais o Brasil pode albergar o maior número absoluto de indivíduos infectados pelo HTLV-1.

A cidade de Salvador se destaca como sendo uma das cidades brasileiras de maior prevalência dessa infecção, possivelmente em função do grande número de africanos trazidos no período do tráfico de escravos. Considerando-se a prevalência de infecção pelo HTLV-1 na cidade de Salvador, que é de 1,8%, pode-se estimar que existam entre 40.000 e 50.000 pessoas infectadas. Considerando também que cerca de 5% desses indivíduos (entre 2.000 e 2.500 pessoas) desenvolverão doenças com elevadas taxas de mortalidade (p. ex. leucemia linfoma de células T do adulto) e de morbidade (p. ex., mielopatia associada ao HTLV-1), e que os pacientes são acometidos usualmente nas suas fases de vida mais produtivas, o problema da infecção pelo HTLV-1 provavelmente tem relevância local.

Entre doadores de sangue as evidências mais recentes revelam uma significativa heterogeneidade na prevalência de HTLV-1 nas diferentes regiões do país, observação que ainda carece de explicações conclusivas. Além disso, os números mais recentes apontam para uma redução gradativa da prevalência geral, cujas razões ainda são meramente especulativas, tais como a criação do COAS e o efeito dilucional causado pela exclusão definitiva dos doadores infectados. Apesar da tendência à queda na prevalência, Salvador ainda continua entre as cidades com uma das maiores prevalências de infecção pelo HTLV-1.

Vários fatores de risco para a infecção pelo HTLV-1 em doadores de sangue têm sido descritos. Na maioria dos estudos essa infecção tem sido associada a baixos indicadores

socioeconômicos (baixa escolaridade, baixa renda, etc.) e a certas características de comportamento sexual (número de parceiros sexuais, uso inconstante de preservativos durante as relações sexuais, relações sexuais com indivíduos procedentes de áreas endêmicas para infecção pelo HTLV-1, etc.). Além desses fatores de risco "universais", estudos revelam uma importante heterogeneidade dos determinantes de risco para infecção pelo HTLV-1, mesmo para regiões geograficamente próximas. Em virtude dessa característica, estudos para identificação de determinantes de risco para infecção pelo HTLV-1 são necessários, particularmente em localidades onde a prevalência da infecção é considerada elevada.

Apesar dos inúmeros estudos epidemiológicos sobre a infecção pelo HTLV-1 na cidade de Salvador, a origem dessa infecção entre nós ainda é incerta. Em função da extraordinária estabilidade genética desse retrovírus, parcialmente explicada pelo fato de a replicação proviral ser decorrente da expansão clonal das células infectadas ao invés da replicação do vírus por transcrição reversa, a análise filogenética do HTLV-1 tem sido utilizada como uma importante ferramenta no estudo da origem e da disseminação da infecção.

Análises filogenéticas de isolados virais e de haplotipos da β^A globina da população geral da cidade de Salvador sugerem uma possível origem da região sul do continente africano para as cepas circulantes na nossa cidade. A análise de um número adicional de isolados virais pode revelar evidência adicional reforçando essa hipótese. Além disso, as informações obtidas com o sequenciamento da região LTR, que é o local onde se encontram as regiões promotoras da transcrição viral, podem ser úteis na identificação de sequências "patogênicas" ao se fazer a correlação com a evolução clínica dos indivíduos dos quais os isolados foram obtidos e sequenciados.

III. REVISÃO DA LITERATURA

III.A. Histórico.

A descoberta do vírus linfotrópico de células T humanas tipo I (HTLV-I) está ligada a uma epidemia de leucemia/linfoma de células T do adulto (ATLL) ocorrida no Japão na década de 70 (UCHIYAMA, 1977; TAKATSUKI, 1977), o que levou subsequentemente ao isolamento de um antígeno viral, denominado MT-1 (HINUMA, 1981). Anticorpos contra este antígeno foram encontrados no soro de todos os 44 pacientes portadores de ATLL estudados, e em 32 de 40 pacientes com outros linfomas de células T, os quais tinham quadro clínico bastante semelhante ao dos pacientes com ATLL, porém sem evidência de células leucêmicas circulantes (HINUMA, 1981).

Paralelamente a essas descobertas no Japão, um grupo de pesquisadores do Instituto Nacional de Saúde dos Estados Unidos identificou um retrovírus em uma linhagem celular (HUT102) oriunda de um paciente com micose fungoide, que mais tarde descobriu-se ser portador de leucemia de células T do adulto (POIESZ, 1980). Subsequentemente descobriu-se que o retrovírus que no Japão foi inicialmente identificado como vírus da leucemia de células T do adulto (ATLV, *adult T-cell leukemia virus*), e que nos Estados Unidos foi chamado de HTLV-1, eram idênticos. A partir de então, o primeiro retrovírus humano descrito passou a ser chamado de HTLV-1 (WATANABE, 1984). Na mesma época em que era descoberto o HTLV-1, Kalyanaraman descrevia o HTLV-2, isolado de uma linhagem de células T estabelecida em um paciente com leucemia de células pilosas (KALYANARAMAN, 1982).

III.B. Morfologia do HTLV.

As partículas virais (ou vírions) do/HTLV são esféricas e medem cerca de 100 a 140 nm de diâmetro. Cada vírion tem um nucleocapsídeo icosaédrico central com diâmetro 80 a 100 nm, circundado por um envelope circular (Figura 1). Um único complexo proteico está presente na superfície do vírion, consistindo de duas subunidades proteicas glicosiladas: a proteína de superfície (SU) denominada gp21 e a proteína transmembrana (TM) denominada gp46. O core interno é constituído de três proteínas: proteína do nucleocapsídeo (NC) ou p19, do capsídeo (CA) ou p24 e da matriz (MA) ou p15. Nesse core, um RNA dimérico (35S cada

fita) de 8-9 kb (kilobases) esta empacotado junto com outras proteínas importantes no desenvolvimento do papel catalítico antes do ciclo de replicação viral: a transcriptase reversa, a integrase e a protease ou RNase H. De acordo com o seu aspecto através da microscopia eletrônica, o HTLV tem morfologia do tipo C: possui núcleo eletrodenso central, e extracelular e brota da membrana das células do hospedeiro (WONG-STAAAL, 1985; SALEMI, 1999).

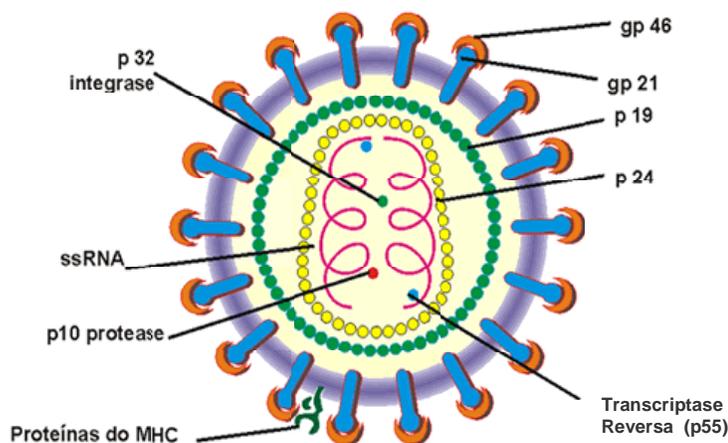


Figura 1. Estrutura do vírion do HTLV.

III.C. Estrutura genética do HTLV

O HTLV tem um genoma de conteúdo quatro genes codificantes: *gag* (grupo antigênico), *pol* (polimerase), *env* (envelope) e *tax/rex* (transativador/regulador da expressão) (FEUER, 2005). O genoma é flanqueado por sequências não-codificantes: uma sequência única nas extremidades 5' e 3', chamadas respectivamente de U5 e U3, as quais por sua vez flanqueiam uma pequena sequência repetitiva em ambas as extremidades, chamada R (Figura 2).

Um tRNA-prolina (pro-tRNA) próximo de cada extremidade 5' do RNA é usado como iniciador para síntese do DNA. Na forma proviral, o genoma viral possui duas repetições denominadas "*long terminal repeats*" (LTR), dentro das quais estão contidas as sequências

U3, R e U5, em ambas as extremidades do DNA proviral. Durante a transcrição três RNAm são produzidos: o RNAm genômico de 8,5 kb, transcrito da junção U3-R na extremidade LTR 5' até a junção R-U5 na extremidade LTR 3', que é traduzido nas proteínas *Gag* e *Pol*; o RNAm subgenômico de 4,2 kb (processado uma única vez) que codifica as proteínas *Env*; o RNAm de 2,1 kb (duplamente processado) que codifica as proteínas reguladoras Tax e Rex dos diferentes "open reading frames" (ORF).

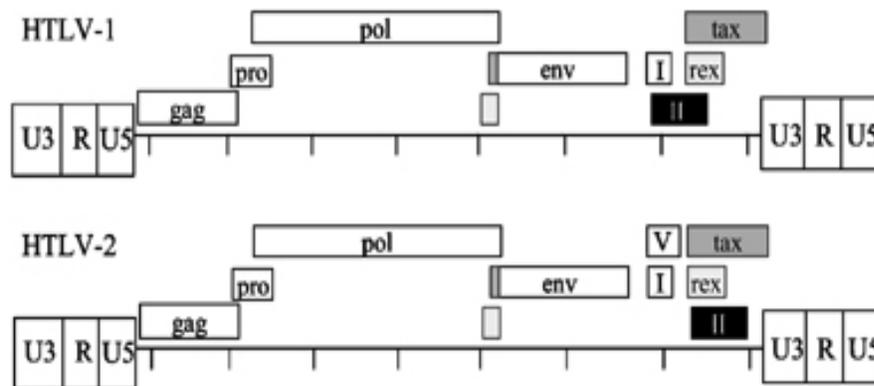


Figura 2. Organização genômica do HTLV. Adaptado de Feuer e Green, Oncogene, 2005.

As duas regiões LTR idênticas, localizadas nas extremidades 5' e 3' do genoma proviral, contêm sequências reguladoras que controlam a integração e a expressão proviral. O LTR é a região mais divergente do genoma do **HTLV** e poucos trechos se mantêm conservados entre o HTLV-1 e o HTLV-2, incluindo elementos que são importantes para expressão dos genes virais. A região LTR é a mais comumente explorada nos estudos de sequenciamento e análise filogenética desses retrovírus.

A região *gag* codifica as três proteínas MA (da matriz), CA (do capsídeo) e NC (do nucleocapsídeo), também denominadas p19, p24 e p15, respectivamente, de acordo com

seus pesos moleculares. A protease viral é codificada por uma região no genoma do HTLV pertencente a parte da região *gag-3'* e parte da região *pol-5'*. Essa protease é responsável pela clivagem das poliproteínas precursoras Gag, Gag-Pro e Gag-Pro-Pol, e por gerar a protease madura pela atividade de auto-clivagem (NAM, 1988).

O gene *pol* do HTLV é inicialmente expresso como um precursor poliproteico Gag-Pro-Pol. A região *pol* codifica as proteínas transcriptase reversa, a RNase H e a integrase, sendo que nenhuma delas foi ainda caracterizada com detalhes. O gene *env* codifica uma proteína precursora que é clivada por proteases celulares, originando as proteínas maduras do envelope viral: uma proteína de superfície chamada SU, de 46 kD, e uma transmembrana chamada TM, de 21 kD, também conhecidas como gp46 e gp21, respectivamente. A principal função da proteína precursora é se ligar ao recém-descoberto receptor de superfície celular para o HTLV-1, iniciando a infecção viral (MANEL, 2005).

A região *pX* inicia-se no final do gene *env*. O *pX* proximal consiste de cerca de 600 nucleotídeos contendo ORF (sigla referente a *Open Reading Frame*) diferentes, codificando para proteínas auxiliares, cujas funções não são conhecidas (CIMINALE, 1995). A região *pX* distal codifica o segundo exon das duas proteínas reguladoras *Tax* e *Rex*. A proteína *Tax* do HTLV-1 é uma fosfoproteína de 42 kD que funciona como um fator ativador transcricional, que promove a interação de fatores celulares com as sequências potencializadoras (*enhancers*) de 21 pb localizadas na região LTR5' do genoma proviral (YOSHIDA, 2005). *Tax* ativa a transcrição de vários genes celulares, influenciando a ligação de fatores de transcrição celular ao DNA, incluindo genes codificantes de linfocinas, receptores de linfocinas, moléculas de superfície celular e proto-oncogenes, nos diferentes passos da transcrição, alongamento e terminação (Figura 3) (YOSHIDA, 2005; FRANCHINI, 1995). Outros mecanismos de atuação das proteínas do gene *tax* parecem envolver interações com o gene supressor de tumor p53 (PISE-MASISON, 1998) além de ativação da molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1, sigla referente a *intercellular adhesion molecule 1*) (UCHIYAMA, 1996).

O segundo gene regulador, o gene *rex*, é essencial para replicação viral. A proteína *Rex* possui 27 kD, e sua função consiste em induzir a expressão dos RNAs, bem como

regular os níveis de expressão das proteínas virais, desenvolvendo um papel importante como modulador da transição da fase reguladora inicial para a fase produtiva do ciclo de replicação do HTLV-1

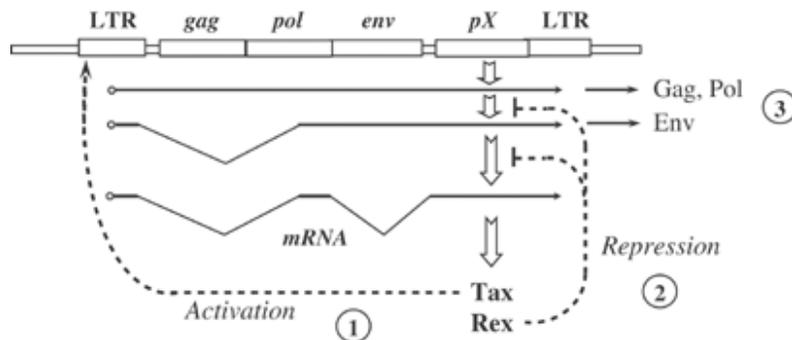


Figura 3. Esquema ilustrativo da regulação da expressão gênica do HTLV-1 pelas proteínas tax e rex.

III.D. O receptor celular do HTLV.

Um dos mais intrigantes aspectos da infecção pelo HTLV-1/2, relacionado a natureza do seu receptor celular, foi recentemente desvendado. Dentre as varias moléculas exploradas como potenciais receptores celulares do HTLV-1/2, como tetraspaninas (PIQUE, 2000), VCAM-1 (sigla referente a *vascular cell adhesion molecule 1*) (HILDRETH, 1997), ICAM-1 e ICAM-3 (DAENKE, 1999), e proteoglicanos de heparan sulfato (PINON, 2003), evidências atuais sugerem que o GLUT-1, a principal molécula de transporte de glicose e lactato através da membrana celular, seja o receptor celular de entrada do HTLV-1/2 (MANEL, 2003). Uma vez que o GLUT-1 é um transportador transmembrana de distribuição universal no organismo, incluindo células endoteliais da barreira hemato-encefálica (CORNFORD, 1994), varias células no olho (KUMAGAI, 1994) e células da glia (VIRGINTINO, 1997), as implicações dessa descoberta são consideráveis com relação a

expansão do conhecimento da fisiopatologia das diferentes manifestações clínicas relacionadas a infecção pelo HTLV-1 (MANEL, 2004).

III.E. Subtipos de HTLV.

Os estudos filogenéticos tem possibilitado o agrupamento do HTLV-1 em seis diferentes subtipos: Ia, ou Cosmopolita, espalhado em diferentes áreas geográficas do mundo (MIURA, 1994); Ib, Africano central (HAHN, 1984); Ic, ou Melanésio, subtipo isolado na Papua Nova Guiné e Austrália (GESSAIN, 1993); Id, isolado de pigmeus da República Central Africana, bem como de pacientes da República de Camarões e Gabão (CHEN, 1995; MBOUDJEKA, 1997); Ie e If, recentemente propostos como os isolados mais divergentes representando novos subtipos, isolados de amostras de pigmeus no Congo e de um individuo do Gabão (SALEMI, 1998). O subtipo cosmopolita ainda pode ser dividido em diferentes subgrupos: transcontinental (A), japonês (B), oeste africano (C) e norte africano (D) (MIURA, 1997; GASMI, 1994; VIDAL, 1994). Conforme sugerido pelos seus próprios nomes, esses grupos filogenéticos e seus subgrupos são associados a origem geográfica e etnia dos portadores dos vírus descritos originalmente.

III.F. Epidemiologia da infecção pelo HTLV-1

O HTLV-1 é um retrovírus de distribuição mundial, com estimativas de que existam entre 15 e 20 milhões de pessoas infectadas em todo o mundo (De THE, 1996; PROIETTI, 2005). Diferentemente da infecção pelo HIV, a infecção pelo HTLV-1 tem distribuição desigual em várias partes do globo, com certas regiões tendo prevalência notoriamente mais elevada (Figura 4). Em algumas ilhas do sudoeste do Japão a prevalência de infectados na população geral pode chegar a 37% (HINUMA, 1982). A região da Melanésia também é considerada região endêmica, com soroprevalência de 14%, bem como certas ilhas do Caribe, onde a prevalência varia de 5 a 8% da população geral (YANAGIHARA, 1990; MURPHY, 1991). A endemicidade da infecção pelo HTLV-1 se estende a alguns países das Américas Central e Latina, incluindo o Brasil. A soropositividade do HTLV-1, de acordo com

estudos epidemiológicos em países caribenhos, aumenta significativamente com a idade, é maior em mulheres, particularmente aquelas com nível sócio-econômico menos privilegiado, e correlaciona-se com transfusão de sangue (MURPHY, 1996).

III.F.1. Epidemiologia da infecção pelo HTLV-1 no Brasil

No Brasil, os dados epidemiológicos da infecção pelo HTLV-1 são relativamente escassos, restritos quase exclusivamente a descrição da prevalência em populações específicas. Embora não tenha sido publicado até o presente um estudo epidemiológico com metodologia adequada para estimar a prevalência da população geral para todo o país, tomando-se como base os dados existentes de prevalência acredita-se que no Brasil haja cerca de 2,5 milhões de pessoas infectadas pelo HTLV-1. Essa cifra faz do Brasil o país com o maior número absoluto de indivíduos infectados pelo HTLV-1 em todo o mundo (CARNEIRO-PROIETTI, 2002).

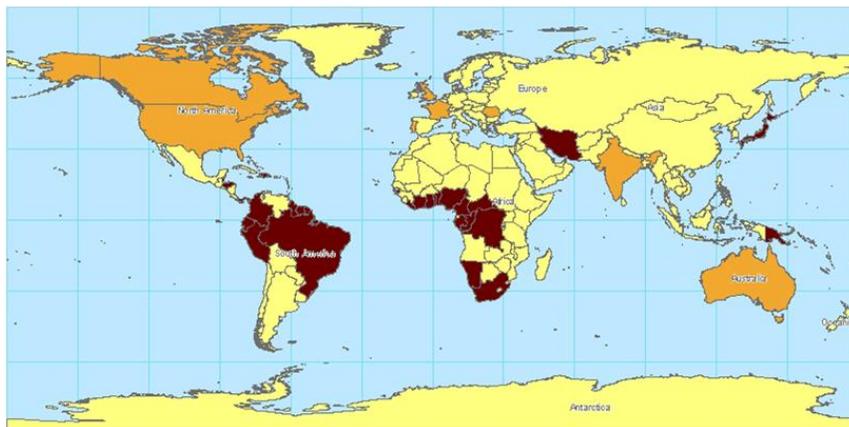


Figura 4. Distribuição global da prevalência de infecção pelo HTLV-1. Países com infecção endêmica (com prevalência entre 1 e 5%) estão representados em marrom escuro. Países com prevalência menor do que 1% estão representados em laranja. (PROIETTI, 2005).

Os primeiros dados de prevalência de infecção pelo HTLV no nosso país foram publicados em 1996, quando 13% dos indivíduos de uma comunidade de residentes em

Campo Grande (MS) tiveram evidencia sorológica de infecção, a maioria dos quais procedentes de Okinawa no Japão, região de prevalência reconhecidamente elevada (KITAGAWA, 1986). Número idêntico foi encontrado entre homens residentes no Rio de Janeiro portadores de HIV e que tinham distúrbios de coagulação (CORTES, 1989). Nesse mesmo estudo a prevalência de infecção entre prostitutas da zona rural do estado do Rio de Janeiro foi de 1%. Estudando indivíduos infectados pelo HIV na cidade de Santos, São Paulo, Etzel e colaboradores. encontraram uma prevalência de co-infecção pelo HTLV-1/2 de 6% (ETZEL, 2001), número consideravelmente superior a 1,5%, encontrado por Casseb e colaboradores em indivíduos infectados pelo HIV na cidade de São Paulo (CASSEB, 1997). Catalan-Soares e colaboradores reportaram prevalência de infecção por HTLV-1/2 de 1,6% em detentos do presídio de Manhuaçu, Minas Gerais (CATALAN-SOARES, 2000), enquanto a prevalência de HTLV-1 entre presidiários na cidade de Campinas 12%. Entre os detentos com sorologia positiva e negativa para HIV, respectivamente (OSTI, 1998). A prevalência de infecção pelo HTLV-1 em LSRICH, 2004).

Em função da relação existente entre infecção pelo HTLV-1 e doença neurológica, pacientes com neuropatias crônicas tem sido objeto de vários estudos de soroprevalência de infecção por esse retrovírus. Castro e colaboradores estudaram 16 pacientes com mielopatia crônica de origem indeterminada e encontraram soropositividade para HTLV-1 em 37% dos pacientes (CASTRO, 1989). Prevalência elevada também foi reportada por Gabbai e colaboradores que estudaram 37 pacientes portadores de HAM/TSP (sigla referente a *HTLV-1-associated mielopathy / tropical spastic paraparesis*), dos quais 11 (30%) se mostraram soropositivos para HTLV-1 (GABBAI, 1993). Macedo e colaboradores estudaram 190 pacientes portadores de neuropatia crônica progressiva na cidade de Belém do Pará. Quinze indivíduos (7,9%) tiveram evidência sorológica para infecção pelo HTLV-1/2 (MACEDO, 2004). O teste confirmatório de *Western Blot* foi realizado em amostras de 14 desses pacientes, dos quais 10 estavam infectados pelo HTLV-1 e 3 estavam infectados pelo HTLV-2. Em 1 paciente o teste de *Western Blot* não foi capaz de identificar o tipo de HTLV.

Em um estudo multicêntrico de âmbito nacional, Araújo e colaboradores demonstraram que as manifestações clínicas dos pacientes brasileiros portadores de HAMITSP são muito semelhantes aquelas descritas em varias partes do mundo (ARAUJO,

1998). Gomes e colaboradores reportaram prevalência de infecção pelo HTLV-1 de 21% (67 de 322) em pacientes portadores de neuropatia crônica (exceto causas vasculares, traumáticas e tumorais) na cidade de Salvador. No subgrupo de pacientes com mielopatia crônica a prevalência foi de 50% (52 de 104 pacientes) (GOMES, 1999).

A prevalência de infecção pelo HTLV-1 também tem sido estudada em grupos de pacientes com doenças hematológicas. Carneiro-Proietti e colaboradores estudaram 226 pacientes portadores de hemofilia tratados na Fundação Hemominas, em Belo Horizonte, e encontraram 16 pacientes soropositivos pelo ELISA, sendo que apenas 11 tiveram a infecção confirmada após o teste do Western Blot (4,8%) (CARNEIRO-PROIETTI, 1998). A prevalência de infecção pelo HTLV-1 em pacientes hematológicos no Rio de Janeiro, reportada no segundo Simpósio Internacional sobre HTLV-1, foi de 7,4% (MATUTES, 1994). Contrariamente, nenhum dos 32 pacientes politransfundidos portadores de talassemia beta estudados por Covas e colaboradores teve sorologia positiva para o HTLV-1/2 (COVAS, 1993). Pombo de Oliveira e colaboradores encontraram 43 pacientes soropositivos para o HTLV-1 dentre 188 (23%) pacientes portadores de doenças de células T (POMBO DE OLIVEIRA, 1995). Borducchi e colaboradores estudaram a soroprevalência de HTLV-1/2 em 66 familiares de 13 pacientes com leucemia/linfoma de células T do adulto (ATLL). Catorze dos 66 tiveram sorologia positiva pelo *Western Blot* (21%), todos assintomáticos. (BORDUCCHI, 1998).

III.F.2. Epidemiologia da infecção pelo HTLV-1 na Bahia.

Dados de diferentes estudos indicam que há uma significativa variação na prevalência de infecção pelo HTLV no Estado da Bahia. Britto e colaboradores estudaram a prevalência de infecção pelo HTLV-1 em amostras de 1.539 indivíduos procedentes de quatro cidades situadas em diferentes regiões do Estado, escolhidas considerando características históricas, socioeconômicas e antropológicas (BRITTO, 1998). Quarenta e sete das 1.539 amostras foram positivas para o teste pelo método ELISA (3,0%), mas apenas 5 dessas amostras

foram positivas para o teste Western Blot (4 para HTLV-1; 1 para HTLV-1/2). A prevalência confirmada foi, portanto, de 0,32%. As prevalências variaram de 0% na cidade de Prado (extremo sul do Estado) a 0,7% na cidade de Jacobina (a cidade mais próxima de Salvador dentre as cidades estudadas, localizada na região nordeste do Estado). Amostras de sete indivíduos, todos residentes na cidade de Jacobina, foram indeterminadas para HTLV pelo método de Western Blot. Como essas amostras podem ter representado um estado de soroconversão "em andamento", a prevalência na cidade de Jacobina poderia ser elevada de 0,7% para 3,2% caso todos os indeterminados pudessem ser confirmados. Essa prevalência seria significativamente maior do que nas outras cidades estudadas e se aproximaria daquela observada em um estudo realizado previamente também na cidade de Jacobina, onde a prevalência encontrada foi de 2,3% (MOREIRA JR, 1993).

Um estudo epidemiológico de base populacional publicado recentemente permitiu estimar a prevalência da infecção pelo HTLV-1 na cidade de Salvador. (DOURADO, 2003) Amostras de sangue de moradores de 3 áreas "sentinelas" procedentes de 10 bacias hidrográficas (total de 30 áreas) foram analisadas para a presença de infecção pelo HTLV-1 pelo método de ELISA, que foi repetido em duplicata, e subsequente confirmação pelo Western Blot. Um total de 1385 pessoas (idades entre 1 e 89 anos; 42% homens) foram randomicamente selecionadas, de um total de 68.749 habitantes dessas áreas. A prevalência geral de infecção foi de 1,8%. Quando analisado por sexo, a prevalência entre os homens foi de 1,2%, enquanto que para as mulheres a prevalência foi de 2%. Observou-se uma relação linear entre prevalência de infecção pelo HTLV-1 e faixa etária. Enquanto nenhum indivíduo abaixo de 13 anos tinha evidência sorológica de infecção pelo HTLV-1, a proporção de infectados entre indivíduos acima de 50 anos era de 6,3% e 9,3%, respectivamente entre homens e mulheres. Observou-se também uma relação inversa entre escolaridade e prevalência de infecção pelo HTLV-1, embora sem significância estatística no modelo multivariado (DOURADO, 2003).

Na Bahia a epidemiologia da infecção pelo HTLV-1 também foi estudada em populações específicas. No estudo de Gomes e colaboradores, já mencionado previamente, 322 pacientes com problemas neurológicos (excluídos os de causas vasculares, traumáticas e tumorais) foram avaliados com relação à presença de infecção pelo HTLV-1. Sessenta e

oito pacientes tiveram o teste de *Western Blot* positivo para HTLV-1 (n =67) e HTLV-2 (n =1). Quando comparados aos indivíduos não infectados, os indivíduos infectados tinham idade mais avançada e eram mais frequentemente do sexo feminino. Não foram encontradas diferenças com relação à raça, ao nível de escolaridade e ao local de nascimento (GOMES, 1999).

Em estudo semelhante, Moreno Carvalho e colaboradores reportaram prevalência de 57% (16/28) em pacientes com mielopatia associada ao HTLV/paraparesia espástica tropical (HAMITSP) na Bahia (MORENO- CARVALHO, 1992). Nesse estudo a prevalência de infecção pelo HTLV-1 também foi maior em mulheres. Avaliando também pacientes com HAM/TSP no estado da Bahia, Meireles e colaboradores reportaram soropositividade em 21% (9 de 43) dos pacientes (MEIRELES, 1992). Dos Santos e colaboradores analisaram a prevalência de varias doenças de transmissão perinatal, incluindo HTLV-1. Dentre 1.024 mulheres submetidas aos testes sorológicos, 14 mulheres tiveram resultados repetidamente positivos pelo método de ELISA, mas apenas 9 (0,88%) tiveram o resultado do *Western Blot* positivo (DOS SANTOS, 1995). Prevalência idêntica (0,84%) foi encontrada por Bittencourt e colaboradores entre 6.754 mulheres atendidas na unidade de cuidados pré-natais de um dos maiores hospitais-maternidade da rede publica do Estado da Bahia. (BITTENCOURT, 2001).

III.F.3. Fatores de risco para a infecção pelo HTLV-1

Poucos estudos visando identificar os determinantes de risco para a infecção pelo HTLV-1 na população geral foram reportados ate o presente momento. Em um dos primeiros estudos com essa finalidade, Struver e colaboradores investigaram os fatores de risco para a infecção pelo HTLV-1 em duas pequenas vilas geograficamente não contíguas da cidade de Miyazaki, Japao (STRUVER, 1992). Os autores observaram diferenças importantes nos determinantes de risco nas duas vilas, apesar da proximidade geográfica entre elas. O comportamento dos determinantes de risco foi diferente mesmo em diferentes "microrregiões" dentro das próprias vilas. Os achados desse estudo sugerem que em algumas localidades ocorre uma "microendemicidade" da infecção pelo HTLV-1, o que pode ter relação com uma possível transmissão intra-familiar (STRUVER, 1992).

Murphy e colaboradores reportaram os resultados de um estudo caso-controle na Jamaica, envolvendo 201 indivíduos infectados pelo HTLV-1 e 225 indivíduos não infectados. Entre os homens apenas 0 número de diferentes parceiras sexuais durante a vida foi identificado como fator de risco independente para a infecção pelo HTLV-1. Entre as mulheres, além do número de diferentes parceiros sexuais durante a vida os autores identificaram o uso de dispositivo intra-uterino (DIU) como fator de risco independente. Esse achado lhes permitiu levantar a hipótese de que alterações na mucosa uterina pela presença do DIU pudessem favorecer a infecção pelo HTLV-1. Frery e colaboradores, através de um estudo caso-controle pareado para idade e local de residência envolvendo 66 indivíduos infectados pelo HTLV-1 e 91 indivíduos não infectados na Martinica, identificaram como fatores de risco independentes piores condições sanitárias, obesidade e estado civil (viúvos, divorciados ou separados). Houve associação também entre infecção pelo HTLV-1 e menor escolaridade, embora sem significância estatística (FRERY, 1991).

Em um estudo descritivo recentemente apresentado na forma dissertação de Mestrado, Moxotó e colaboradores analisaram as características sociodemográficas e epidemiológicas de mulheres acompanhadas em ambulatório de ginecologia geral, divididas em três grupos: não infectadas pelo HTLV-1 (n =66), infectadas pelo HTLV-1 e assintomáticas (n =37) e infectadas pelo HTLV-1 e sintomáticas (n =27). As principais diferenças observadas entre os grupos, que se restringiram a menor escolaridade, estado civil e média de idade, foram atribuídas ao grupo de mulheres infectadas e sintomáticas. Comparado ao grupo das mulheres não infectadas e ao das mulheres infectadas e assintomáticas, as mulheres infectadas e sintomáticas tinham menor escolaridade (proporção de mulheres com menos de 8 anos de estudo respectivamente de 54%, 49% e 78% [p=0,05]), eram mais frequentemente viúvas (respectivamente 6,1%, 5,4% e 30% [p =0,012]) e mais velhas (médias de idade respectivamente de 42,2 ± 14,7 anos, 42,5 ± 14,4 anos e 54,2 ±12,7anos [p=0,01]). Comparando-se as mulheres não infectadas com as mulheres infectadas (sintomáticas e assintomáticas), observou-se entre as infectadas maior proporção de iniciação sexual com idade inferior a 18 anos (70% contra 44%, p<0,001), de prática de sexo anal (57% contra 19%, p=0,025), de mulheres que tinham tido mais de três parceiros sexuais durante a vida (47% contra 12%, P < 0,001), e de mulheres com história prévia de transfusão sanguínea (27% contra 7,7%, p < 0,001). A proporção de mulheres com

história prévia de DST também foi maior entre as infectadas (23% contra 10%), mas essa diferença não foi estatisticamente significativa ($p=0,08$). Na análise de regressão logística permaneceram como variáveis independentemente associadas com a infecção pelo HTLV-1 a história de prática de sexo anal (OR=2,7; IC95% 1,0-7,0), transfusão sanguínea prévia (OR = 5,2, IC95% 1,6-17), número de parceiros sexuais diferentes durante a vida (OR =6,2, IC95% 2,3-17), bem como idade da iniciação sexual (OR =2,6, IC95% 1,1-6,1) (MOXOTÓ, 2005). Esses dados sugerem que as mulheres estejam sendo infectadas preferencialmente pela via sexual, em decorrência de práticas sexuais desprotegidas.

Como pode ser notado, há uma substancial heterogeneidade de delineamento e resultados dos estudos reportados até o presente que visaram identificar os determinantes de risco para a infecção pelo HTLV-1. Além disso, os resultados de estudos como o de Struver e colaboradores sinalizam para a necessidade de se investigar os determinantes de risco para a infecção pelo HTLV-1 em localidades onde essa infecção é prevalente, mesmo que estudos semelhantes já tenham sido realizados em regiões geograficamente próximas, uma vez que um perfil de fatores de risco diferente pode ser identificado. O único estudo de fatores de risco para a infecção pelo HTLV-1 realizado em nosso meio (MOXOTÓ, 2005) envolveu apenas mulheres, abrindo espaço para a realização de estudos adicionais para avaliar a associação de características epidemiológicas e comportamentais de mulheres no nosso meio, no intuito de confirmar a posição de vulnerabilidade das mulheres à infecção pelo HTLV-1.

III.F.4. Epidemiologia da Infecção pelo HTLV-1 em doadores de sangue.

Desde que uma das vias de transmissão do HTLV-1 é a transfusão de hemocomponentes contaminados, a pesquisa desses vírus é obrigatória para rastreamento de doadores de sangue infectados. Dados de soropositividade de HTLV-1 em doadores de sangue tem mostrado números bastante variados, dependendo da região estudada. Samdal e colaboradores reportaram a inexistência de infecção pelo HTLV-1 em doadores de sangue

na Noruega, enquanto que apenas um doador, que era usuário de drogas, teve sorologia positiva para HTLV-2 (SAMDAL, 1999). Na França, onde a triagem dos doadores de sangue é feita desde 1989, a prevalência de infecção pelo HTLV-1/2 é de 0,0039% (COUROUCE, 1993). Em outros países da Europa a prevalência de infecção pelo HTLV-1/2 é similarmente baixa: 0,002% na Holanda (ZAAIJER, 1994), 0,021% na Alemanha (SCHATZL, 1994), 0,002% na Suécia (ANDERSON, 1995), 0,0016% na Dinamarca (CHRISTIANSEN, 1995), 0,0026% na Espanha (SORIANO, 1995). Nos Estados Unidos as taxas de soroprevalência tem variado entre 0,0016% e 0,0025% (FANG, 1990; BIANCO, 1990). No estado americano do Novo México as taxas de prevalência (0,072%) foram consideravelmente mais elevadas do que nos demais estados, com a peculiaridade de 90% das infecções serem relacionadas ao HTLV-2. Esses achados foram atribuídos ao número elevado de hispânicos e americanos nativos entre os doadores de sangue (HJELLE, 1990). Em Buenos Aires, a prevalência de soropositivos para HTLV-1 entre doadores de sangue e de 0,032% (GUTFRAIND, 1994). Na Martinica Francesa esses números são da ordem de 0,4% de doadores soropositivos confirmados (CESAIRE, 1999). Em Trinidad e Tobago a soroprevalência para HTLV-1 É DE 1,6% E 1,1%, respectivamente (DAISLEY, 1993). No Japao, Oguma e colaboradores reportaram soropositividade para HTLV-1/2 entre doadores de sangue adolescentes de 1,2% e 0,98%, respectivamente para homens e mulheres. A taxa de soropositividade para essa mesma coorte de doadores se manteve estável após 8 anos de seguimento: 1,3% e 0,98%, respectivamente para homens e mulheres (OGUMA, 1995).

No Brasil a triagem de doadores de sangue para a infecção pelo HTLV foi tornada obrigatória pela Portaria 1376 do Ministério da Saúde, de 19 de novembro de 1993. A soroprevalência de HTLV-1/2 entre doadores de sangue no nosso país também é muito variável. Galvão-Castro e colaboradores publicaram os dados de um estudo da prevalência de infecção pelo HTLV-1/2 em doadores de sangue de cinco cidades brasileiras no ano de 1993. (GALVAO-CASTRO, 1997) Dentre as cidades estudadas, Salvador foi a que apresentou a maior prevalência de infecção (1,35%), sendo que a prevalência nas quatro outras cidades oscilou entre 0 e 0,33%. Todos os doadores de Salvador estavam infectados com o HTLV-1. Quando comparado aos Estados Unidos e países da Europa, a soroprevalência média entre doadores de sangue no Brasil é cerca de 20 a 100 vezes superior.

Por recomendação do capítulo de HTLV da Sociedade Brasileira de Virologia, um estudo seccional de âmbito nacional foi conduzido envolvendo todos os bancos de sangue da rede pública de derivados de sangue (CATALAN-SOARES, 2005). Entre janeiro de 1995 e dezembro de 2000, foram analisados dados de sorologia para HTLV-1/2 pelo método de ELISA em 6.218.619 amostras de doadores de sangue dos 26 Estados da Federação mais o Distrito Federal. Como apenas 11 dos 27 bancos de sangue tinham dados de sorologia pelo método de Western Blot, apenas os dados sorológicos pelo método de ELISA foram considerados. As prevalências globais para os anos de 1995, 1996, 1997, 1998, 1999 e 2000 foram, respectivamente, de 5,6%, 6,9%, 5,6%, 4,3%, 4,1% e 3,5%, com uma prevalência média no período estudado de 4,8%. O estudo revelou que há uma grande heterogeneidade nas taxas de prevalência de infecção pelo HTLV-1/2 no Brasil, que variou de 0,4/1000 doadores em Santa Catarina a 10/1000 doadores no Maranhão (Figura 5). As maiores prevalências foram observadas no Maranhão, na Bahia, no Pará e em Pernambuco: 10/1000, 9,4/1000, 9,1/1000 e 7,5/1000, respectivamente. Um dado adicional revelado por esse estudo foi a tendência de queda na prevalência de infecção pelo Htlv-1/2 no Brasil.

III.F.5. Fatores de risco associados à infecção pelo HTLV-1 em doadores de sangue.

Enquanto os dados de soroprevalência de infecção pelo HTLV-1 em doadores de sangue são largamente disponíveis, os estudos de determinantes de risco para a infecção são mais escassos. Em um dos primeiros relatos a explorar os determinantes de risco para infecção pelo HTLV-1, Williams e colaboradores publicaram os resultados de um pequeno estudo de caso-controle envolvendo 5 mulheres e 2 homens infectados. O único fator de risco identificado nesse estudo foi contato sexual com habitantes de áreas endêmicas para infecção pelo HTLV-1. Nesse estudo a prevalência de infecção pelo HTLV-1 foi de 0,025% (10 indivíduos infectados dentre 39.898 doadores de sangue) (WILLIAMS, 1989).

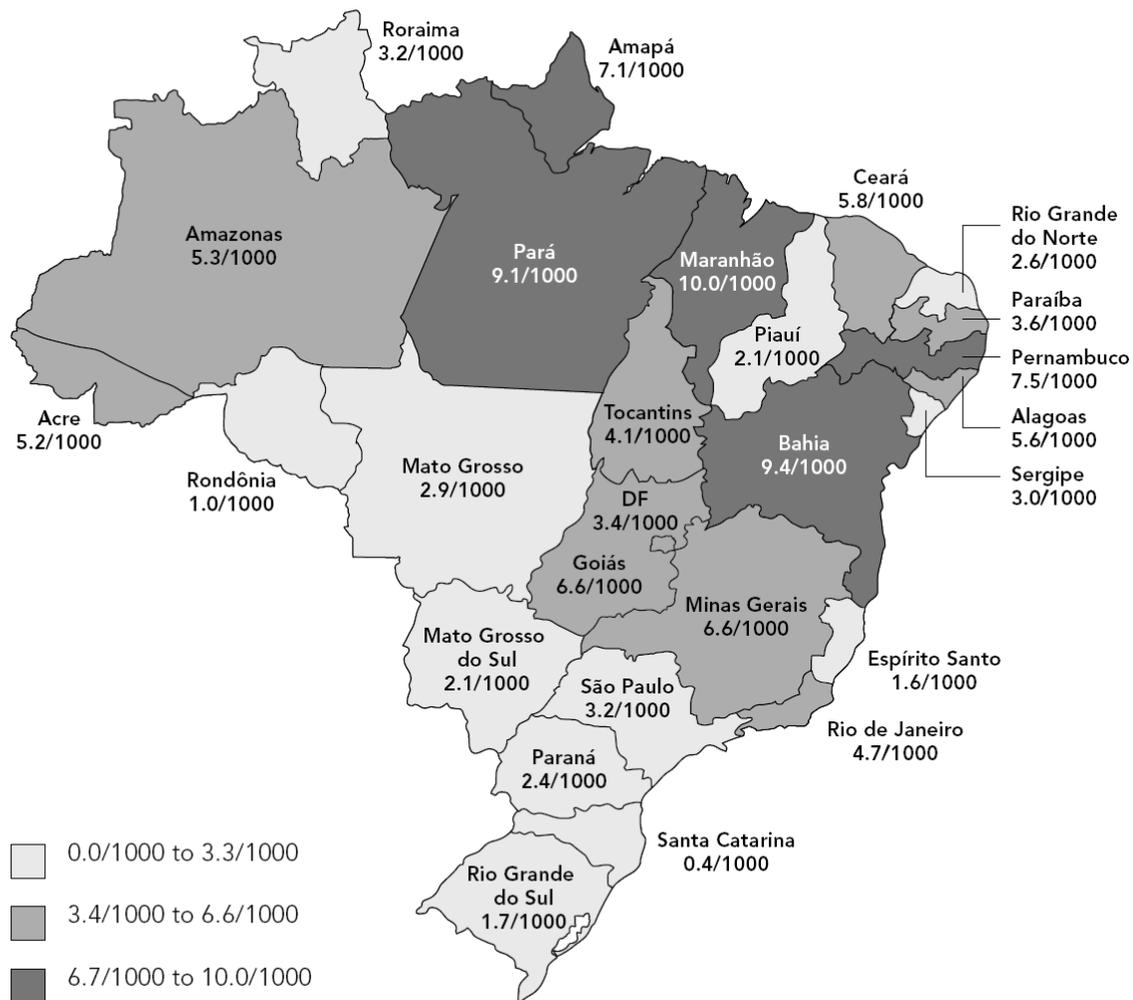


Figura 5 – Taxas de prevalência de infecção pelo HTLV-I/II em doadores de sangue dos 26 Estados da União e Distrito Federal (resultados apenas do teste de rastreamento pelo método ELISA). Fonte: Catalan-Soares, 2005.

Mais recentemente, Rouet e colaboradores reportaram um estudo de caso-controle explorando vários fatores de risco associados com a infecção pelo HTLV-1 em doadores de sangue de Guadalupe, Guiana Francesa (ROUET, 2002). Cento e dois doadores soropositivos para HTLV-1 foram comparados com 306 controles. Das 15 variáveis estudadas, apenas 6 (anos de estudo < 9, raça negra, ≥ 2 parceiros sexuais nos 3 anos que precederam o estudo, idade da iniciação sexual, relato de DST e sorologia positiva para Clamídia) permaneceram associadas a infecção pelo HTLV-1 de maneira estatisticamente significativa na análise multivariada.

No Brasil também existem alguns dados sobre os determinantes de risco para a infecção pelo HTLV-1/2 em doadores de sangue. Ferreira e colaboradores estudaram a prevalência e os fatores de risco associados a infecção pelo HTLV-1/2 em 17.063 doadores de sangue de uma instituição privada no Estado de São Paulo. (FERREIRA, 1995) Trinta doadores (0,2%) tiveram sorologia positiva para HTLV-1/2, dos quais 25 eram portadores de HTLV-1. Os fatores de risco encontrados nesse estudo foram ascendência asiática (OR =15), idade acima de 50 anos (OR =4,2) e sorologia positiva para o vírus C da hepatite (OR =22) ou vírus B da hepatite (OR =5,7).

Colin e colaboradores conduziram um pequeno estudo transversal com grupo controle em doadores de sangue no Acre, entre 1998 e 2000 (COLIN, 2003). Durante esse período 11.121 amostras foram rastreadas para a infecção pelo HTLV-1/2 através do método de ELISA. Setenta e três amostras (0,7%) resultaram positivas através do teste de ELISA, porém apenas 12 (0,1% do total) permaneceram positivas após a repetição do teste de ELISA de outro fabricante. Das 12 amostras positivas, 8 foram positivas para HTLV-1, 2 positivas para HTLV-2, e 2 com resultado indeterminado. A análise de PCR revelou que um dos doadores estava infectado pelo HTLV-1 e o outro, pelo HTLV-2. A média de idade dos doadores infectados foi significativamente maior do que os doadores no grupo controle: $38,4 \pm 11,7$ contra $31,7 \pm 8,2$ anos ($p < 0,009$). Dentre as inúmeras variáveis estudadas, apenas o tempo de residência no Estado do Acre e história prévia de DST se mostraram associadas a infecção pelo HTLV-1/2. Curiosamente, e de maneira contrária ao reportado por outros estudos, a proporção de indivíduos com história prévia de DST foi significativamente menor

entre os doadores infectados pelo HTLV-1/2 quando comparado ao grupo controle (25% contra 79%, $p < 0,0002$).

Catalan-Soares e colaboradores publicaram os resultados de um estudo caso-controle também explorando os determinantes de risco para infecção pelo HTLV-1/2 em doadores de sangue (CATALAN-SOARES, 2003). Entre março de 1997 e junho de 1999, 135 doadores com sorologia positiva para HTLV-1/2, 167 doadores com sorologia indeterminada para HTLV-1/2 e 116 doadores com sorologia negativa para HTLV-1/2 participaram do estudo. Através de questionário padronizado os participantes forneceram informações pessoais sobre dados demográficos, comportamento de risco para transmissão de HTLV-1/2, bem como história reprodutiva para as participantes do sexo feminino. Comparando os indivíduos infectados (sorologia positiva para HTLV-1/2) com os indivíduos não infectados, as variáveis que se comportaram como fatores de risco independentes na análise multivariada foram história prévia de transfusão sanguínea (OR =10 [IC95% 2,2-46]), tempo de escolaridade inferior a 8 anos (OR =4,1 [IC95% 2,2-7,4]), e uso de drogas ilícitas não injetáveis (OR =3,2 [IC95% 1,1-9,7]). As mesmas variáveis também se comportaram como fatores de risco para infecção nos indivíduos com sorologia indeterminada: história prévia de transfusão sanguínea (OR =4,8 [IC95% 1,0-23]), tempo de escolaridade inferior a 8 anos (OR =2 [IC95% 1,8-3,3]) e uso de drogas ilícitas não injetáveis (OR = 3,6 [IC95% 1,3-9,9]). Em resumo, apesar de diferentes variáveis terem sido exploradas nos diferentes estudos publicados até o presente momento, as evidências sugerem que os principais determinantes de risco para infecção pelo HTLV-1 sejam condição socioeconômica e educacional desfavorável, além de práticas sexuais inseguras. Alguns fatores de risco aparentemente sem plausibilidade biológica podem ter sido revelados por acaso estatístico. Contrariamente, eles podem estar sinalizando que a epidemiologia do HTLV-1 é mais complexa do que apreciado inicialmente.

III.G. Epidemiologia molecular da infecção pelo HTLV-1.

II.G.1. Métodos filogenéticos moleculares

A compreensão da epidemiologia molecular das infecções, incluindo a relacionada ao HTLV, requer noções dos métodos filogenéticos moleculares empregados. Desde o

desenvolvimento das técnicas de biologia molecular, o número de sequências de nucleotídeos e de aminoácidos disponíveis para os diferentes genes de diferentes organismos tem aumentado exponencialmente. Hoje a inferência filogenética é preferencialmente empregada nesses dados moleculares, substituindo a análise das características fenotípicas do passado. O primeiro passo num método filogenético implica no alinhamento das sequências homólogas. Duas sequências são tidas como homólogas quando se pode assumir que elas tem um ancestral comum. Algoritmos de alinhamento diferentes foram desenvolvidos com o objetivo de minimizar o numero de erros entre todas as sequências num banco de dados. Procurando obter o melhor alinhamento, as falhas (ou *gaps*) podem ser inseridas em uma ou mais sequências para ajustar as diferenças no comprimento interno. O alinhamento é então utilizado para inferir relações filogenéticas (SALEMI, 1999).

III.G.1.a. Árvores filogenéticas.

Uma árvore filogenética é uma representação gráfica da relação evolucionária também denominadas "taxa". "Taxa" numa árvore filogenética pode ser, por exemplo, um grupo de animais ou cepas virais diferentes. A árvore é composta de nodos conectados por braços. O nodo terminal (ou *tips*), situados à direita da árvore, representa o "taxa" contemporâneo, enquanto os nodos internos, situados à esquerda, representam os ancestrais. Uma relação filogenética em uma árvore é definida por um braço conectando dois nodos. Um grupo de "taxa" dividindo um mesmo ancestral comum é denominado de um grupo monofilético (ou *clade*). O modelo geral de vários braços numa árvore é referido como a topologia da árvore (SALEMI, 1999).

Evolução é normalmente considerado um processo onde um ancestral origina dois diferentes descendentes. Uma árvore filogenética representada por três braços conectados por um nodo interno e chamada bifurcação. Uma árvore em que todos os nodos internos apresentam bifurcações é dita ser uma árvore totalmente resolvida ou estritamente bifurcada. Entretanto, um único ancestral pode originar vários descendentes diferentes, resultando em uma árvore com topologia de estrela, onde mais de três braços estão conectados a um node interno.

Árvores filogenéticas podem ser denominadas com raiz ou sem raiz. Uma árvore é dita sem raiz quando o ponto mais antigo no tempo, o local de um ancestral comum para todos os "taxa", não foi identificado. Em árvores com raiz a origem e a direção do caminho evolucionário são conhecidas, enquanto árvores sem raiz dão informação somente sobre a relação entre os "taxa", mas não definem uma direção evolucionária. A melhor maneira de transformar uma árvore sem raiz em uma com raiz e incluir um grupo externo (ou *outgroup*), que é um "taxa" com um longo braço, mais antigo e divergente que todos os outros "taxa" do estudo. O grupo externo deve ser escolhido com cautela. Ele deve ter divergido antes de todos os outros "taxa", mas não deve ser tão distantemente relacionado dos outros, a fim de obter um alinhamento não ambíguo e evitar dificuldades em estimar a verdadeira distância entre o grupo externo e os "taxa" (SALEMI, 1999).

III.G.1.b. Modelos de substituição nucleotídica.

A primeira ideia sobre a relação entre diferentes "taxa" pode ser dada pela sua distância evolucionária. A maneira mais simples de estimar a distância evolucionária entre duas sequências nucleotídicas é contar o número total de nucleotídeos diferentes entre elas e dividir pelo número total de nucleotídeos disponíveis. As sequências deverão ter o mesmo comprimento. Essa aproximação assume que as sequências devem estar alinhadas e falhas (*gaps*) inseridas para ajustar as mudanças no comprimento interno. Essa distância evolucionária é chamada distância-p. Uma estimativa mais real pode ser encontrada utilizando um modelo particular de evolução, que assume como os nucleotídeos mudam durante o processo evolutivo. Por exemplo, considerando quatro nucleotídeos, A, C, G e T, esse modelo poderia estimar a probabilidade que cada nucleotídeo tem quando permanece o mesmo e se altera durante a evolução. Probabilidades podem também ser usadas para distâncias evolucionárias aproximadas.

Os modelos de substituição nucleotídica geralmente assumem que o processo de mudança é um processo do tipo Markov homogêneo. A probabilidade de mudança em um modelo Markov não depende da história prévia do sistema. Por exemplo, a probabilidade que a posição de um G numa sequência mude para T, no futuro, é dependente do fato que um A ou C mudou para G no passado. O processo é também considerado reversível no tempo,

assim que a substituição de A por C tem a mesma probabilidade que a substituição de C por A. Finalmente, assume-se que as frequências dos quatro nucleotídeos são constantes durante todo o tempo (SALEMI, 1999).

Os modelos de substituição nucleotídica frequentemente consideram dois tipos de substituição nucleotídica: transição e transversão. Uma transição ocorre quando uma purina é substituída por outra purina, ou uma pirimidina é substituída por outra pirimidina. Duas transições diferentes são possíveis, entre purinas e entre pirimidinas. Uma transversão ocorre quando uma pirimidina é substituída por uma purina, ou uma purina é substituída, fazendo com que apenas quatro transversões sejam possíveis.

Os modelos de substituição nucleotídica mais comuns são os seguintes: modelo de Jukes e Cantor (JC69), que assume frequências iguais para cada nucleotídeo em equilíbrio e que todas as mudanças entre os quatro nucleotídeos ocorrem com a mesma probabilidade (JUKES E CANTOR, 1969); modelo Kimura-2-parametros (K80), que permite transições e transversões ocorrendo com diferentes probabilidades (KIMURA, 1980); modelo Felsenstein (F81), que permite aos quatro nucleotídeos terem frequências diferentes em equilíbrio (FELSENSTEIN, 1981); o modelo Hasegawa (HKY85), que permite frequências nucleotídicas diferentes em equilíbrio e parcialidade em transição/transversão (HASEGAWA, 1985); o modelo Tamura e Nei (TN93) e similar ao HKY85, mas também permite que transições entre pirimidina e transições entre purinas ocorram com diferentes probabilidades (TAMURA E NEI, 1993).

III.G.1.c. Modelos de γ -Distribuição.

Todos os modelos descritos anteriormente assumem que cada sítio nas sequências nucleotídicas alinhadas sofre mutação exatamente na mesma velocidade. Entretanto, pressões seletivas diferentes em posições diferentes do genoma podem ser responsáveis por alguns nucleotídeos evoluírem mais lentamente ou mais rapidamente que outros. Em regiões codificadoras, mutações na primeira e segunda posição geralmente levam a mudança no aminoácido, e elas ocorrem normalmente a baixas velocidades devido a seleção purificadora. Além disso, regiões não codificadoras tendem a mudanças rápidas, porque mutações podem ocorrer com menos restrições que em regiões codificadoras. Em uma

aproximação clássica, a velocidade da heterogeneidade entre os sítios pode ser aproximada por uma função estatística chamada γ -distribuição, que representa a velocidade de substituição nucleotídica em função da proporção de sítios tendo uma velocidade particular (YANG, 1996). A inclusão de taxas de substituição nucleotídicas γ -distribuídas nos modelos descritos anteriormente é uma descrição mais realística do processo evolucionário e permite estimar a distancia evolucionaria.

III.G.1.d. Métodos filogenéticos baseados no cálculo da matriz de distâncias.

Em métodos de distância, a distância evolucionária é computada para todos os pares de "taxa", levando a uma matriz de distâncias. A árvore é então construída empregando um algoritmo em que a relação topológica local entre "taxa" é identificada em ordem de similaridade. Os principais métodos utilizados são: análise de "*cluster*" (UPGMA) (MICHENER E SAKAL, 1957), *neighbor-joining* (NJ) (SAITOU E NEI, 1987) e o método de Fitch-Margoliash (FITSH E MARGOLIASH, 1967).

III.G.1.e. Métodos de máxima verossimilhança (*maximum likelihood*).

Métodos de *maximum likelihood* avaliam o grupo de probabilidades que um dado modelo evolucionário produzira utilizando as sequências observadas. As filogenias inferidas são aquelas com maiores probabilidades. Com esses métodos é possível estimar os diferentes parâmetros envolvidos na computação dos modelos de substituição nucleotídica diferentes (FEISENSTEIN, 1981).

III.G.1f. O "*bootstrap*".

O uso do *bootstrap* foi proposto para avaliar a magnitude dos efeitos de erros amostrais sobre inferências. O *bootstrap* é implementado da seguinte forma: a matriz de

dados original é usada para gerar novas matrizes, as matrizes de *bootstrap*. Caracteres da matriz original são amostrados aleatoriamente e transferidos para a matriz de *bootstrap*. Todos os caracteres da matriz original podem ser amostrados com igual probabilidade. Esse processo de amostragem, entretanto, é realizado com reposição. Isso significa que um mesmo caractere pode ser transferido mais de uma vez para a matriz de *bootstrap* a partir da matriz original, enquanto outros caracteres não serão amostrados nenhuma vez. Esse processo inteiro é repetido várias vezes, gerando diversas matrizes de *bootstrap*. A seguir, cada uma dessas é usada para inferir uma árvore usando um mesmo método. Uma vez que as matrizes são diferentes umas das outras (em decorrência do processo de amostragem) diferentes árvores (ou réplicas) podem ser geradas. Os valores de *bootstrap* apresentados em uma árvore indicam em quantas das árvores (réplicas), geradas a partir das matrizes de *bootstrap*, determinado agrupamento foi obtido. Por exemplo, usualmente os testes geram 1.000 réplicas da árvore filogenética que está sendo analisada. Caso se obtenha um valor de *bootstrap* de 80, isso significa que 800 das 1.000 réplicas foram iguais à árvore original.

III.H. A história do HTLV nas populações humanas.

A endemicidade do HTLV-1 e HTLV-2 em algumas populações vivendo em áreas remotas do globo sugere que esses retrovírus possam ter infectado populações humanas há milhares de anos. Através de análise de DNA mitocondrial, estima-se que a separação das populações humanas africanas e não-africanas tenha ocorrido entre 75.000 e 287.000 anos atrás (REICH E GOLDSTEIN, 1998). Transmissões interespecíficas frequentes do HTLV-1 de símios para humanos foram demonstradas na África (VANDAMME, 1994; LIU, 1996; MAHIEUX, 1998). Algumas das cepas do HTLV-1 divergentes encontradas nas populações africanas seriam resultantes mais provavelmente da transmissão interespecíficas do que de infecções antigas dos pigmeus. A Figura 6 ilustra relação filogenética proposta entre o HTLV e o seu correspondente nos primatas, o STLV (sigla referente a *Simian T-cell Lymphotropic Virus*) (WATANABE, 1986).

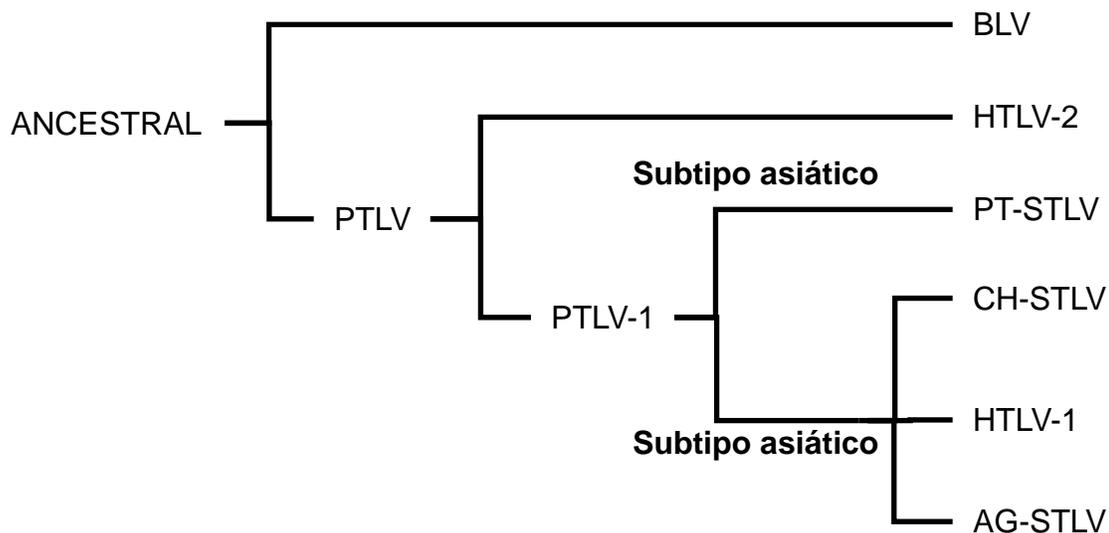


Figura 6 - Relação filogenética proposta entre os diferentes isolados de STLV e o HTLV-1. BLV - *bovine leukemia virus*; PTLV - *Primate T-cell Lymphotropic Virus*; HTLV-2 - *Human T-cell Lymphotropic Virus type II*; PTLV-1 - *Primate T-cell Lymphotropic Virus type I*; PT-STLV - *Simian T-cell Lymphotropic Virus*, isolado do macaco *pig tail* (PT) asiático; CH-STLV - *Simian T-cell Lymphotropic Virus*, isolado de chimpanzé africano; HTLV-1 - *Human T-cell Lymphotropic Virus type 1*; AG-STLV - *Simian T-cell Lymphotropic Virus*, isolado do macaco *African Green*. (WATANABE, 1998)

A origem do HTLV-1/2 no continente americano não é inteiramente clara. Duas hipóteses, geradas a partir de dados de diferentes estudos filogenéticos, tentam explicar como esse retrovírus chegou ao continente americano. A primeira diz respeito a migração de populações Mongoloides infectadas através da Beríngia (ou Ponte Terrestre de Bering), há mais de 10.000 anos ou mais recentemente através da migração de povos do período Jomon pelo Oceano Pacífico (MIURA, 1997; BRYAN, 1983; MEGGERS, 1975). A segunda sugere que esse vírus pode ter sido introduzido no continente americano durante o tráfico de escravos nos séculos XVI, XVII, XVIII e XIX (GESSAIN, 1992; VANDAMME, 1998; MIURA, 1997).

Um trabalho recente de Van Dooren e colaboradores trouxe substancial reforço para essa segunda hipótese. Treze amostras oriundas de 4 grupos étnicos diferentes do Peru tiveram análise filogenética das sequências do *LTR* e do *env*. Os dados de análise de relógio

molecular suportaram a ideia de que o HTLV-1/2 foi introduzido no continente americano em varias ocasiões diferentes no período pós-Colombiano (entre 400 e 100 anos atrás), provenientes de várias linhagens africanas provavelmente durante e após o tráfico de escravos (VAN DOOREN, 1998).

Embora os dados sobre a epidemiologia molecular do HTLV-1/2 no Brasil ainda sejam relativamente escassos, dados do Laboratório Avançado de Saúde Pública (LASP) do Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Fiocruz-Bahia, tem contribuído para o entendimento da origem da infecção pelo HTLV-1 em nosso meio. Dois estudos recentes demonstraram que a vasta maioria dos isolados virais da cidade de Salvador pertencem ao subtipo Cosmopolita, subgrupo Transcontinental, tipo latino-americano. Em um estudo de isolados virais de 82 indivíduos (19 da população geral, 21 de mulheres grávidas, 16 de usuários de drogas injetáveis, e 26 de pacientes com disfunção neurológica associada ao HTLV-1), Alcântara e colaboradores demonstraram, em uma análise filogenética envolvendo amostras de 49 dos 82 indivíduos, que 48 das 49 amostras analisadas pertenciam ao subgrupo Transcontinental do subgrupo Cosmopolita (ALCANTARA, 2003). Um dado interessante desse estudo foi o fato de vários isolados da África do Sul terem se agrupado próximo aos isolados brasileiros, sem no entanto terem se localizado dentro do grupamento latino-americano. Esse dado reforça a tese de que indivíduos oriundos da África do Sul também tiveram um papel na introdução do HTLV-1 no continente sul-americano, já que é sabido que a maioria dos africanos trazidos para o Brasil era procedente da África ocidental (CURTIN, 1969; VERGER, 1968; VERGER, 1976; RODRIGUES, 1977; VIANA FILHO, 1988; PINSKY, 1988). A evidência adicional presente nesse estudo para reforçar essa hipótese foi a observação de que o haplotipo CAR do gene da cadeia 13 da globina, prevalente em regiões da África do Sul, estava presente em cerca de 30% dos cromossomos.

Ainda com o intuito de demonstrar a possível origem sul-africana para alguns dos isolados de HTLV-1 encontrados na cidade de Salvador, os mesmos autores conduziram um estudo de análise filogenética envolvendo 29 indivíduos infectados pelo HTLV-1 residentes em Durban, KwaZulu-Natal, África do Sul, bem como 10 indivíduos infectados pelo HTLV-1 da cidade de Salvador, Bahia. A análise demonstrou que todas as sequências estudadas pertenciam ao subgrupo Transcontinental do subtipo Cosmopolita. Os isolados sul-africanos

e brasileiros se mantiveram separados em quatro grupamentos diferentes: sul-africanos A e B e latino-americanos A e B (Figura 7). Apenas um isolado sul-africano pertenceu ao grupamento latino-americano B, sustentado por um valor de *bootstrap* de 88% ($p < 0,001$ em ML) (ALCANTARA, 2006). Esses dados foram considerados como evidência adicional a sugerir a contribuição da região sul do continente africano na introdução do HTLV-1 na cidade de Salvador.

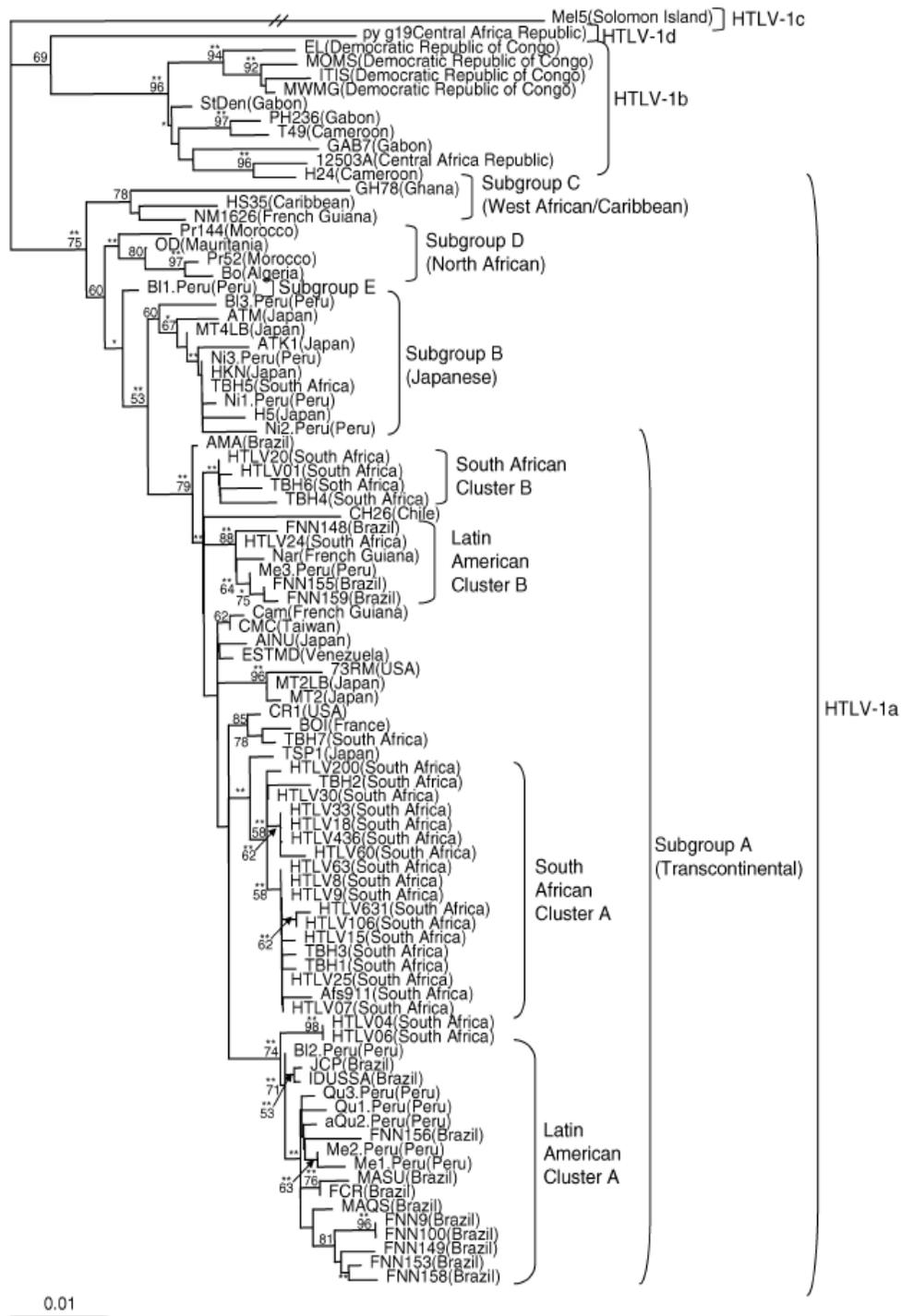


Figura 7. Árvore NJ enraizada de cepas de HTLV-1 baseado na análise filogenética de 724 pb da região LTR revelando agrupamento dos isolados virais da África do Sul e da América Latina dentro do subgrupo A (transcontinental). Os isolados permaneceram nos seus respectivos grupamentos (ALCANTARA, 2006).

IV. OBJETIVOS

IV.A. Objetivos primários.

IV.A.1. Estimar a prevalência de infecção pelo HTLV-1 entre doadores de sangue no Estado da Bahia no período estudado.

IV.A.2. Identificar os determinantes de risco para infecção pelo HTLV-1 entre doadores de sangue no Estado da Bahia.

IV.A.3. Analisar filogeneticamente as cepas de HTLV-1 circulantes entre os doadores de sangue no Estado da Bahia.

IV.B. Objetivo secundário *a posteriori*

IV.B.1. Comparar características comportamentais entre os doadores de sangue masculinos e femininos.

V. JUSTIFICATIVA

Salvador é uma das cidades brasileiras com maior prevalência de infecção pelo HTLV-1, tanto na população geral quanto entre doadores de sangue. Estima-se que o número absoluto de indivíduos infectados pelo HTLV-1 na cidade de Salvador esteja entre 40.000 e 50.000. Como cerca de 5% dos indivíduos infectados podem desenvolver doenças caracterizadas por elevada morbidade e mortalidade (por exemplo, mielopatia associada ao HTLV-1 e leucemia linfoma de células T do adulto), pode-se estimar que entre 2.000 e 2.500 indivíduos estejam potencialmente sob risco somente na cidade de Salvador. Esses números tornam a infecção pelo HTLV-1 em nossa cidade um problema de saúde pública.

Evidências mais recentes demonstram uma queda na prevalência da infecção pelo HTLV-1 entre os doadores de sangue, cujas causas são ainda meramente especulativas, como a criação do COAS e a exclusão definitiva dos doadores infectados pelo HTLV-1 identificados pelos exames de rastreamento. Por outro lado, dados sobre os determinantes de risco para infecção pelo HTLV-1 entre doadores de sangue ainda são relativamente escassos no nosso país. Apesar de já serem conhecidos muitos dos determinantes de risco para essa infecção em outros países e em outros estados do Brasil, a reconhecida heterogeneidade também desses determinantes torna necessária sua exploração na nossa população. O conhecimento desses determinantes de risco nas diferentes regiões do Brasil poderia contribuir para o entendimento da própria heterogeneidade da infecção pelo HTLV-1.

Por fim, a origem da infecção pelo HTLV-1 na cidade de Salvador ainda é incerta. Em função da extraordinária estabilidade genética desse retrovírus, parcialmente explicada pelo fato de a replicação proviral ser decorrente da expansão clonal das células infectadas ao invés da replicação do vírus por transcrição reversa, tem sido utilizada como uma importante ferramenta no estudo da migração das populações. Análises filogenéticas de isolados virais e de haplotipos da β^A globina da população geral da cidade de Salvador sugerem uma possível

origem da região sul do continente africano para as cepas circulantes na nossa cidade. A análise de um número adicional de isolados virais pode revelar evidência adicional reforçando essa hipótese. Além disso, as informações obtidas com o sequenciamento da região LTR, que é o local onde se encontram as regiões promotoras da transcrição viral, podem ser úteis na identificação de sequências "patogênicas" ao se fazer a correlação com a evolução clínica dos indivíduos dos quais os isolados foram obtidos e sequenciados.

VI. CASUÍSTICA, MATERIAL E MÉTODOS.

VI.A. Delineamento do estudo.

Este é um estudo de caso-controle não pareado, com proporção de casos e controles de 1:2.

VI.A.1. Definição de caso.

Foram considerados "casos" todos os doadores voluntários de sangue do HEMOBA cujas doações tenham ocorrido entre janeiro de 2000 e dezembro de 2003, e cujos resultados da sorologia pelo método de triagem (ELISA) tenham sido repetidamente positivos, com a devida confirmação posterior através do método de *Western Blot*. Esses doadores foram incluídos independentemente do resultado de testes sorológicos obrigatórios de triagem de outras doenças infecciosas (hepatite B, hepatite C, HIV, sífilis e doença de Chagas).

VI.A.2. Definição de controle

Os indivíduos "controle" foram doadores de sangue do HEMOBA cuja sorologia para HTLV-1 tenha sido negativa pelo método ELISA. Apenas um resultado foi necessário para considerá-los negativos, em virtude da reconhecida alta sensibilidade do método.

VI.A.3. Recrutamento.

VI.A.3.a. Casos.

O convite para participar do estudo foi por meio de carta enviada ao endereço constando nos registros da Fundação Hemoba. No caso de não ter havido resposta do doador uma segunda correspondência foi encaminhada para o mesmo endereço duas semanas após o envio da primeira correspondência. Duas semanas após o envio da segunda correspondência foi feito um contato telefônico para o número de telefone constando nos registros da Fundação Hemoba. Os doadores que não puderam ser

contatados foram considerados inacessíveis e nenhuma tentativa adicional de contatá-los foi feita.

VI.A.3.b. Controles.

A seleção de controles foi feita na proporção de 2 controles para cada caso, de maneira randômica, por meio de números randômicos de 5 dígitos gerados por computador, correspondendo a numeração da bolsa de sangue, única para cada doador. Para homogeneizar o tempo decorrido entre a doação de sangue e a entrevista para casos e controles, visando minimizar a chance de viés de classificação, convocamos um número de controles proporcional ao número de casos para cada ano. Em função da taxa de resposta muito baixa à convocação por carta para participar do estudo (apenas 3 indivíduos não infectados pelo HTLV-1 responderam e foram eventualmente entrevistados), a forma de arrolamento de controles foi alterada logo no início do estudo. Os doadores de sangue passaram a ser convidados a participarem do estudo enquanto aguardavam para doar sangue, sendo que suas informações só foram consideradas após a confirmação do resultado negativo do exame de triagem para infecção pelo HTLV-1. Diferentemente dos doadores infectados, os quais já eram conhecedores da sua condição de infectados, os resultados das testes sorológicos de triagem não estavam disponíveis no momento da entrevista para os indivíduos que participaram do estudo como controles. Dessa forma, tanto o entrevistador quanto a vasta maioria dos indivíduos no grupo controle estavam cegos para a situação sorológica no momento da entrevista.

VI.B. Coleta de dados.

A obtenção de dados tanto dos "casos" quanto dos "controles" foi feita através de um questionário padronizado (APÊNDICE I), aplicado em cada um dos participantes por um único investigador (o autor). Tanto os "casos" quanto os "controles" foram entrevistados em ambiente reservado, com a presença apenas do entrevistador. As informações colhidas foram de ordem demográfica (sexo, idade, endereço, etc.) e social (renda pessoal e familiar, escolaridade, etc.), além de informações sobre amamentação e aspectos da vida sexual do entrevistado. Dentre as variáveis relacionadas ao comportamento sexual dos participantes, a

variável "numero de parceiros sexuais" foi obtida em de três formas: número total de diferentes parceiros sexuais durante a vida, número de parceiros sexuais nos últimos dois anos que precederam a entrevista, e número de parceiros sexuais nos últimos seis meses que precederam a entrevista. Dessa maneira poderiam ser detectadas incongruências com relação as respostas entre casos e controles para essa importante variável, já que o número total parceiros sexuais obrigatoriamente só poderia ser maior ou igual ao número de parceiros sexuais nos dois anos que precederam a entrevista, o qual por sua vez obrigatoriamente só poderia ser maior ou igual ao número de parceiros nos seis meses que antecederam a entrevista. Os questionários foram identificados com o numero da bolsa de sangue do doador, para preservar em sigilo a identidade do entrevistado. Tanto entrevistador quanto os doadores infectados participantes estavam cientes da situação sorológica. Com relação aos controles, uma vez que as informações para a vasta maioria dos participantes foram colhidas antes da realização dos testes sorológicos, todos estavam "cegos" para a situação sorológica.

VI.C. Coleta de material.

De cada participante do estudo foi colhido um total de 16 ml de sangue periférico (2 tubos de 3 ml contendo EDTA e um tudo de 10 ml contendo heparina) para análise sorológica e estudos de biologia molecular no Laboratório Avançado de Saúde Pública do Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz em Salvador (LASP).

VI.D. Locais do estudo.

Os doadores de sangue foram procedentes do HEMOBA (Fundação de Hematologia e Hemoterapia da Bahia - HEMOBA), o principal banco de sangue do estado da Bahia. O Hemoba é responsável pelo fornecimento de mais de 80% dos hemocomponentes do Estado da Bahia. As entrevistas e o seguimento dos doadores infectados, bem como a repetições dos testes ELISA e os testes de Western Blot confirmatórios, foram feitos no Centro de Assistência Integrado e Multidisciplinar ao Portador de HTLV-1 (CHTLV) da Escola Bahiana de Medicina/Fundação Bahiana para Desenvolvimento das Ciências. Esse centro é um

serviço de referência no Estado da Bahia para a assistência de indivíduos infectados pelo HTLV-1/2, mantido através de uma parceria entre a FBDC e a FIOCRUZ - Ba. Os testes de reação em cadeia da polimerase (PCR) e o sequenciamento das regiões LTR dos isolados virais foram feitos no Laboratório Avançado de Saúde Pública (LASP), do Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz (Fiocruz-Ba).

VI.E. Diagnóstico laboratorial.

VI.E.1. Triagem.

Todos os doadores de sangue que participaram deste estudo se submeteram às etapas de triagem clínica e laboratorial conforme determina a Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 153 de 14/06/04, emitida pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que normatiza os processos envolvidos na doação de hemoderivados no nosso país. A triagem clínica consiste na avaliação clínica por profissional de nível superior, com a finalidade de assegurar que o candidato a doação não preencha nenhum dos critérios de exclusão temporária ou definitiva, devidamente listados na supracitada resolução. A triagem das amostras para anticorpos anti-HTLV-1/2 nos doadores de sangue foi realizada por ELISA (*HTLV-1 rp21, enhanced, EIA, Cambridge Biotech Corporation*). As amostras com resultado positivo foram testadas em duplicata e em o resultado tendo permanecido positivo ou indeterminado foram submetidas ao teste confirmatório (*Western Blot*).

VI.E.2. Confirmação.

As amostras com resultados repetidamente positivos para a presença do HTLV-1 foram analisadas pelo método Western Blot (HTLV Blot 2.4, Genelabs Diagnostics, Science Park, Singapore) para confirmação e diferenciação entre HTLV-1 e 2. Foram consideradas positivas as amostras que mostravam reatividade para as proteínas do *core* (GAG) p19 e/ou p24, e do envelope GD21 e rgp46-1 (para o HTLV-1) ou rgp46-11 (para o HTLV-2). As amostras que permaneceram indeterminadas mesmo após a realização do Western Blot (bandas específicas para HTLV, sem discriminação entre HTLV-1 ou 2) foram submetidas ao teste de PCR para confirmação diagnóstica.

VI.F. Caracterização molecular.

VI.F.1. Extração de DNA e amplificação de PCR.

A extração de DNA de células mononucleares do sangue periférico de pacientes com sorologia positiva para HTLV-1 foi feita utilizando o *kit* QIAamp Blood (Qiagen Inc., Chatsworth, CA, U.S.A.). *Nested* PCR foi realizado em todas as amostras para confirmar a presença do DNA proviral do HTLV-1. As sequências da região LTR foram amplificadas na forma de dois fragmentos superponíveis: um fragmento *LTR-gag*, de 472 pb e um fragmento *tax-LTR* de 479 pb (ALCANTARA ET AL, 2006). Todos os produtos de amplificação foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1%, corados com brometo de etídio e visualizados com luz ultravioleta.

VI.F.2. Sequenciamento e análise filogenética.

Os produtos de amplificação da região LTR dos 23 novos isolados do HTLV-1 em estudo foram purificados utilizando o *kit* QIAquick Gel Extraction (Qiagen) e sequenciados diretamente em um analisador genético (3100 Genetic Analyzer, Applied Biosystems Inc., Foster City, CA). As reações de sequenciamento foram realizadas usando as mesmas sondas (*primers*) utilizadas na amplificação do fragmento interno do *Nested* PCR, utilizando o *kit* Taq FS Dye Terminator Cycle Sequencing (Applied Biosystems). As sequências obtidas, juntamente com sequências referências (isolados procedentes de diferentes grupos étnicos e de diferentes regiões geográficas) obtidas do banco de dados GenBank/EMBL, foram alinhadas com o auxílio do programa ClustalX (20) e Oambe (21), e editadas manualmente com o auxílio do programa GeneDoc (22). As árvores filogenéticas Neighbor-Joining (NJ) e Maximum-Likelihood (ML) foram geradas através do programa PAUP*, versão 4.0b10 (23). O modelo evolucionário Tamura-Nei com distribuição gama (que considera diferentes taxas de substituição para transversões e transições, assim como a heterogeneidade nas taxas de substituição intra-sítio) foi selecionado como o melhor modelo para a análise filogenética através do programa Modeltest. A árvore NJ foi construída através de uma matriz de taxa de substituição nucleotídica otimizada e um parâmetro de distribuição gama ($\alpha = 0,5124$), com frequências de bases empíricas. A confiabilidade dos grupamentos monofiléticos na árvore NJ foi testada através do método de *bootstrap*, analisando 1.000 réplicas. Uma procura

heurística foi realizada para otimização dos parâmetros na análise de ML, utilizando a árvore NJ como material inicial. O método do teste da razão de probabilidade foi usado para calcular o suporte estatístico (expresso em valor de p) para suporte dos ramos internos. As árvores foram visualizadas através do programa TreeView, versão 1.4 (24).

VI.F.3. Números de acesso.

Os números de acesso do banco de dados GenBank dos 23 fragmentos da região LTR dos isolados virais sequenciados no nosso laboratório e incluídos no estudo filogenético são os seguintes: HB3167, OQ471187; HB3104 00471188; HB3133, 00471189; HB2966, 00471190; HB3168, 00471191; HB3171, 00471192; HB3170, 00471193; HB3311, 00471194; HB3229, 00471195; HB3114, 00471196; HB2562, 00471197; HB3205, 00471198; HB3135, 00471199; HB3166, 00471200; HB3160, 00471201; HB3119, 00471202; HB3230, 00471203; HB3102, 00471204; HB3203, 00471205; HB3120, 00471206; HB3134, 00471207; HB3202, 00471208; HB3194,00471209.

As outras cepas de HTLV-1 utilizadas na análise foram: pyg19, L76310; ITIS, Z32527; MEL5, L02534; HS35; 000294; GH78, 023693; CH26, 023690; Bo, U12804; 00, U12805; Pr52, U12806; MOMJ, Z31659 Pr144, U12807; GB233, 023692; RKI4, AF054627; MT4, Z31661; HTLV24, 00005565; HTLV04, 00005557; FNN100, 00005547; Ni1.Peru, Y16484; BI1.Peru, Y16481; Me1.Peru, Y16478; BI3.Peru, Y16483; BI2.Peru, Y16482; Ou1.Peru, Y16475; Me3.Peru, Y16480; Ou3.Peru, Y16477; Me2.Peru, Y16479 and Ni2.Peru, Y16487; ATM, J02030; ATK1, J02029; MT2, L03562; CR1, K02722; TBH2 to -4 , L76025, L76034 and L76028; TBH6 and -7, L76030 and L76029; BOI, L36905; AMA, CMC, FCR and MAOS, X88871-X88873 and X88876; MWMG, Z31662; StDen, L76306; PH236, L76307; GAB7, L76311; 12503A, L76309; H24, L76308; Ni3.Peru, Y16485; HKN, X88874; TBH5, L76027; Cam, AF 063819; Nar, AF063820; H5, M37299; AINU, 023694; Ou2.Peru, Y16476.

VI.G. Análise estatística.

O número da amostra foi calculado tomando como base o gênero feminino como "exposição". As mulheres representam em média 25% do universo de doadores entre os indivíduos não infectados. Essa proporção sobe para algo em torno de 45% do universo de indivíduos infectados pelo HTLV-1, de acordo com dados nacionais. Assumindo um erro tipo I de 5% e um erro tipo II de 10% (o que confere ao estudo um poder de 90% para analisar especificamente a variável gênero feminino), e para atingir a proporção final de 2 controles para cada caso, seriam necessários 94 indivíduos infectados e 188 indivíduos não infectados.

As variáveis idade, idade da primeira relação sexual, escolaridade (em anos estudados), número de parceiros sexuais e renda foram obtidas como variáveis contínuas. A comparação das médias dessas variáveis foi feita utilizando o teste t de Student. Essas variáveis foram subsequentemente dicotomizadas para possibilitar sua inserção nos modelos uni- e multivariado. O ponto de dicotomização para a introdução no modelo multivariado correspondeu àquele de maior força de associação no modelo univariado. Algumas variáveis foram categorizadas *a priori* em nunca, raramente, frequentemente e sempre. Foi o caso das variáveis "frequência de uso de preservativo durante relações sexuais", "frequência de prática de sexo anal", "frequência de prática de sexo oral", "frequência de prática de relação sexual com pessoas do mesmo sexo". As variáveis categóricas foram comparadas usando o teste do X^2 ou o teste exato de Fisher quando apropriado. A análise multivariada foi feita pelo modelo de regressão logística binária, tendo sido incluídas no modelo todas as variáveis para as quais houve significância estatística no modelo univariado ($p < 0,05$). Algumas variáveis também foram colocadas no modelo multivariado pela "plausibilidade biológica", a despeito da inexistência de significância estatística no modelo univariado.

Uma análise *post hoc* comparando as características de homens e mulheres foi realizada em função dos resultados de um estudo de corte transversal realizado pelo nosso grupo (MOXOTÓ, 2005). Nesse estudo a infecção pelo HTLV-1 estava associada a prática de sexo anal, a idade da primeira relação sexual, ao número de parceiros sexuais durante a vida e a história de transfusão sanguínea. O objetivo dessa análise *post hoc* foi essencialmente de comparar as características de comportamento sexual entre homens e

mulheres, explorando as variáveis da mesma forma como já exposto acima, embora as características demográficas também tenham sido comparadas.

VI.H. Considerações éticas

Um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (anexo 2) foi aplicado a todos os participantes do estudo, em conformidade com a Resolução CNS nº 196 de 1996 (anexo 3). O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz / Fiocruz em 10 de março de 2003, sob número de protocolo 114/2003.

VII. RESULTADOS

VII.A. População estudada

Entre 01/01/2000 e 31/12/2003 o banco de dados do Hemoba registrou 104.835 doações voluntárias de sangue. O teste de triagem sorológica para infecção pelo HTLV I/II foi positivo em 504 doadores, o que traduz uma prevalência bruta de 0,48%. Todos os 504 doadores foram contatados por carta (X 2) e contato telefônico (X 1), mas somente 154 (30.5%) puderam ser contatados e/ou retornaram para coleta de uma nova amostra de sangue com a finalidade de repetir o teste de triagem (ELISA) e, em se obtendo resultado repetidamente positivo, realizar teste confirmatório com *Western Blot*. A repetição do teste de rastreamento por ELISA foi negativa em amostras de 15 doadores dentre os 154 que retornaram, dando uma taxa de falso positivo de 9.1%. Portanto, 139 doadores tiveram a sorologia pelo método de ELISA persistentemente positiva. Todas as 139 amostras foram positivas também para o teste pelo método *Western Blot*.

Noventa e um dentre os 139 doadores consentiram em participar do estudo na condição de casos, todos infectados pelo HTLV-1. A vasta maioria dos indivíduos que não consentiram em participar do estudo o fez por “falta de interesse” no assunto. Não há informações disponíveis sobre os indivíduos que não puderam ser contatados. Utilizando as informações disponíveis no banco de dados da Fundação Hemoba, nós comparamos a média de idade, o gênero e o local de origem entre os doadores que participaram e os que não participaram do estudo não observamos diferenças estatisticamente significativas (dados não mostrados). Cento e noventa e quatro doadores voluntários de sangue consentiram em participar do estudo na condição de controles.

VII.B. Análise descritiva.

VII.B.1. Características demográficas e socioeconômicas

A tabela 1 ilustra as principais características demográficas e socioeconômicas da população estudada. A média de idade geral (\pm desvio padrão [DP]) foi de 33,8 (\pm 10,6) anos, diferindo significativamente entre casos e controles: 39,3 \pm 10,3 e 31,1 \pm 9,8 anos, respectivamente ($p < 0,0001$). Apesar de as mulheres representarem um terço de todos os

participantes no estudo, a sua proporção entre os infectados sobe para 45%, significativamente maior do que aquela observada entre os doadores não infectados ($p=0,004$).

Tabela 1. Características demográficas dos doadores de sangue participantes do estudo

Variável	Total (n=285)	HTLV-1 positivos (n=91)	HTLV-1 negativos (n=194)	Valor de p
Idade	33,8 ($\pm 10,6$)	39,3 ($\pm 10,3$)	31,2 ($\pm 9,8$)	<0,0001
Gênero feminino	95 (33%)	41 (45%)	54 (28%)	0,004
Escolaridade*	10 ($\pm 3,4$)	8,6 ($\pm 4,1$)	10,7 ($\pm 3,7$)	<0,0001
Renda pessoal**	592,48 ($\pm 884,29$)	426,39 ($\pm 441,77$)	670,38 ($\pm 1.020,07$)	0,03
Renda familiar**	1.341,44 ($\pm 1.695,93$)	775,80 ($\pm 742,59$)	1.668,48 ($\pm 1.931,08$)	<0,0001
Solteiros***	113 (42%)	26 (31%)	87 (47%)	0,02

Os números entre parênteses representam o desvio padrão ou a porcentagem, conforme indicação.

* - em anos de estudo; ** - em R\$; *** - n=269 (excluídos viúvos e divorciados)

Em virtude da associação conhecida entre baixo nível sócio-econômico e infecção pelo HTLV-1, tentamos caracterizar de maneira satisfatória a população estudada com relação aos aspectos socioeconômicos. Duzentos e trinta e nove participantes (84%) eram residentes de Salvador, 28 (9,8%) da região metropolitana de Salvador e 16 (5,6%) eram do interior do Estado. A vasta maioria dos participantes reportou ter acesso a água tratada e saneamento básico no seu domicílio (99% e 96%, respectivamente), sem diferença entre os grupos caso e controle.

O número médio de anos estudados foi significativamente diferente entre os casos e os controles: $8,6 \pm 4,1$ contra $10,7$ anos $\pm 3,7$, respectivamente ($p < 0,0001$). Os grupos caso e controle diferiram significativamente com relação à proporção de indivíduos que concluíram o ensino fundamental (respectivamente 23% contra 11%, $p = 0,007$) e com relação a proporção de indivíduos que concluíram o nível superior (respectivamente 4,4% contra 20%, $p < 0,0001$).

Os grupos caso e controle diferiram também com relação à renda mensal. As médias

de renda pessoal foram, respectivamente, de R\$426,39 ± 441,77 e R\$670,38 ± 1.020,07 ($p = 0,03$). Para a renda familiar, as cifras foram de R\$775,80 e R\$1.668,48, respectivamente ($p < 0,0001$). Convertendo para o salário mínimo (SM) vigente na época do estudo, observamos que 80% dos indivíduos participantes no estudo tinham renda pessoal mensal de até 4 SM, sendo que 31% do total tinham renda pessoal inferior a 1 SM. Apenas 3,5% dos participantes tinham renda pessoal superior a 10 SM. Com relação à renda familiar, 70% dos participantes referiram renda mensal até 5 SM, e 13% referiram renda mensal superior a 10 SM.

Cento e cinquenta e seis indivíduos (55%) informaram ser casados ou viver maritalmente e 113 (40%) eram solteiros. A análise do estado civil foi feita sem os separados/divorciados e viúvos, uma vez que essas categorias juntas compreendiam apenas 5% da população estudada. Os grupos caso e controle diferiram de maneira estatisticamente significativa com relação ao estado civil. Embora a minoria dos indivíduos em ambos os grupos tenha se reportado como solteiros, a proporção dessa categoria entre os casos e controles foi de 31% contra 47% ($p=0,02$).

VII.B.2. Características comportamentais de risco.

Várias características comportamentais foram exploradas e estão ilustradas nas tabelas 2, 3 e 4. A média de idade de iniciação sexual foi virtualmente idêntica para casos e controles: 16,5 ± 3,0 anos e 16,6 ± 3,5 anos, respectivamente ($p = 0,84$).

O número médio de parceiros sexuais durante a vida não diferiu entre os grupos (8,9 ± 6,9 entre os casos e 8,1 ± 6,8 entre os controles; $p=0,33$). Entretanto, quando a variável "numero de parceiros durante a vida" foi dicotomizada em 0 ou 1 contra 2 ou mais, observamos que a proporção de indivíduos que tiveram dois ou mais parceiros sexuais foi significativamente maior entre os casos quando comparado aos controles: 92% e 81%, respectivamente ($p=0,013$). Não houve diferença entre os grupos com relação ao número médio de parceiros sexuais durante os 24 meses (2,0 ± 1,9) para ambos os grupos, $p=0,6$ e durante os 6 meses (1,3 ± 1,0 contra 1,2 ± 0,6, respectivamente; $p=0,5$) que precederam a entrevista.

Tabela 2. Características comportamentais dos doadores participantes do estudo

Variável	Total (n=285)	HTLV-1 positivos (n=91)	HTLV-1 negativos (n=194)	Valor de p
Idade de iniciação sexual	16,5 (±3,3)	16,5 (±3,0)	16,6 (±3,5)	0,84
Número total de parceiros sexuais*	8,4 (±6,8)	8,9 (±6,9)	8,1 (±6,8)	0,39
Número total de parceiros sexuais ≥ 2	241 (84%)	84 (92%)	157 (81%)	0,013
Uso inconstante** de preservativo	141 (50%)	23 (26%)	118 (62%)	<0,001

Os Números entre parênteses representam o desvio padrão ou a porcentagem, conforme indicação.

* - representa a média do total de parceiros sexuais durante a vida. ** - nunca ou raramente

A variável "frequência de uso de preservativos durante relações sexuais" foi categorizada a *priori* em nunca, raramente, frequentemente e sempre. Os grupos caso e controle diferiram significativamente com relação à proporção de indivíduos que reportaram nunca usarem preservativo (35% contra 7,9%, respectivamente), que reportaram usar raramente (39% contra 30%), frequentemente (17% contra 37%, respectivamente) e sempre (9,0% contra 25%) ($p < 0,0001$ para a comparação de todos os grupos).

Outro aspecto analisado foi o da relação sexual com pessoas do mesmo sexo, variável essa também categorizada a *priori* em nunca, raramente, frequentemente e sempre. A vasta maioria dos indivíduos reportou nunca ter tido contato sexual com pessoas do mesmo sexo, não havendo diferença estatisticamente significativa entre os grupos caso e controle.

Quanto a variável foi categorizada em "nunca" contra "alguma vez na vida", a proporção de indivíduos infectados que reportou passado de alguma relação homossexual durante a vida foi maior do que a proporção reportada pelos controles: 6,6% contra 2,1%, sem no entanto ter alcançado significância estatística ($p=0,079$).

Tabela 3. Características comportamentais dos doadores participantes do estudo

Variável	Total (n=285)	HTLV-1 positivos (n=91)	HTLV-1 negativos (n=194)	Valor de p
Relação homossexual				
Alguma vez na vida	10 (4%)	6 (7%)	4 (2%)	0,079
Prática de sexo anal				
Alguma vez na vida	130 (46%)	49 (54%)	81 (42%)	0,056
Prática de sexo oral				
Alguma vez na vida	189 (66%)	60 (66%)	129 (67%)	0,92
Antecedente de DST*	46 (16%)	31 (34%)	15 (8%)	<0,0001

* - DST - Doença Sexualmente Transmissível

Utilizando também essa última categorização analisamos o comportamento sexual com relação à prática de sexo oral e de sexo anal. Dois terços dos indivíduos em ambos os grupos reportaram ter praticado sexo oral alguma vez na vida (66% para casos e controles). Com relação à prática de sexo anal, 54% dos indivíduos infectados reportaram já ter praticado sexo anal alguma vez na vida, comparado com 42% dos indivíduos não infectados ($p=0,056$). A razão de *odds* para infecção pelo HTLV-1 entre indivíduos que praticaram sexo anal alguma vez na vida comparando com indivíduos que nunca praticaram sexo anal foi de 1,6 (IC 95% 0,9-2,7).

Ainda com relação ao perfilamento de prática sexual neste estudo foi analisado o histórico auto-referido de doença sexualmente transmissível (DST). Cabe salientar que a forma como os participantes do estudo foram questionados não permitiu identificar tipos específicos de DST. Quarenta e seis participantes (16%) reportaram terem tido sintomas que eles atribuíram a alguma DST pelo menos uma vez na vida. Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos caso e controle com relação à história prévia de DST: 34% entre os infectados pelo HTLV-1 contra 8% entre os não infectados ($p<0,0001$). A vasta maioria dos participantes com história prévia de DST era do sexo masculino (85% contra 15%; $p=0,004$).

Noventa e cinco por cento dos participantes relataram terem sido amamentados nos

primeiros meses de vida, a vasta maioria dos quais por mais de seis meses. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos caso e controle com relação à história de amamentação: 95% para ambos os grupos. A história prévia de transfusão sanguínea foi reportada por 10% dos doadores infectados contra 2% dos doadores não infectados ($p=0,005$). Em ambos os grupos as transfusões ocorreram de maneira praticamente equitativa nos períodos até 1993 (quando a triagem para a infecção pelo HTLV-1 não era realizada) e a partir de 1994 (quando o rastreamento sorológico passou a ser obrigatório).

A proporção de indivíduos que já haviam doado sangue previamente foi significativamente maior entre os controles quando comparado com os casos: 69% contra 44% ($p < 0,0001$). Por fim, os grupos também diferiram de maneira estatisticamente significativa com relação ao hábito de fumar. Enquanto no grupo dos doadores infectados 30% eram fumantes, no grupo dos doadores não infectados essa proporção era de 12% ($p < 0,0001$).

Tabela 4. Características comportamentais dos doadores participantes do estudo

Variável	Total (n=285)	HTLV-1 positivos (n=91)	HTLV-1 negativos (n=194)	Valor de p
Amamentados durante a infância	216 (95%)	57 (95%)	159 (95%)	1,0
Transfusão sanguínea prévia	13 (5%)	9 (10%)	4 (2%)	0,005
Doação sanguínea prévia	172 (61%)	40 (44%)	132 (69%)	<0,0001
Hábito de fumar	51 (18%)	27 (30%)	24 (12%)	<0,0001

VII.B.3. Análises univariada e multivariada

Os resultados da análise univariada podem ser observados na tabela 5.

Os seguintes fatores de risco para infecção pelo HTLV-1 foram identificados: idade \geq 51 anos, sexo feminino, \leq 5 anos de estudo, renda pessoal mensal $<$ 5 SM, renda familiar mensal $<$ 5 SM, ter tido um ou mais filhos, uso irregular de preservativos durante relações

sexuais (raramente ou nunca), história prévia de DST, ter tido dois ou mais parceiros sexuais durante a vida, história prévia de transfusão sanguínea e hábito de fumar cigarros. Estado civil solteiro se comportou como fator protetor contra a infecção pelo HTLV-1 na população estudada. As variáveis idade da iniciação sexual e amamentação não se associaram a infecção pelo HTLV-1 na análise univariada.

Tabela 5. Análise univariada dos fatores de risco para infecção pelo HTLV-1

Variável	Casos N(%)	Controles N(%)	Odds Ratio (IC 95%)	Valor de p
Idade (≥51 anos)	13(14)	7(4)	4,4(1,7-12)	0,001
Gênero feminino	41(45)	54(28%)	2,1(1,3-3,6)	0,004
Escolaridade* (≤5)	21(23)	21(11)	2,5(1,3-4,8)	0,007
Renda pessoal** (≤5)	89(98)	174(90)	5,1(1,2-22)	0,016
Estado civil solteiro	26(29)	87(45)	0,5(0,3-0,8)	<0,0001
Número de filhos (≥1)	69(76)	105(54)	2,6(1,5-4,6)	<0,0001
Uso inconstante*** de preservativos	23(26)	118(62)	4,7(2,7-8,2)	<0,0001
História prévia de DST	31(34)	15(7,7)	6,2(3,1-12)	<0,0001
Número de parceiros sexuais (≥2)	84(92)	157(81)	2,8(1,2-6,6)	0,013
Idade de iniciação de vida sexual (≤16 anos)	50(56)	103(54)	1,1(0,6-18)	0,75
Hábito de fumar	27(30)	24(12)	3,0(1,6-5,5)	<0,0001
Transfusão sanguínea prévia	9(10)	4(2)	5,2(1,6-17)	<0,0001
Amamentação	52(95)	159(95)	0,9(0,2-3,4)	0,84

*- em anos de estudo; **- em salário mínimo; ***- nunca / raramente; DST - doença sexualmente transmissível
IC95% - Intervalo de confiança de 95%.

Na análise multivariada foram colocadas todas as variáveis que se mostraram associadas à infecção pelo HTLV na análise univariada, além das variáveis idade de início de vida sexual ativa e amamentação (Tabela 6). Cinco variáveis permaneceram associadas à infecção pelo HTLV-1 no modelo multivariado: ter tido 2 ou mais parceiros sexuais durante a vida (OR = 9,3 [IC95% 2,2-40]; p=0,0027); história auto-referida de DST (OR = 6,1 [IC95%

2,0-18]; $p=0,0012$); história de uso inconstante de preservativos durante relações sexuais (OR = 4,7 [2,0-11]; $p=0,0004$); sexo feminino (OR = 3,8 [IC95% 1,6-8,9]; $p=0,0021$); e renda familiar mensal (OR = 3,4 [1,2-9,7]; $p=0,02$).

Tabela 6. Análise multivariada dos fatores de risco para infecção pelo HTLV-1

Variável	Análise univariada		Análise multivariada	
	OR(IC95%)	Valor de p	OR(IC95%)	Valor de p
Número de parceiros sexuais (≥ 2)	2,8(1,2-6,6)	0,013	9,3(2,2-40)	0,002
História prévia de DST	6,2(3,1-12)	<0,0001	6,1(2,0-18)	0,001
Uso inconstante de preservativo	4,7(2,7-8,2)	<0,0001	4,7(2,0-11)	0,004
Gênero feminino	2,1(1,3-3,6)	0,004	3,8(1,6-8,9)	0,002
Renda familiar (≤ 5)	5,1(2,5-10)	<0,0001	3,4(1,2-9,6)	0,02

VII.B.4. Análise dos fatores de risco estratificados por gênero

A tabela 7 ilustra as principais características demográficas dos homens e das mulheres que participaram do estudo. A média de idade entre homens e mulheres não diferiu de maneira significativa: $33,4 \pm 10,6$ anos contra $34,6 \pm 11,0$ anos, respectivamente ($p=0,36$). A vasta maioria dos doadores era procedente da cidade de Salvador: 80% das mulheres, 92% dos homens ($p = 0,12$). A renda média pessoal entre os homens foi mais de duas vezes maior do que a das mulheres ($p = 0,001$). Não houve diferença estatisticamente significativa entre homens e mulheres com relação ao número de anos estudados: $10,1 \pm 4,0$ contra $10,0 \pm 3,8$, respectivamente ($p = 0,3$).

Tabela 7. Análise das características demográficas por gênero

Variável	Total (N=285)	Homens (N=190)	Mulheres (N=95)	Valor de p
Idade	33,8(±10,6)	33,4(±10,4)	34,6(±11,0)	0,36
Escolaridade	10(±3,4)	10,1(±4,0)	10,0(±3,8)	0,81
Renda pessoal	592,48(±884,29)	738,37(±1.016,36)	300,67(±395,53)	<0,0001
Estado civil solteiro	113(42%)	77(29%)	36(13%)	0,93

As diferenças mais marcantes observadas foram relacionadas ao comportamento sexual (Tabela 8). A média de idade de iniciação sexual entre os homens foi de $15,8 \pm 2,6$ anos, comparado com $18,0 \pm 4,1$ anos entre as mulheres ($p < 0,0001$). Os homens reportaram terem tido uma média de $10,5 \pm 6,8$ parceiros sexuais diferentes durante a vida, comparado com $4,1 \pm 4,4$ para as mulheres ($p < 0,0001$). As diferenças permaneceram significativas mesmo para o período de dois anos e para o período de seis meses que precederam a entrevista. As proporções de homens e mulheres que reportaram terem tido dois ou mais parceiros sexuais nos dois anos que precederam a entrevista foram, respectivamente, de 54,0% contra 24,4% ($p = 0,004$), enquanto que para o período de seis meses foram, respectivamente, de 34,0% e 9,8% ($p = 0,007$). A proporção de homens que reportaram história prévia de DST foi significativamente maior do que a proporção de mulheres: 21% contra 7%, respectivamente ($p = 0,004$).

Homens e mulheres diferiram significativamente com relação à frequência de uso de preservativo durante relação sexual: 41% e 67%, respectivamente, reportaram uso inconstante de preservativo ("raramente" ou "nunca" - $p < 0,0001$). Observamos que o estado civil influenciou significativamente o comportamento sexual quanto ao uso de preservativo: 21% dos indivíduos solteiros reportaram fazer uso irregular de preservativos contra 67% entre os indivíduos que se classificaram como pertencendo às outras categorias de estado civil ($p < 0,0001$). Em função desta observação nós analisamos o comportamento de homens e mulheres solteiros com relação ao uso de preservativo durante as relações sexuais e observamos diferença ainda maior do que a existente para o grupo inteiro de

doadores. Enquanto apenas 12% dos homens solteiros reportaram uso irregular de preservativo, esse numero foi de 41% entre as mulheres ($p = 0,019$). Essa diferença de comportamento não foi observada no grupo de indivíduos que se declararam casados ou vivendo maritalmente, no qual a vasta maioria dos indivíduos faz uso irregular de preservativos: 85% das mulheres, 84% dos homens. As diferenças de práticas de sexo oral e sexo anal também são evidentes entre homens e mulheres. Por exemplo, enquanto 28% das mulheres reportaram ter praticado sexo anal alguma vez na vida, esse numero foi de 54% entre os homens ($p < 0,0001$). Quando analisada separadamente para homens e mulheres, a pratica de sexo anal confere diferentes razões de *odds* para a infecção pelo HTLV-1. Entre os homens que praticaram sexo anal alguma vez na vida, a razão de *odds* não ajustada para as demais variáveis, comparando com homens que nunca praticaram sexo anal, foi de 1,5 (IC95% 0,8-3,0). Para as mulheres que praticaram sexo anal alguma vez na vida, comparando com mulheres que nunca praticaram sexo anal, a razão de *odds* não ajustada para as demais variáveis foi de 4,0 (le 95% 1,5-10). A razão de *odds* ajustada foi de 2,3 (IC95% 0,8-6,9).

Tabela 8. Comparação das características comportamentais de homens e mulheres

Variável	Total (N=285)	Homens (N=190)	Mulheres (N=95)	Valor de p
Idade de iniciação sexual	16,5(±3,3)	15,8(±2,6)	18(±4,1)	<0,0001
Número de parceiros sexuais*	8,4(±6,8)	10,5(±6,8)	4,1(±4,4)	<0,0001
Uso inconstante de preservativos	141(50%)	76(41%)	62(67%)	<0,0001
Relação homossexual**	10(3,5%)	5(3%)	5(5%)	0,079
Prática de sexo anal	130(46%)	103(54%)	27(28%)	<,0001
Prática de sexo oral	189(66%)	138(73%)	51(54%)	0,001
História prévia de DST	46(16%)	39(21%)	7(7%)	0,004

Os números entre parênteses representam o desvio padrão ou a porcentagem, conforme indicação.

*- referente à média do número total de parceiros sexuais durante a vida; ** - alguma vez na vida.

Embora tenhamos observado diferenças comportamentais entre homens e mulheres no que diz respeito à prática de sexo oral (73 % e 54% respectivamente reportaram ter praticado sexo oral alguma vez na vida, $p=0,001$), essas diferenças não se traduziram em uma maior chance de infecção pelo HTLV-1 quando os dados foram analisados separadamente para homens e mulheres. Por fim, a proporção de homens com história prévia de DST foi significativamente maior do que a de mulheres: 21% contra 7,4%, $p=0,004$).

Uma análise do número de parceiros sexuais durante os últimos 6 meses, últimos 24 meses e durante a vida, mostrou que, entre os homens doadores infectados que referiram ser casados ou ter um relacionamento estável ("morar junto"), houve um menor número médio de parceiros sexuais nos últimos 24 meses ($p = 0,037$). Não houve diferença entre as mulheres. Numa análise com todos os participantes do estudo, estratificado pelo estado civil em quatro grupos (solteiros, casados/vive junto, divorciados e viúvos) observou-se que os solteiros são mais jovens que os outros grupos ($p < 0,005$) e os casados são mais jovens que os divorciados ($p = 0,011$). Em relação ao número de parceiros sexuais, a única diferença encontrada foi para o número de parceiros nos últimos 24 meses entre os solteiros e os casados ($p < 0,001$). Entre as mulheres, houve diferença significativa ($p = 0,001$) no número médio de parceiros sexuais na vida entre as soropositivas ($5,9 \pm 5,8$) e a soronegativas ($2,7 \pm 2,7$). Não foi encontrada diferença no número médio de parceiros sexuais entre os homens.

Analisamos também a interação entre gênero feminino (considerado exposição) e as demais variáveis, conforme ilustrado na tabela 9. Dentre todas as variáveis analisadas, as únicas que mostraram ter interação com o gênero feminino foram o estado civil e o número de parceiros sexuais durante a vida.

Tabela 9. Variação da razão de chances, em modelo de regressão logística, para variáveis sociodemográficas, epidemiológicas e comportamentais dos doadores positivos e negativos para HTLV-1, modificadas pelo gênero (feminino como evento)

Variável	Sem ajuste para o gênero		Com ajuste para o gênero	
	OR(IC95%)	Valor de p	OR(IC95%)	Valor de p
Idade	1,08(1,05-1,11)	<0,001	1,08(1,05-1,11)	<0,001
Anos de estudo	0,87(0,81-0,93)	<0,001	0,87(0,81-0,93)	<0,001
Renda familiar	0,81(0,74-0,90)	<0,0001	0,82(0,75-0,91)	<0,0001
Renda familiar per capita	0,68(0,52-0,88)	0,003	0,82(0,53-0,90)	0,005
Casado/vive maritalmente	1,61(0,97-2,68)	0,067	1,69(1,01-2,85)	0,047
Número de filhos	1,35(1,17-1,55)	<0,001	1,35(1,18-1,56)	<0,001
Número de parceiros sexuais nos últimos seis meses	1,17(0,84-1,57)	0,4	1,28(0,92-1,77)	0,14
Número de parceiros sexuais nos últimos 24 meses	0,99(0,87-1,13)	0,89	1,05(0,91-1,20)	0,5
Número de parceiros sexuais durante a vida	1,02(0,98-1,06)	0,34	1,06(1,01-1,10)	0,011
Idade de início de vida sexual	0,99(0,92-1,07)	0,84	0,95(0,88-1,04)	0,27
Uso inconstante de preservativos*	4,70(2,69-8,22)	<0,001	4,30(2,43-7,59)	<0,001
DST	6,17(3,12-12,20)	<0,001	9,01(4,32-18,80)	<0,001

DST- doença sexualmente transmissível; *- raramente ou nunca.

VII.B.5. Resultados de outros testes sorológicos.

Uma vez que são realizados outros testes de triagem de doenças transmissíveis por transfusão de hemoderivados, nós analisamos as diferenças entre doadores infectados pelo HTLV e controles com relação aos resultados de outros testes sorológicos. Vinte dos 91 doadores infectados pelo HTLV tiveram pelo menos um outro teste sorológico alterado, comparado a 9 entre 194 controles (22,0% contra 4,6%, $p < 0,0001$). A proporção de indivíduos com um segundo teste de triagem anormal não diferiu entre homens e mulheres (10,5% contra 9,5%, respectivamente; $p = 0,78$). Os testes mais frequentemente anormais entre os 91 indivíduos infectados pelo HTLV foram anti-HBc ($n = 11$), anti-HCV ($n = 6$), VDRL ($n = 4$), anti-HIV ($n = 1$) e sorologia positiva para doença de Chagas ($n = 1$). Entre os 194 indivíduos não infectados pelo HTLV, os testes mais frequentemente anormais foram Ag-HBs

(n = 3), Anti-HBc (n = 3), anti-HIV (n = 1), VDRL (n = 1) e sorologia positiva para doença e Chagas (n = 1).

VII.C. Análise filogenética.

Todos os 23 isolados estudados filogeneticamente pertenceram ao subgrupo transcontinental (A) do subtipo cosmopolita (a), com 78% de *bootstrap*, sendo esse resultado também sustentado estatisticamente pelo teste de verossimilhança máxima (ML, $p < 0,001$) (Figura 7). A maioria dos isolados (n=18) pertenceu ao grupamento latino-americano previamente descrito (VANDOOREN, 1998; ALCANTARA, 2003), com 65% de *bootstrap* ($p < 0,001$). Desses 18 isolados apenas 1 formou um grupamento monofilético com dois isolados do Peru (Me1 e Me2), porém sem sustentação pelas análises de *bootstrap* ou de ML.

Observamos também dentro do grupamento latino-americano dois grupamentos monofiléticos contendo apenas isolados brasileiros de Salvador- Bahia. Um deles, contendo cinco novos isolados (HB2562, HB3203, HB3102, HB3119, HB3230) foi sustentado estatisticamente por ML ($p < 0,001$). No outro grupamento monofilético se agruparam 12 novos isolados juntamente com um isolado previamente descrito (FNN100, ALCANTARA, 2006), porém sem sustentação por *bootstrap* ou M L.

Dois isolados sul-africanos, ambos descritos previamente (ALCANTARA, 2006), pertenceram aos grupamentos latino-americanos. Um deles (HTLV24) pertenceu ao grupamento latino-americano menor, sustentado por um alto valor de *bootstrap* e ML com elevada significância estatística. Um isolado sul-africano (HTLV04) pertenceu ao grupamento latino-americano maior, sustentado apenas por ML ($p < 0,001$) (Figura 7).

Apenas 1 isolado (HB3166) dentre os 23 analisados filogeneticamente neste estudo não pertenceu a nenhum dos dois grupamentos latino-americanos. Esse isolado divergiu anteriormente do grande grupamento latino-americano maior, porém sem sustentação por *bootstrap* ou ML. Essa divergência muito provavelmente foi decorrente de uma duplicação de um fragmento de 12 pares de bases dentro da região LTR desse isolado, correspondente à região de 9018 a 9029 da sequência referencial ATK1. Esse é o único isolado do HTLV-1 a apresentar essa inserção de 12 pb na região LTR, quando comparado a isolados do resto do

mundo (Figura 8). Os demais isolados novos (n =4) se agruparam de maneira monofilética com outras sequências da América Latina, formando um novo grupamento latino-americano (Grupamento Latino-Americano 2, Figura 7). Como demonstrado previamente (ALCANTARA, 2006), um isolado da África do Sul (HTLV24) pertenceu a esse grupamento latino-americano menor, sustentado por um alto valor de *bootstrap* (93%) e $p < 0,001$ em ML.

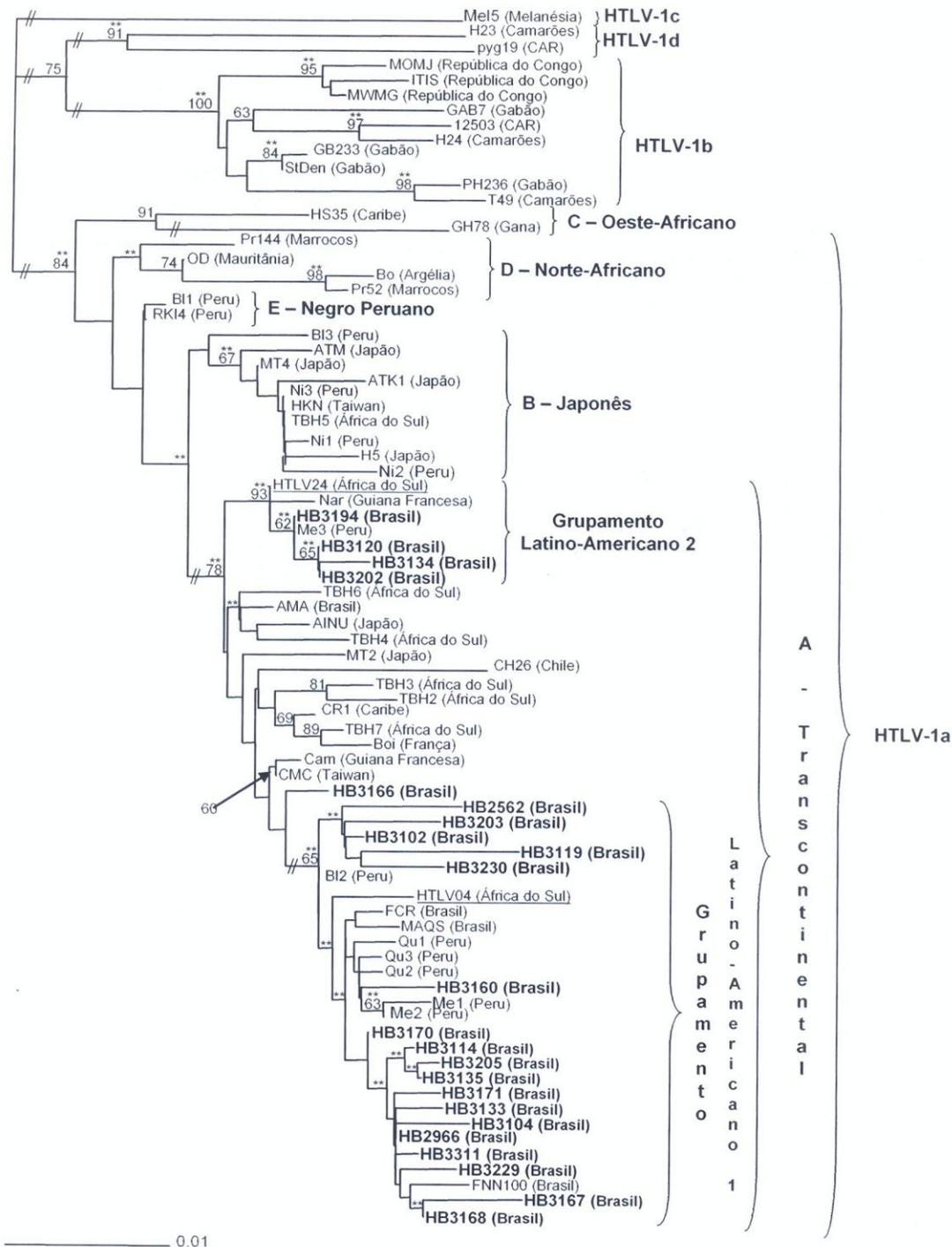


Figura 7. Árvore NJ baseada em 718 pb da região LTR dos isolados do HTLV-1. Os valores de bootstrap nos ramos representam a porcentagem de réplicas para as quais os táxons terminais formam um grupamento monofilético. Mel5 foi utilizado como grupo externo para enraizar a árvore. A origem geográfica é sinalizada entre parênteses. As novas seqüências de LTR incluídas nesta análise são mostradas em negrito.

** - representa alta significância estatística pelo método de ML ($p < 0,001$)

Figura 8. Ilustração representativa do segmento da sequência da região LTR de um dos isolados virais (HB3166). A - segmento duplicado; B - fragmento duplicado e inserido. ATK1 - isolado viral cuja sequência completa de LTR é utilizada como referência.

VIII. Discussão

Em concordância com outros dados existentes na literatura, nosso estudo revelou uma associação entre infecção pelo HTLV-1 entre doadores de sangue e baixo nível socioeconômico e práticas sexuais inseguras (SCHREIBER, 1997; ROUET, 2002; CATALAN-SOARES, 2003). Na análise multivariada foram identificados como fatores de risco independentes o sexo feminino, o uso inconstante de preservativos durante relações sexuais, a história prévia auto-referida de DST, uma menor renda familiar e história de mais de um parceiro sexual durante a vida.

A maioria dos estudos que exploraram os determinantes de risco para infecção pelo HTLV-1 em doadores de sangue encontrou resultados semelhantes aos aqui reportados. No estudo de Catalan-Soares e colaboradores a infecção pelo HTLV-1 esteve associada com a idade mais avançada, com baixa escolaridade (≤ 8 anos de estudo), com o uso de drogas ilícitas não-intravenosas, com história de transfusão prévia, assim como com história prévia de sexo pago. De maneira interessante, apesar de o estudo mineiro não ter contemplado nenhum tipo de pareamento, o sexo feminino não se comportou como fator de risco para infecção pelo HTLV-1 nem na análise univariada (razão de *odds* de 1,3 [IC 95% 0,8-2,3]). Esses achados diferem sobremaneira dos nossos resultados, que revelaram uma chance de estar infectado pelo HTLV-1 quase quatro vezes maior em mulheres no modelo multivariado: razão de *odds* de 3,8 (IC95% 1,6 - 8,9). Mais interessante ainda, na análise multivariada o sexo feminino aparece no estudo mineiro como fator protetor para a infecção pelo HTLV-1 (OR =0,7, IC95% 0,4-1,3), ainda que sem significância estatística.

Embora não seja possível fazer comparações estatísticas entre os dois grupos de mulheres (infectadas e não infectadas) dos dois estudos, observamos uma diferença importante entre as duas populações. Enquanto 69% das nossas doadoras infectadas reportaram terem frequentado a escola por um período superior a 8 anos, essa proporção foi de 28% entre as doadoras mineiras infectadas. A diferença foi mínima nos grupos das doadoras não infectadas: 55% contra 64%, respectivamente. É possível que a variável escolaridade entre as mulheres, cuja discrepância entre casos e controles no estudo mineiro foi marcante, tenha atenuado a associação entre sexo e infecção pelo HTLV-1 no modelo

multivariado, ainda que essa não seja uma explicação plausível para a inexistência de associação na análise univariada.

A observação de que a proporção de mulheres com melhor escolaridade foi maior entre as infectadas é de certa maneira incongruente com dados prévios da literatura, que revelam uma relação inversa entre escolaridade e risco de infecção pelo HTLV-1. Infelizmente, em todos os outros estudos de caso-controle publicados até o presente envolvendo doadores de sangue ou a população geral houve o pareamento por sexo, o que obviamente impossibilita a exploração dessa variável como fator de risco para infecção pelo HTLV-1.

A variável escolaridade não permaneceu como fator de risco independente para a infecção pelo HTLV-1 no nosso estudo, destoando de dados prévios da literatura. Comparando mais uma vez com o estudo mineiro citado acima, a diferença no perfil de escolaridade entre os participantes do presente estudo e os daquele reportado por Catalan-Soares e colaboradores não se restringiu ao grupo das mulheres. No grupo dos homens infectados, respectivamente 58% e 16% reportaram ter frequentado a escola por período de tempo superior a 8 anos. Nota-se, portanto, que houve um maior equilíbrio nos grupos caso e controle do nosso estudo, que no geral teve nível de escolaridade superior, o que pode ter influenciado no fato de não termos encontrado associação entre escolaridade e risco de infecção pelo HTLV-1 na nossa análise multivariada, ainda que ela estivesse presente na análise univariada (Tabela 5).

Nossos dados vêm ao encontro de outros estudos baianos que exploraram a associação entre escolaridade e infecção pelo HTLV-1. No estudo de Dourado e colaboradores, em que foram avaliados os determinantes de risco Salvador (DOURADO, 2003), observou-se que indivíduos que relataram número de anos estudados menor ou igual a 7 tinham três vezes mais chance de infecção pelo HTLV-1 (OR não ajustada 3,3, IC95% 1,0-11). Entretanto, à semelhança do que observamos entre os nossos doadores de sangue, a variável escolaridade no estudo de Dourado e colaboradores não permaneceu independentemente associada a infecção pelo HTLV-1 no modelo multivariado nem entre os homens (OR ajustada=0,4, IC 95% 0,04-4,4), nem entre as mulheres (OR=4,8, IC 95% 0,6-40).

Gomes e colaboradores também exploraram a escolaridade como fator de risco para a infecção pelo HTLV-1 em pacientes com doença neurológica. Nesse estudo os indivíduos foram divididos em três estratos de escolaridade: menos que 5, de 5 a 11 e mais de 11 anos de estudo. Ainda que não tenha havido associação estatisticamente significativa entre escolaridade e infecção pelo HTLV-1, os autores observaram uma razão de *odds* progressivamente maior com o aumento do número de anos estudados (GOMES, 1999).

Nesse aspecto os nossos resultados, juntamente com os dos outros dois estudos baianos que exploraram a associação entre a variável escolaridade e a infecção pelo HTLV-1, divergem daqueles reportados por outros estudos, nos quais a escolaridade se comporta como um fator de risco independente para infecção pelo HTLV-1 (CATALAN-SOARES, 2003; ROUET, 2002; SCHREIBER, 1997).

Uma explicação para essa observação é que a escolaridade aferida na forma de "anos de estudo" possa não ser um marcador social no que diz respeito ao risco de infecção pelo HTLV-1 no nosso meio. Alguns indicadores têm sinalizado que a qualidade do ensino em algumas regiões do país pode estar aquém do desejável, apesar do reconhecido progresso em termos quantitativos, de acesso à escola. Uma pesquisa recentemente publicada pelo IBGE revelou que a maior parte dos alunos da rede pública de ensino passa menos de quatro horas na sala de aula (www.ibge.gov.br). Na Bahia, por exemplo, considerando-se os níveis fundamental e médio, respectivamente 76% e 56% dos alunos passam menos de quatro horas por dia na sala de aula. Os respectivos números para o Estado de Minas Gerais, por exemplo, são de 35% e 31%. Além disso, dados do Exame Nacional do Ensino Médio (ENEM, edição 2005) mostram que as notas médias observadas na cidade de Salvador foram as menores dentre as quatro maiores capitais do país. Assim, a "quantidade" de anos estudados pode não estar se traduzindo em "qualidade" de aprendizado. Portanto, os nossos dados, em conformidade com os outros estudos locais, sinalizam para a necessidade de rever as políticas públicas de ensino no nosso Estado e reverter essas aparentes desvantagens.

Com relação à vulnerabilidade do sexo feminino para serem acometidas por DST, outros dados sustentam os achados do nosso trabalho. Por exemplo, no estudo de base populacional para avaliar prevalência de infecção pelo HTLV-1 na cidade de Salvador as mulheres tinham quase duas vezes mais chance de serem portadoras do HTLV-1 quando

comparadas aos homens, embora esse achado não tenha atingido significância estatística (OR=1,7, IC95% 0,7-4,0) (DOURADO, 2003). Além disso, esse estudo revelou que a influência da idade no aumento da prevalência foi muito mais marcante nas mulheres (9,3% contra 6,3% para indivíduos acima de 50 anos), o que também sugere que as mulheres se infectam mais ao longo do tempo justamente em função da sua vulnerabilidade, conforme demonstrado previamente (MURPHY, 1996).

Um outro estudo que da sustentação à ideia de que o sexo feminino no nosso meio se constitui em um fator de risco para DST foi publicado por Carret e colaboradores (CARRET, 2004). Analisando a prevalência e os fatores de risco associados a DST na cidade de Pelotas (RS), os autores identificaram o sexo feminino como um fator de risco independente (OR =3,2, IC95% 2,4-4,3). Assim, a despeito de termos analisado uma população de doadores de sangue, que é considerada mais saudável do que a população geral em função de ter sido triada clinicamente antes da doação propriamente dita, nossos dados corroboram a hipótese de que as mulheres são mais susceptíveis para adquirir a infecção pelo HTLV-1 (NUNES, 2004; GUILHEM, 2000).

Ainda com relação às características sociodemográficas, observamos que baixa renda mensal se comportou como fator de risco independente para infecção pelo HTLV-1 (Tabela 6). Muito embora seja amplamente aceito que o nível socioeconômico guarda relação inversa com o risco de infecção pelo HTLV-1, a vasta maioria dos estudos publicados até o presente momento não conseguiu demonstrar tal associação de maneira inquestionável. Habitualmente os resultados mostram uma associação estatisticamente significativa na análise univariada, mas usualmente essa variável não permanece como fator de risco independente no modelo multivariado (ROUET, 2002; MURPHY, 1996; DOURADO, 2003; FRERY, 1991).

Como era esperado, várias variáveis relacionadas ao comportamento sexual se mostraram associadas ao risco de infecção pelo HTLV-1 (Tabela 5). Indivíduos que reportaram o uso inconstante de preservativo durante relação sexual (nunca ou raramente) tiveram uma chance quase cinco vezes maior de estar infectado pelo HTLV (OR =4,8, IC95% 2,0 - 11). No estudo de caso- controle conduzido em Guadalupe (ROUET, 2002), a análise multivariada mostrou uma razão de *odds* para uso inconsistente de preservativos de 1,6 (IC95% 0,6-4,7), portanto sem significância estatística. Um achado interessante vem do

estudo jamaicano publicado por Murphy e colaboradores (MURPHY, 1996). Os autores reportaram um ténue efeito protetor do uso regular de preservativos (OR =0,8, IC95% 0,4-1,7), ainda que sem significância estatística. Curiosamente, nesse estudo o uso de dispositivo intra-uterino (DIU) entre mulheres se comportou como uma variável independentemente associada a infecção pelo HTLV-1 (OR = 2,7, IC95% 1,1-6,3). Esse achado permitiu aos autores especularem que, em função de maiores taxas de infecções pélvicas associadas com o uso do DIU, alterações na mucosa endometrial e/ou cervical, bem como o desenvolvimento de infiltrado linfocitário, possam atuar como facilitadores da transmissão de retrovírus, incluindo HTLV-1 (MURPHY, 1996). Carret e colaboradores demonstraram que o uso inconstante de preservativos durante a relação sexual estava significativamente associado a chance de adquirir DST na cidade de Pelotas-RS (razão de *odds*=2,3 [IC95% 1,2-4,4]), reforçando a ideia de proteção contra DST (incluindo HTLV-1) com uso regular de preservativos durante relações sexuais. Apesar da plausibilidade biológica entre frequência de uso de preservativos e risco de infecção pelo HTLV-1, infelizmente a maioria dos estudos que exploraram os determinantes de risco para essa infecção não incluiu essa variável. Indivíduos com história prévia de DST tiveram uma chance seis vezes maior de estarem infectados pelo HTLV-1, quando comparados a indivíduos sem história prévia de DST (Tabela 6). No estudo caribenho a história prévia de DST também se comportou como fator de risco independente para a infecção pelo HTLV-1, embora com uma força de associação menor (OR=2,3, IC95% 1,0 - 5,3). Schreiber e colaboradores encontraram associação apenas na análise univariada entre infecção pelo HTLV-1 e história prévia de DST, com razão de *odds* de 3,0 (IC95% 1,8-4,8) para DST "ulcerativa" e de 3,2 (IC 95% 2,3-4,5) para DST "não ulcerativa". Mais uma vez, a maioria dos estudos que pretenderam identificar os determinantes de risco para infecção pelo HTLV-1 não exploraram a história prévia de DST.

A chance de indivíduos expostos a dois ou mais parceiros sexuais diferentes durante a vida estarem infectados pelo HTLV-1 foi cerca de 10 vezes maior (OR =9,3, IC 95% 2,2-40) do que a de indivíduos que reportaram terem tido nenhum ou apenas um parceiro sexual durante a vida (Tabela 6). Esse dado está em concordância com outros relatos da literatura, que mostram uma relação direta entre número de parceiros sexuais durante a vida e risco de infecção pelo HTLV-1. Schreiber e colaboradores mostraram um risco de infecção pelo

HTLV-1 quase 3 vezes maior (OR ajustada =2,8, IC 95% 1,3-5,9) para doadores de sangue que tiveram sete ou mais parceiros sexuais diferentes durante a vida, comparado com doadores de sangue que tiveram dois ou menos parceiros sexuais diferentes durante a vida. O número total de parceiros sexuais durante a vida também se comportou como fator de risco para infecção pelo HTLV-1 no estudo reportado por Rouet e colaboradores (OR não ajustada=2,4, IC95% 1,2-5,1), sem no entanto permanecer como variável associada de maneira independente (OR ajustada =1,2, IC 95% 0,44-3,5). Curiosamente, esse estudo revelou uma associação entre o número de parceiros sexuais nos três anos que precederam a entrevista (≥ 2 parceiros sexuais diferentes comparado com 0-1) e o risco de infecção pelo HTLV-1 (OR ajustada=2,4, IC95% 1,2-5,1). No estudo reportado por Murphy e colaboradores, o número de parceiros sexuais diferentes esteve associado a um risco aumentado de infecção pelo HTLV-1, porém a força da associação foi mais pronunciada entre as mulheres. Um achado relativamente inesperado no nosso estudo foi a falta de associação entre idade de início de vida sexual ativa e infecção pelo HTLV-1, nem mesmo na análise univariada. No estudo caribenho publicado por Rouet e colaboradores, a idade da iniciação sexual se comportou como um fator de risco para infecção pelo HTLV-1. As médias de idade de iniciação sexual reportadas para casos e controles diferiram significativamente: 17,2 ($\pm 2,8$) anos contra 19,3 ($\pm 3,7$) anos, respectivamente ($p < 0,001$). Para cada ano de retardo na idade de iniciação sexual foi observada uma redução no risco de infecção pelo HTLV-1 de 20% no modelo univariado (OR=0,8 [IC95% 0,7-0,9]), e de 16% no modelo multivariado (OR=0,8 [IC95% 0,76-0,93]). Enquanto as médias de idade de iniciação sexual foram semelhantes nos grupos dos pacientes infectados pelo HTLV-1 nos dois estudos (17,2 $\pm 2,8$ anos no estudo caribenho contra 16,5 $\pm 3,0$ anos no presente estudo), a média de idade de iniciação sexual dos grupos controles foram, respectivamente, de 19,3 $\pm 3,7$ anos contra 16,6 $\pm 3,5$ anos. Estudos de base populacional conduzidos no Brasil revelam médias de idade de iniciação sexual semelhantes à encontrada no nosso estudo (CARRET, 2004; AQUINO, 2003; MAIA, 2003). É possível, portanto, que diferenças de comportamento sexual entre os dois países expliquem a falta de associação observada no nosso estudo entre essa variável específica e a infecção pelo HTLV-1.

Não encontramos associação entre prática de sexo anal e infecção pelo HTLV-1 quando analisamos todos os participantes do estudo. Entretanto, uma análise de subgrupo

motivada por diferenças comportamentais entre homens e mulheres com relação à prática de sexo anal revelou achados interessantes. Nós observamos que para os homens, cuja prática de sexo anal reportada não foi receptiva (apenas 2,6% dos homens referiram contato sexual com pessoas do mesmo sexo), a razão de *odds* para infecção pelo HTLV-1 foi de 1,5 (IC95% 0,8-3,0) quando se comparou história de ter praticado sexo anal alguma vez na vida com ausência de prática de sexo anal. Contrariamente, para as mulheres, para as quais a prática de sexo anal é por natureza receptiva, a razão de *odds* para a mesma comparação foi de 0,9 (IC95% 1,5-10).

Um outro achado interessante no presente estudo foi a observação de um menor risco de infecção pelo HTLV entre os indivíduos que se reportaram como solteiros quando comparado aos das outras categorias de estado civil. Um perfilamento mais detalhado desse subgrupo de indivíduos revelou que eles eram mais jovens do que os indivíduos das outras categorias (média de idade de 27,4 [± 7,9] anos contra 37,9 [± 10,1] anos; $p < 0,0001$), tinham maior escolaridade (média de anos estudados de 11,3 [± 3,3] contra 9,3 [± 4,1], $p < 0,0001$), e mais frequentemente usavam preservativos de maneira regular durante as relações sexuais (60% contra 17%; $p < 0,0001$). Essa combinação de características tem sido associada com um menor risco de infecção pelo HTLV. Não houve diferenças entre indivíduos solteiros e indivíduos pertencentes às outras categorias de estado civil com relação à idade de iniciação sexual e ao número total de parceiros sexuais durante a vida. No estudo de Guadalupe o risco de infecção para HTLV foi maior entre os solteiros quando comparado àqueles com relacionamentos estáveis, embora essa associação não tenha sido estatisticamente significativa. Nossos achados, portanto, sinalizam para uma mudança de comportamento sexual entre os nossos jovens, principal mente em função do uso mais frequente de preservativo durante relações sexuais.

A menor prevalência de infecção pelo HTLV entre doadores de sangue observada no presente estudo (0,48%) confirma a tendência de redução na prevalência de infecção de pelo HTLV entre doadores de sangue no Brasil. Em 1993 a prevalência de infecção pelo HTLV em doadores de sangue na cidade de Salvador (confirmada por Western Blot) era de 1,35% (GALVAO-CASTRO, 1997). Entre 1995 e 2000 a prevalência média para a cidade de Salvador foi de 0,9% (CATALAN-SOARES, 2005). Pode haver mais de uma razão para explicar esse achado.

Primeiro, o COAS (Centro de Orientação e Apoio Sorológico), um programa de âmbito nacional com a objetivo de centralizar o rastreamento sorológico e cuidados clínicos (aconselhamento, seguimento e tratamento) de pessoas com DST, com especial foco em infecção pelo HIV, foi lançado em 1994. É possível que ao longo dos anos tenha ocorrido um redirecionamento dos bancos de sangue para o COAS de indivíduos com intenção de ter conhecimento sobre seu estado de saúde com relação doenças de transmissão sexual, e que utilizavam a doação de sangue como uma forma rápida e sem ônus para esse fim.

Segundo, a exclusão definitiva de doadores com sorologia positiva provavelmente proporciona um efeito dilucional progressivo ao longo dos anos, conforme aventado previamente (CATALAN-SOARES, 2005). O número de indivíduos infectados no universo de doadores novos a cada ano provavelmente é inferior ao número de indivíduos infectados identificados (e definitivamente excluídos) nos anos anteriores, proporcionando então o efeito dilucional.

Terceiro, um maior escrutínio no rastreamento clínico de doadores pode ter impedido, ao longo dos últimos anos, que um maior número de indivíduos infectados tivesse a oportunidade de doar sangue e ser detectado como inapto através do rastreamento sorológico.

Por fim, a prevalência de infecção pelo HTLV pode ter diminuído verdadeiramente ao longo da última década na população geral, o que se refletiria em uma menor prevalência também entre doadores de sangue. Mudanças de comportamento sexual, especialmente entre os mais jovens (por exemplo, maior frequência de uso de preservativos durante relações sexuais) podem ter contribuído para essa redução. Uma pesquisa recente, de âmbito nacional, revelou que 79% de indivíduos que tiveram parceiros sexuais diferentes durante os 12 meses que precederam a entrevista usaram preservativos durante o último contato sexual, contra 64% em 1998 (aumento de cerca de 25%). (www.aids.gov.br) Da mesma forma, a proporção de indivíduos que reportaram terem tido apenas um parceiro sexual nos 12 meses que precederam a entrevista subiu de 81% em 1998 para 85% em 2003. Ainda que esses números possam não ser evidência irrefutável para isoladamente justificar a redução na prevalência de infecção pelo HTLV entre doadores de sangue que nós observamos neste estudo, eles sugerem que mudanças de comportamento sexual possam

estar em curso na direção de práticas sexuais mais seguras quanto à transmissão de DST, como já mencionado previamente.

Com relação aos resultados da análise *post hoc* que explorou os fatores de risco de maneira estratificada por gênero, encontramos diferenças significativas entre homens e mulheres, particularmente com relação às práticas sexuais. Apesar de iniciarem a vida sexual mais tarde e terem um menor número de diferentes parceiros sexuais quando comparadas aos homens, as mulheres da população estudada relataram uso de preservativo sexual muito menos frequentemente do que os homens. Do ponto de vista biológico essa última característica seguramente se sobrepõe às duas anteriores.

Nunes e colaboradores analisaram características clínico-epidemiológicas de 82 mulheres baianas portadoras de HIV/AIDS e constataram indicadores de um baixo perfil socioeducacional. Além disso foram observadas características de comportamento marcadas por baixa proporção de uso de drogas injetáveis (9,1%), por baixos números de diferentes parceiros sexuais durante a vida (68,9% reportaram número de parceiros sexuais durante a vida ≤ 5) e uso inconstante de preservativos durante relações sexuais (13,9% reportaram uso regular de preservativos durante relações sexuais) (NUNES, 2004). Esses achados também sinalizam para a possibilidade de as mulheres baianas estarem sendo infectadas por relações sexuais desprotegidas em relacionamento estáveis, reforçando a ideia de vulnerabilidade para adquirir doenças sexualmente transmissíveis. Estudando o comportamento sexual de 406 adolescentes de famílias registradas em um Programa de Saúde da Família na zona leste da cidade de São Paulo, Borges e colaboradores observaram que o comportamento das mulheres diferiu significativamente daquele observado entre os homens no tocante ao uso de preservativos como método contraceptivo. Na primeira relação sexual, adolescentes do sexo masculino e feminino reportaram uso de preservativo em uma taxa igualmente alta: 100% e 94%, respectivamente. Entretanto, quando perguntados com relação ao uso de preservativo durante a última relação sexual, os números foram, respectivamente, de 97% e 66% (BORGES, 2005).

Antunes e colaboradores reportaram dados sobre diferenças de comportamento sexual entre homens e mulheres jovens também da cidade de São Paulo, dentre os quais se destacavam uma maior dificuldade entre as mulheres de negociar o uso de preservativos (30% contra 14%) e a identificação de "conhecer o parceiro" e "paixão" como razões

importantes para a não-utilização de preservativo (ANTUNES, 2002). Todos esses dados sugerem que valores morais, principalmente a crença na segurança de uma relação estável, sejam fatores atualmente de grande importância para colocar as mulheres em um estado de permanente vulnerabilidade para essas doenças (GUILHEM, 2000).

Nossos dados fornecem alguns indícios que corroboram a hipótese de que a principal via de transmissão para a HTLV entre doadores de sangue no Estado da Bahia é a via sexual. Não houve associação entre amamentação e infecção pelo HTLV na população estudada, nem mesmo na análise univariada, sinalizando que essa via de transmissão possa não ser frequente no nosso meio. Observamos um risco de infecção maior associado a doadores de sangue do sexo feminino, assim como um risco de infecção maior entre mulheres que reportaram prática de sexo anal alguma vez na vida. Observamos também que o risco de ter um outro teste de rastreamento anormal (a maioria dos quais relacionados a outras DST) foi significativamente maior nos indivíduos infectados pelo HTLV. Esses dados analisados conjuntamente sugerem uma maior importância da transmissão sexual da infecção pelo HTLV-1 no nosso meio, uma maior efetividade da transmissão homem-mulher do que na direção oposta, bem como uma posição de vulnerabilidade das mulheres para adquirirem OST, inclusive HTLV-1.

Essas características da infecção pelo HTLV-1 na nossa cidade já haviam sido reveladas pelo estudo de base populacional que avaliou a prevalência de infecção pelo HTLV-1 em Salvador (DOURA OO, 2003). De fato, uma observação inesperada nesse estudo foi o fato de nenhum indivíduo com idade inferior a 15 anos ter tido evidência sorológica da infecção pelo HTLV-1, sinalizando para o papel limitado da transmissão vertical (via amamentação inclusive) da infecção pelo HTLV-1. Ao mostrar que a prevalência da infecção pelo HTLV-1 se eleva com a idade e de maneira mais pronunciada em mulheres, o estudo revela indícios de que as mulheres são mais vulneráveis para se infectarem pelo HTLV-1.

Com relação aos resultados da nossa análise filogenética, este é o primeiro estudo a demonstrar isolados do HTLV-1 da região sul do continente africano inseridos dentro dos dois grupamentos da América Latina (Figura 8). Esse resultado é importante porque dados históricos revelam que a vasta maioria dos africanos trazidos para o Brasil durante o tráfico de escravos teria vindo da região oeste do continente africano, onde circula o HTLV-1a, subgrupo oeste-africano/caribenho (C). As análises filogenéticas feitas com isolados virais de

indivíduos da cidade de Salvador até o presente momento não demonstraram a existência deste subgrupo (oeste-africano/caribenho, C), mas sim do subgrupo A (transcontinental). Considerando que esse último subgrupo é o que circula na região sul do continente africano, os nossos achados reforçam a hipótese de que a introdução do HTLV-1 na cidade de Salvador tenha decorrido do afluxo de africanos procedentes da região sul daquele continente.

Todos os isolados estudados se agruparam no subgrupo transcontinental do subtipo cosmopolita, como previamente relatado (YAMASHITA, 1999, VAN DOOREN, 1998, ALCANTARA, 2003, ALCANTARA, 2006). Entretanto, em conformidade com as análises reportadas por Alcântara e colaboradores (ALCÂNTARA, 2006), os nossos isolados virais se agruparam em dois diferentes grupamentos latino-americanos (grupamento latino-americano 1 e 2). Essa observação sugere que houve múltiplas introduções do HTLV-1 no Brasil. Entretanto, a homogeneidade observada entre as sequências brasileiras dentro de cada um dos subgrupos reforça a hipótese de que a introdução do HTLV-1 no Brasil foi relativamente recente, provavelmente durante o tráfico de escravos que ocorreu entre os séculos XVI e XIX (VAN DOOREN, 1998).

Salvador é uma cidade com 80% da população constituída por descendentes de africanos, a maioria dos quais foi trazida para a Bahia durante o tráfico de escravos, principalmente do oeste da África (RODRIGUES, 1977; VIANA FILHO, 1988; VERGER, 1987). Entre os anos 1678-1810, não existe qualquer informação sobre o movimento de navios da África para a Bahia, pois toda a documentação histórica foi perdida. Entretanto, existem evidências que africanos foram trazidos para Bahia, durante o tráfico ilícito de escravos (entre o final do século XVII e início do século XIX), de outras regiões do continente sul africano, como o sul de Angola, Madagascar e Moçambique, onde o haplotipo Bantu para o gene da globina β^A é prevalente.

A demonstração do haplotipo tipo Bantu em indivíduos infectados de Salvador sugere que a região sul do continente africano possa ter contribuído para a introdução do HTLV-1 na nossa cidade (ALCANTARA, 2003; ALCANTARA, 2006). Como mencionado acima, é desconhecida a procedência dos africanos trazidos para o Brasil entre 1678 e 1810 (VERGER, 1976). Nos séculos XVII e XVIII, durante a colonização da África do Sul pelos ingleses, muitos indivíduos fugiram para outras regiões vizinhas, hoje conhecidas como

Angola, Madagascar e Moçambique. Entre 1817-1843, tivemos em torno de 2.300 e 4.100 africanos Bantus trazidos para a Bahia, procedentes de Angola e Madagascar, respectivamente (CURTIN, 1969). Além disso, no período compreendido entre 1641 e 1648, durante o qual Angola estava sob domínio holandês, milhares de africanos foram trazidos para a Bahia, tendo como destino final o estado de Pernambuco. Entretanto, no século XVII, a predominância de africanos Bantus é colocada em evidência pelo fato de haver no porto da Bahia, quando os holandeses tomaram a cidade de Salvador em 1624, seis navios de Angola, com 1440 escravos contra um único da Guiné com apenas 28 escravos (VIANA FILHO, 1988). Logo, os Bantus foram os primeiros africanos exportados em grande escala para a Bahia, e aqui deixaram de modo indelével os marcos de sua cultura, influenciando poderosamente a língua, a religião, o folclore, e os hábitos cotidianos. Além disso, é importante salientar que os portos de onde os escravos saíam da África não estavam necessariamente relacionados com a suas origens étnicas, uma vez que eles eram frequentemente capturados de outras regiões, na maioria das vezes distantes dos portos. Diante desses fatos, podemos sugerir a ocorrência de uma possível introdução do subtipo Cosmopolita, subgrupo Transcontinental do HTLV-1 em Salvador, oriundos de africanos infectados procedentes da região sul da África. Não podemos descartar a hipótese que esse subgrupo Transcontinental podia estar presente em Angola, ou mesmo outros países africanos, e foi levado para a região sul da África por indivíduos infectados que migraram em busca do ouro e diamantes presentes nessa região. Para comprovarmos esse fato, seria necessária a obtenção de um número maior de sequências pró-virais do HTLV-1 de outras regiões da África. Há poucas sequências LTR dos isolados de HTLV-1 da África, fator limitante para a realização de uma análise filogenética mais abrangente. O achado de dois agrupamentos latino-americanos, por sua vez, sugere que a introdução do HTLV-1 na nossa cidade ocorreu em múltiplas ocasiões, muito provavelmente no período pós-Colombiano. Estudos futuros, considerando isolados do HTLV-1 de diferentes regiões e etnicidade, são de grande importância para esclarecer as origens desse vírus no Brasil. Além disso, informações sobre sequenciamento da região LTR, na qual se encontra os sítios promotores da transcrição do genoma viral, pode ser útil na correlação da evolução clínica dos portadores assintomáticos que eventualmente desenvolvam sintomas.

Apenas um dos isolados virais (HB3166) dentre as 23 estudados não pertenceu a nenhum dos dois grupos latino-americanos. O sequenciamento da região LTR desse isolado viral revelou uma duplicação de um fragmento de 12 pb, correspondente às posições 9018 a 9029 com relação à sequência de referência ATK1. Esse isolado viral é proveniente de um doador do sexo masculino de 37 anos, completamente assintomático. Desconhecemos descrição de mutação semelhante na região LTR do HTLV-1, e o significado clínico e biológico dessa mutação ainda é incerto.

Faz-se necessário ressaltar algumas das limitações deste estudo. Primeiro, o fato de termos estudado uma população de doadores de sangue nos impede de extrapolar nossos achados para a população geral. Segundo, há limitações metodológicas próprias de estudos de delineamento tipo caso-controle, particularmente viés de seleção e viés de recordação. Por exemplo, nós tivemos uma baixa proporção de participação no estudo se considerarmos todo o universo de doadores com primeiro teste de triagem positivo durante o período estudado: apenas 91 participantes dentre 504 indivíduos com sorologia alterada (cerca de 18%). Ainda que essa proporção tenha sido maior se considerarmos apenas os doadores que retornaram para uma nova coleta de amostra de sangue (91 dentre 139, ou 65%), pode ter ocorrido viés de seleção. Informações incorretas no ato da doação (endereço e telefone) podem ter contribuído substancialmente para essa baixa proporção de participação no estudo, problema que tem sido reportado também em outros bancos de sangue nacionais (MONTEIRO-DE-CASTRO, 2001)

IX. Conclusões.

1 - A infecção pelo HTLV-1 em doadores de sangue no Estado da Bahia está relacionada a baixo nível socioeconômico e a práticas sexuais inseguras.

2 - Não demonstramos associação entre idade de iniciação sexual e infecção pelo HTLV-1.

3 - Não demonstramos associação entre escolaridade e infecção pelo HTLV-1.

4 - Não encontramos associação entre história de amamentação e infecção pelo HTLV-1 na população estudada.

5 - Homens e mulheres diferem significativamente com relação a várias das características analisadas, particularmente aquelas relacionadas ao comportamento sexual.

6 - Os dados sugerem que a principal via de transmissão da infecção pelo HTLV-1 no nosso meio é sexual, e que as mulheres se encontram em uma posição de vulnerabilidade para adquirir essa infecção.

7 - Todos os isolados virais em doadores de sangue no nosso Estado pertenceram ao subgrupo A, do subtipo a do HTLV-1.

8 - A análise filogenética reforça a hipótese de que o HTLV-1 foi introduzido na cidade de Salvador no período pós-Colombiano, e que alguns isolados são provenientes da região sul do continente africano.

9 - Demonstramos pela primeira vez uma inserção de um fragmento duplicado da região LTR, cujo significado clínico e biológico ainda é incerto.

X. Perspectivas

1 - Foi oferecido aos doadores de sangue infectados pelo HTLV-1 seguimento regular no Centro de HTLV da Escola Bahiana de Medicina / Fundação Bahiana para Desenvolvimento das Ciências, com o intuito de monitorar o desenvolvimento de sintomas e identificar os determinantes da conversão do estado assintomático para o estado sintomático.

2 - Será estudada a prevalência de infecção pelo HTLV-1 nos familiares dos doadores infectados que consentirem em participar. Durante o estudo de caso-controle obtivemos informações sobre familiares disponíveis para estudos dessa natureza (pais, irmãos e prole) de cada um dos 91 doadores participantes, que serão contatados para o estudo familiar.

XI. Abstract

Title: EPIDEMIOLOGIC CHARACTERIZATION OF HTLV-1 INFECTION AND PHYLOGENETIC ANALYSIS OF VIRAL ISOLATES AMONG HTLV-1- INFECTED BLOOD DONORS IN THE STATE OF BAHIA. Aim: Characterize the epidemiology of HTLV-1 infection among blood donors in the State of Bahia and analyze phylogenetically the viral isolates. Study design: Case-control. Methods: from January 2000 to December 2003 we interviewed 91 HTLV-1- infected (cases) and 194 non-HTLV-1-infected (controls) blood donors. Information on demographic, socio-economic status, education and sexual behavior were obtained through a standardized questionnaire. LTR of viral isolates from 23 blood donors were sequenced for phylogenetic analysis. Results: Female sex, low family income, self-reported previous history of STD, inconsistent use of condoms during sexual intercourse and number of different sexual partners during life were all independently associated with HTLV-1 infection. A subgroup analysis comparing men and women revealed significant differences with regard to sexual behavior. All viral isolates belonged to transcontinental subgroup, cosmopolitan subtype of HTLV-1. For the first time it has been observed that a viral isolate from South Africa has clustered within the major Latin American cluster. Conclusion: Our results show an association between HTLV-1 infection and low socio-economic level and unsafe sexual practices. Our data suggest that the main route of HTLV-1 transmission in the city of Salvador is through unsafe sexual contact. Our phylogenetic analysis has brought further support to the hypothesis that southern region of the African continent may have contributed to the introduction of HTLV-1 in Brazil.

XII. Referências bibliográficas

Alcantara Jr. LC, Van Dooren S, Gonyalves MS, Kashima S, Costa MC, Santos FL, Bittencourt AL, Dourado I, Filho AA, Covas DT, Vandamme AM, Galvao-Castro B. Globin haplotypes of human T-cell lymphotropic virus type 1- infected individuals in Salvador, Bahia, Brazil, suggest a post-Columbian African origin of this virus. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2003;33:536-42.

Alcantara LCJ, Oliveira T, Gordon M, Pybus O, Mascarenhas RE, Seixas MO, Gonyalves M, Hlela C, Cassol S, Galvao-Castro B. Tracing the origin of Brazilian HTLV-1 as determined by analysis of host and viral genes. *AIDS* 2006;20:780-2.

Anderson S, Tynell E, Lithander E, Biberfeld G, Blomberg J, Arneborn M et al. Results of a one year screening of Swedish blood donors for HTLV. *J Acquir Immune Defic Syndr Human Retrovirol* 1995; 10:251.

Antunes MC, Peres CA, Paiva V, Stall R, Hearst N. Diferenças na prevenção da AIDS entre homens e mulheres jovens e escolas publicas em São Paulo, SP. *Rev Saúde Pública* 2002;36(4 supl):88-95.

Aquino EML, Heilborn ML, Knauth D, Bozon M, Almeida MC, Araújo J, Menezes G. Adolescência e reprodução no Brasil: a heterogeneidade dos perfis sociais. *Cad Saúde Pública* 2003; 19(5upl. 2):S377 -S388.

Araújo AQ-C, Andrade-Filho AS, Castro-Costa CM, Menna-Barreto M, Almeida SM. The HAMITSP Brazilian Study Group. HTLV-I-Associated Myelopathy / Tropical Spastic Paraparesis in Brazil: A Nationwide Survey. *J Acquir Immun Defic Syndr Hum Retrivirol* 1998; 19:536-41.

Bianco C, Kessler D, Valinsk JE. Serologic and demographic profile of blood donors positive for HTLV-I/II. 1990, 3rd Ann Retrovirol Meeting, Hawaii.

Bittencourt AL, Dourado I, Bastos Filho P, Santos M, Valadao E, Alcantara LCJ, Galvao-Castro B. Human T-Cell lymphotropic virus type 1 infection among pregnant women in northeastern Brazil. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 2001 ;26:490-4.

Borducchi OM, Oliveira JS, Bordin JO, Kerbaux J. HTLV-I infection among relatives of patients with adult T-cell leukemia/lymphoma in Brazil: analysis of infection transmission. *Leuk Lymphoma* 1998; 31:411-6.

Borges ALV, Schor N. Inicio da vida sexual na adolescência e relações de gênero: um estudo transversal em São Paulo, Brasil, 2002. *Cad Saúde Publica* 2005;21:499-507.

Britto APCR, Galvão-Castro B, Straatmann A, Santos-Torres S, Tavares-Neto J. Infecção pelo HTLV-I/II no Estado da Bahia. *Rev Soc Bras Med Trop* 1998;31:35-41.

Bryan AL. Early men in the new world. In: Shulter R (ed) *Saga*, Beverly Hills, CA. 1983. pp 137-46.

Carneiro-Proietti AB, Ribas JGR, Catalan-Soares BC, Martins ML, Brito- Melo GEA, Martins-Filho OA, Pinheiro SR, Queiroz-Campos AA, Galvão-Castro B, Pombo-de-Oliveira MS, Guedes AC, Proietti FA. Infecção e doença pelos vírus linfotrópicos humanos de células T (HTLV 1111) no Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2002;35:499-508.

Carneiro-Proietti AB, Lima-Martins MVC, Passos VMA, Carmo RA, Pinheiro SR, Rocha PRM, Proietti FA, Ferreira PC, Rocha VG. Presence of HIV and HTLV-I/II in a haemophiliac population in Belo Horizonte, Brazil and correlation with additional serologic results. *Haemophilia* 1998;4:47-50.

Carret MLV, Fassa AG, Silveira OS, Bertoldi AD, Hallal PC. Sintomas de doença sexualmente transmissíveis em adultos: prevalência e fatores de risco. *Rev Saúde Publica* 2004;38:76-84.

Casseb J, Caterino-de-Araújo A, Hong MA, Salomão S, Gallo D, Hendry RM, Duarte AJS. Prevalence of HTLV-I and HTLV-II infections among HIV-1-infected asymptomatic individuals in Sao Paulo, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1997;39(4):213-5.

Castro LH, Chaves CJ, Callegaro D, Nóbrega JP, Scaff M. HTLV-I associated myelopathy in Brazil: a preliminary report. *Arq Neuropsiquiatr* 1989;47:501-2.

Catalan-Soares BC, Almeida RT, Carneiro-Proietti AB. 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 Manhuaçu, Minas Gerais State, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2000;33:27-30.

Catalan-Soares B, Carneiro-Proietti ABF, Proietti F. Heterogeneous geographic distribution of human T-cell lymphotropic viruses I and II (HTLV-I/II): serological screening prevalence rates in blood donors from large urban areas in Brazil. *Cad Saúde Pública* 2005;21:926-31.

Catalan-Soares B, Carneiro-Proietti ABF, Proietti F. HTLV-I/II and blood donors: determinants associated with seropositivity in a low risk population. *Rev Saúde Pública* 2003;37(4):470-6.

Cesaire R, Bera O, Maier H, Lezin A, Martial J, Ouka M, Kerob-Bauchet B, Ould Amar AK, Vernant JC. Seroindeterminate patterns and seroconversions to human T-lymphotropic virus type I positivity in blood donors from Martinique, French West Indies. *Transfusion* 1999;39:1145-9.

Chen J, Zekeng L, Yamashita M, Takehisa J, Miura T, Ido E, Mboudjeka I, Tsague JM, Hayami M, Kaptue L. HTLV isolated from a Pygmy in Cameroon is related but distinct from the known Central African type. *AIDS Res Hum Retrovirol* 1995;11:1529-31.

Christiansen CB. Experience with one year of blood donor screening for HTLV-I/II in Denmark. *J Acquir Immune Defic Syndr Human Retrovirol* 1995;10:251.

Ciminale V, D'Agostino DM, Zotti L, Franchini G, Felber BK, Chieco-Bianchi L. Expression and characterization of proteins produced by mRNAs spliced into the X region of the human T-cell leukemia/lymphotropic virus type II. *Virology*. 1995;209:445-456.

Colin DO, Alcântara LCJ, Santos FLN, Uchoa R, Tavares-Neto J. Prevalência da infecção pelo vírus linfotrópico humano de células T e fatores de risco associados à soropositividade em doadores de sangue da cidade de Rio Branco, AC, Brasil (1998-2001). *Rev Soc Bras Med Trop* 2003;36:677-83.

Cornford EM, Hyman S, Swartz BE. The human brain GLUT1 glucose transporter: ultrastructural localization to the blood-brain barrier endothelia. *J Cereb Blood Flow Metab*. 1994;14:106-12.

Cortes E, Detels R, Aboulafia D, Li XL, Moudgil T, Alam M, Bonecker C, Gonzaga A, Oyafuso L, Tondo M. HIV-1, HIV-2 and HTLV-I infection in high-risk groups in Brazil. *N Engl J Med* 1989;320:953-8.

Couroucé AM, Pillonel J, Lemaire JM, Maniez M, Brunet JB. Seroprevalence of HTLV-I/II in universal screening of blood donations in France. *AIDS* 1993;7:841-847.

Covas DT, Boturao Neto E, Zago MA. The frequency of blood-borne viral infections in a population of multitransfused Brazilian patients. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1993;35:271-3.

Curtin PD. *The Slave Atlantic Trade: A Census*. Milwaukee: The University of Wisconsin Press; 1969.

Daenke S, McCracken SA, Booth S. Human T-cell leukaemia/lymphoma virus type 1 syncytium formation is regulated in a cell-specific manner by ICAM- 1, ICAM-3 and VCAM-1 and can be inhibited by antibodies to integrin beta2 or beta7. *J Gen Virol* 1999;80:1429.

Daisley H, Charles W, Landeau P, Jackman L, Gomez-Adams K, Batson M. HTLV-I in multiply transfused patients in Trinidad and Tobago, West Indies. *Vox Sanguinis* 1993;64:189-90.

de The G, Kazanji M. An HTLV I/II vaccine: from animal models to clinical trials? *J Acquir Immun Defic Hum Retrovirol* 1996;13(suppl11):S191-8.

Dos Santos JI, Lopes MMA, Deliège-Vasconcelos E, Couto-Fernandez JC, Patel BN, Barreto ML, Ferreira Jr. OC, Galvao-Castro B. Seroprevalence of HIV, HTLV-I/II and other perinatally-transmitted pathogens in Salvador, Bahia. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1995;37:343-8.

Dourado I, Alcantara LCJ, Barreto ML, Teixeira MG, Galvão-Castro B. HTLV- I in the general population of Salvador, Brazil: a city with African ethnic and sociodemographic characteristics. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2003;34:527-31.

Etzel A, Shibata GY, Rozman M, Jorge ML, Damas CD, Segurado AA. HTLV-I and HTLV-II infections in HIV-infected individuals from Santos, Brazil: seroprevalence and risk factors. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2001;26:185-90.

Fang CT, Williams E, Sandler SG and American Red Cross HTLV-I/II Study Group. Seroprevalence and geographical determinants of anti-HTLV among blood donors in the United States. 1990, 3rd Ann Retrovirol Meeting Hawaii.

Felseinstein J. Evolutionary trees from DNA sequences: A maximum likelihood approach. *J Mol Evolution* 1981;17:368-376.

Ferreira Junior OC, Vaz RS, Carvalho MB, Guerra C, Fabron AL, Rosembliit J, Hamerschlak N. Human T-lymphotropic virus type I and type II infections and correlation with risk factors in blood donors from Sao Paulo, Brazil. *Transfusion* 1995;35:258-63.

Feuer G, Green PL. Comparative biology of human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) and HTLV-2. *Oncogene* 2005;24:5996-6004.

Fitch, W. and E. Margoliash. 1967. Construction of phylogenetic trees. *Science* 1967; 155:279-284.

Franchini V. Molecular mechanisms of human T-cell leukemia/lymphotropic virus type I infection. *Blood* 1995;86:1619-39.

Frery N, Chavance M, Valette I, Schaffar L, Neisson-Vernant C, Jouannelle J, Montplaisir N. HTLV-I infection in French West Indies: a case- control study. *Eur J Epidemiol* 1991;7:175-82.

Gabbai AA, Bordin JO, Vieira-Filho JP, Kuroda A, Oliveira AS, Cruz MV, Ribeiro AA, Delaney SR, Henrard DR, Rosario J. Selectivity of human T lymphotropic virus type-1 (HTLV-1) and HTLV-2 infection among different populations in Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 1993;49:664-71.

Galvão-Castro B, Lourdes L, Rodrigues LGM, Sereno A, Ferreira Jr. OC, Franco LGP, Muller M, Sampclio DA, Santana A, Passos LM, Proietti F. Distribution of human T-lymphotropic virus type I among blood donors: a nationwide Brazilian study. *Transfusion* 1997;37:242.

Gasmi M, Farouqi B, d'Incan M, Desgragnes C. Long terminal repeat sequence analysis of HTLV type I molecular variants identified in four North African patients. *AIDS Res Hum Retrovirol* 1994;10:1313-5.

Gessain A, Gallo RC, Franchini G. The low degree of HTLV-I genetic drift in vivo as a means to follow viral transmission and movement of ancient human population. *J Virol* 1992;66:2288-95.

Gessain A, Boeri E, Yanagihara R, Gallo RC, Franchini C. 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* 1993;67:1015-23.

Gomes I, Melo A, Proietti F A, Moreno-Carvalho O, Loures LAM, Dazza MC, Said G, Larouze B, Galv30-Castro B. Human T lymphotropic virus type I (HTLV-I) infection in neurological patients in Salvador, Bahia, Brazil. *J Neurol Sciences* 1999;165:84-9.

Guilhem D. *Escravas do Risco: Bioética, Mulheres e AIDS*. Brasília, 2000. Doutorado [Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, área de concentração bioética]. Universidade de Brasília.

Gutfraind Z, Blejer JL, Saguier MC, Gomez Carretero ML, Pirola DA, Carreras Vescio LA. Seroprevalence of HTLV-I / HTLV-II in blood donors in Buenos Aires (Argentina). *Vox Sanguinis* 1994;67:408-9.

Hahn BH, Shaw GM, Popovic M, Lo Monico A, Gallo RC, Wong-Staal F. 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* 1984;34:613-8.

Hasegawa M, Kishino H, Yano T. Dating the human-apespliting by a molecular clock of mitochondrial DNA. *J Mol Evolution* 1981;22,160-174.

Hildreth JEK, Subramaniam A, Hampton RA. Human T-Cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1)-induced syncytium formation mediated by vascular cell adhesion molecule-1:

evidence for involvement of cell adhesion molecules in HTLV-1 biology. *J Virol* 1997;71:1173-80.

Hinuma Y, Nagata K, Hanaoka M, Nakai M, Matsumoto T, Kinoshita KI, Shirakawa S, Miyoshi I. Adult T-cell leukemia antigen in an ATL cell line and detection of antibodies to the antigen in human sera. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981;78:6476-80.

Hinuma Y, Komoda H, Chosa T, Kondo T, Kohakura M, Takenaka T, Kikuchi M, Ichimaru M, Yunoki K, Sato I, Matsuo R, Takiuchi Y, Uchino H, Hanaoka M. Antibodies to adult T-cell leukemia virus associated antigen (ATLA) in sera from patients and controls in Japan: a nationwide seroepidemiologic study. *Int J Cancer* 1982;29:631-5.

Hjelle B, Scaif R, Swenson S. High frequency of human T-cell leukemia-lymphoma virus type II infection in New Mexico blood donors: determination by sequence specific oligonucleotide hybridization. *Blood* 1990;76:450-4.

Jukes TH, Cantor CR. 1969. In *Mammalian protein metabolism*, ed. Munro, H.N. (Academic Press, NY), pp.21-123.

Kalyanaraman VS, Sarngadharan MG, Robert-Guroff M. A new subtype of human T-cell leukemia virus (HTLV-II) associated with a T-cell variant of hairy cell leukemia. *Science* 1982;218:571-3.

Kimura, M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution* 1980;16:111-120.

Kitagawa T, Fujishita M, Taguchi H, Myoshi I, Takodoro H. Antibodies to HTLV-I in Japanese immigrants in Brazil. *JAMA* 1986;256:2342.

Kumagai AK, Glasgow BJ, Pardridge WM. GLUT1 glucose transporter expression in the diabetic and nondiabetic human eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1994;35:2887-94.

Liu HF, Goubau P, Van Brussel M, Van Laethem K, Chen YC, Desmyter J, Vandamme A-M. The three human T-lymphotropic virus type I subtypes arose from three geographically distinct simian reservoirs. *Journal General Virology* 1996;77:359-368.

Macedo O, Ribeiro-Lima TV, Linhares AO, de Moura A, Gomes MLC, Linhares AC. 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* 2004;46:13-7.

Mahieux R, Chappey C, Georges-Courbot MC, Dubreuil G, Mauclere P, Georges A, Gessain A. Simian T-cell lymphotropic virus type I from *Mandrillus sphinx* as a simian counterpart of human T-cell lymphotropic virus type I subtype D. *Journal of Virology* 1998;72:10316-22.

Maia FFR, Andrade CG, Maakaroun MF. Anticoncepção na primeira relação sexual como fator de risco para a gravidez em adolescentes / Contraception use in first sexual intercourse as a risk factor for pregnancy in adolescents. *Rev Med Minas Gerais*, 2003;13(1):4-8.

Manel N, Battini J-L, Taylor N, Sitbon M. HTLV-1 tropism and envelope receptor. *Oncogene* 2005;24:6016-25.

Manel N, Kim FJ, Kinet S, Taylor N, Sitbon M, Battini JL. The ubiquitous Glucose Transporter GLUT-1 is a receptor for HTLV. *Cell* 2003;115:449-59.

Manel N, Taylor N, Kinet S, Kim FJ, Swainson L, Lavanya M, Battini JL, Sitbon M. HTLV envelopes and their receptor GLUT1, the ubiquitous glucose transporter: a new vision on HTLV infection? *Front Biosci.* 2004;9:3218-41.

Matutes E, Schulz T, Serpa MJ, de Queiroz-Campos-Araujo A, de Oliveira MS. Report of the Second International Symposium on HTLV in Brazil. *Leukemia* 1994;8:1092-4.

Mboudjeka I, Zekeng L, Yamashita M, Takehisa J, Ido E, Miura T, Ohkura S, Ikeda M, Kaptue L, Hayami M. Prevalence and phylogenetic analysis of HTLV-I isolates in Cameroon, including those of the Baka Pygmy. *Jpn J Cancer Res* 1997;88:619-24.

Meggens BJ, Evans C, Estrada E. The transpacific origin of Mesoamerican civilization: a preliminary review of the evidence and its theoretical implication. *Am Antropol* 1975;77:1-27.

Meireles A, Moreira ED Jr., Moreno-Carvalho OA, Badaró R, Melo A. HTLV-I associated myelopathy in Salvador (northeastern Brazil). *Arq Neuro-psiquiatria* 1992;50:189-90.

Michener CD, Sokal RR. A quantitative approach to a problem in classification. *Evolution* 1957;11:130-162.

Miura T, Fukunaga T, Igarashi T, Yamashita M, Ido E, Funahashi S-I, Ishida T, Washio K, Ueda S, Hashimoto K-I, Yoshida M, Osame M, Singhal BS, Zaninovic V, Cartier L, Sonoda S, Tarima K, Ina Y, Gojobori T, Hayami M. Phylogenetic subtypes of human T-lymphotropic virus type I and their relations to the anthropological background. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:1124-7.

Miura T, Yamashita M, Zaninovic V, Cartier L, Takehisa J, Igarashi T, Ido E, Fujiyoshi T, Sonoda S, Tajima K, Hayami M. Molecular phylogeny of human T-cell leukemia virus type I and II of Amerindians in Colombia and Chile. *J Mol Evol* 1997;44:S76-S82.

Monteiro-de-Castro MS, Assunção RM, Proietti FA. Spatial distribution of the Human Lymphotropic virus types I and II (HTLV-I/II) infection among blood donors of Hemominas

Foundation, Belo Horizonte, Minas Gerais State, Brazil, 1994-1996. *Cad Saúde Pública* 2001;17:1219-30.

Moreira Jr. ED, Ribeiro TT, Swanson P, Sampaio-Filho C, Melo A, Brites C, Badaró R, Toedter G, Lee H, Harrington Jr. W. Seroepidemiology of human T-cell lymphotropic virus type 1111 in Northeastern Brazil. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1993;6:959-63.

Moreno-Carvalho OA, Santos JI, Di Gredico G, Galvão-Castro B. Evidence of preferential female prevalence of HTLV-I associated tropical spastic paraparesis in Bahia-Brazil. *Arq Neuro-psiquiatria* 1992;50:183-8.

Moxotó I. Aspectos sócio-demográficos e epidemiológicos em mulheres infectadas pelo HTLV-I em Salvador-Bahia. Salvador, 2005. Mestrado [Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Medicina e Saúde Humana da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública].

Murphy E, Figueroa P, Gibbs WN, Holding-Cobham M, Cranston B, Malley K, Bodner AJ, Alexander SS, Blattner WA. Human T-Lymphotropic virus Type I (HTLV-I) Seroprevalence in Jamaica. I. Demographic Determinants. *Am J Epidemiol* 1991;133:1114-24.

Murphy EL, Wilks R, Hanchard B, Cranston B, Figueroa JP, Gibbs WN, Murphy J, Blattner WA. A case-control study of risk factors for seropositivity to human T-lymphotropic virus type I (HTLV-I) in Jamaica. *Int J Epidemiol* 1996;25:1083-9.

Nam, S.H., M. Kidokoro, H. Shida and M. Hatanaka. Processing of gag precursor polyprotein of human T-cell leukemia virus type I by virus-encoded pretease. *J Virology* 1988;62:3718-28.

Nunes CLX, Gonçalves LA, Silva PT, Bina JC. Características clínico- epidemiológicas de um grupo de mulheres com HIV/AIDS em Salvador-Bahia. *Rev Soc Bras Med Trop* 2004;37:436-40.

Oguma S, Imamura Y, Kusumoto Y, Nishimura Y, Yamagushi K, Takatsuki K, Okuma M. Stable human T-lymphotropic virus type I carrier rates for 7 years among a teenaged blood donor cohort of 1986 in Kumamoto, Japan. *Leuk Res* 1995;19:567-71.

Olbrich Neto J, Meira DA. Soroprevalência de vírus linfotrópico de células T humanas, vírus da imunodeficiência humana, sífilis e toxoplasmose em gestantes de Botucatu - São Paulo - Brasil. Fatores de risco para vírus linfotrópico de células T humanas. *Rev Soc Bras Med Trop* 2004;37:28-32.

Osti NM, Pestana de Castro AF, Costallat Ricci L. Research of antigen and antibodies from retroviruses, CMV and HBV among prisoners of the penitentiary complex of the region of Campinas, SP, Brazil. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 1998;40:209-13.

Pinon JO, Klasse PJ, Jassal SR, Welson S, Weber J, Brighty OW, Sattentau OJ. Human T-cell leukemia virus type 1 envelope glycoprotein gp46 interacts with cell surface heparan sulfate proteoglycans. *J Virol* 2003;77:9922-30.

Pinsky J. O escravo negro. In: Pinsky J, ed. *A escravidão no Brasil*. São Paulo: Ed Contexto; 1988:24.

Pique C, Lagaudriere-Gesbert C, Delamarre L, Rosenberg AR, Conjeaud H, Dokhelar MC. Interaction of CD82 tetraspanin proteins with HTLV-1 envelope glycoproteins inhibits cell-to-cell fusion and virus transmission. *Virology* 2000;276:455-65.

Pise-Masison CA, Choi KS, Radonovich M, Dittmer J, Kim SJ, Brady IN. Inhibition of p53 transactivation function by the human T-cell lymphotropic virus type I Tax protein. *J Virol* 1998;72:1165-70.

Poiesz BJ, Ruscetti FW, Gazdar AF, Bunn PA, Minna JD, Gallo R.: 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* 1980;77:7415.

Pombo de Oliveira MS, Matutes E, Schulz T, Carvalho SM, Noronha H, Reaves JD, Loureiro P, Machado C, Catovsky D. T-cell malignancies in Brazil. Clinical-pathological and molecular studies of HTLV-I positive and negative cases. *Int J Cancer* 1995;60:823.

Proietti FA, Carneiro-Proietti ABF, Catalan-Soares BC, Murphy EL. Global epidemiology of HTLV-I infection and associated diseases. *Oncogene* 2005;24:6058-68.

Reich DE, Goldstein, DB. Genetic evidence for a paleolithic human population expansion in Africa. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:8119-8123.

Rodrigues N. *Os africanos no Brasil*. 5th ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional; 1977:13-70.

Rouet F, Herrmann-Storck C, Courouble G, Deloumeaux J, Madani D, Strobel M. A case-control study of risk factors associated with human T-cell lymphotropic virus type-I seropositivity in blood donors from Guadalupe, French West Indies. *Vox Sanguinis* 2002;82:1-6.

Saitou N, Nei M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol* 1987;4:406-425.

Salemi, M. 1999. Molecular investigations of the origin and genetic stability of the human T-cell lymphotropic viruses. PHD tesis in Katholieke Universiteit Leuven. Rega Instituut.

Salemi M, Van Dooren S, Audenaert E, Deloaporte E, Goubau P, Desmyter J, Vandamme AM. Two new human T-lymphotropic virus type I phylogenetic subtypes in

seroindeterminates, a Mbuti pygmy and a Gabonese, have close relatives among African HTLV-I strains. *Virology* 1998;246:277-87.

Samdal HH, Skaug K, Stigum H, Hervig T, Kjeldsin-Kragh J, Skar AG. HTLV examination of Norwegian blood donors. *Tidsskr Nor Laegeforen* 1999;119:206-8.

Sanchez-Albornoz N, Morse R, Bakewell P, Florescano E, Morner M, Macleod MJ, Lockhart J, Lavrin A. 1984. Colonial Latin America in *The Cambridge History of Latin America* volume 2, pp.15-335. Cambridge University Press, Cambridge.

Schatzl H, Schwarzfischer G, Rose D, Gathol B, Weise W, Deinhardt F, Von-der-Helm K. Prevalence of human T-cell lymphotropic virus infections in Germany. *J Med Virol* 1994;43:159-60.

Schreiber GB, Murphy EL, Horton JA, Wright OJ, Garfein R, Chien HC, Nass CC. Risk factors for human T-cell lymphotropic virus types I and II (HTLV-I and -II) in blood donors: the Retrovirus Epidemiology Donor Study. *NHLBI Retrovirus Epidemiology Donor Study. J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1997;14:263-71.

Soriano V, Vallejo A, Gutierrez M, Adelantado M and The HTLV Spanish Study Group. Epidemiology of HTLV-I/II infection in Spain. *J Acquir Immune Defic Syndr Human Retrovirol* 1995;10:251.

Stuver SO, Nobuyoshi T, Mueller N. Case-control study of factors associated with human T-cell leukemia virus type I infection in southern Miyazaki, Japan. *J Natl Cancer Inst* 1992;84:867-72.

Takatsuki K, Uchiyama T, Sagawa K, Yodoi J. Adult T-cell leukemia in Japan. In: Seno S, Takaku F, Irino S, eds. *Topics in Haematology*. Amsterdam: Excerpta Medica; 1977. p.73-7.

Tamura K, Nei M. Estimation of the number of nucleotide substitution in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Mol Biol Evol* 1993;10:512-526.

Uchiyama T, Yodoi J, Sagawa K, Takatsuki K, Uchino H. Adult T-cell leukemia: clinical and hematologic features of 16 cases. *Blood* 1977;50:481-92.

Uchiyama T, Ishikawa T, Imura A. Cell adhesion molecules in HTLV-I infection. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1996;13(suppl 1):S114- 8.

Van Dooren S, Gotuzzo E, Salemi M, Watts D, Audenaert E, Duwe S, Ellerbrok H, Grassmann R, Hagelberg E, Desmyter J, Vandamme AM. Evidence for a post-Columbian introduction of HTLV-I in Latin America. *J Gen Virol* 1998;79:2695-708.

Vandamme AM, Salemi M, Desmyter J. The simian origin of the pathogenic human T-cell lymphotropic virus type I. *Trends Microbiol* 1998;6:477-83.

Vandamme A-M, Liu H-F, Goubau P, Desmyter J. Primate T- lymphotropic virus type I LTR sequence variation and its phylogenetic analysis: compatibility with an African origin of PTLV-1. *Virology* 1994;202:212-223.

Verger P. *Flux et reflux de la traile des nègres entre le Golfe de Benin et Bahia de Todos as Santos*. Paris: Mouton; 1968.

Verger P. Mouvement des navires. P.12. In: Verger P, ed. *Trade Relations Between the Bight of Benin and Bahia, 17th to 19th Century, Trans*. Ibadan: Evelyn Crawford, Ibadan University Press;1976:24-26.

Viana Filho L. *O negro na Bahia*. 3rd ed. Rio de Janeiro: Nova Fronteira; 1988:224.

Vidal AU, Gessain A, Yoshida M, Tekaia F, Garin B, Guillemain B, Schulz T, Farid R, De The G. Phylogenetic classification of human T cell leukaemia/lymphoma virus type I genotypes in five major molecular and geographical subtypes. *J Gen Virol* 1994;75:3655-66.

Virgintino D, Robertson D, Monaghan P, Errede M, Bertossi M, Ambrosi G, Roncali L. Glucose transporter GLUT1 in human brain microvessels revealed by ultrastructural immunocytochemistry. *J Submicrosc Cytol Pathol* 1997;29:365-70.

Watanabe T, Seiki M, Yoshida M. HTLV type I (U.S. isolate) and ATL (Japanese isolate) are the same species of human retrovirus. *Virology* 1984;133:238-41.

Watanabe T, Seiki M, Hirayama Y, Yoshida M. Human T-cell Leukemia virus type I is a member of the African subtype of simian viruses (STLV V). *Virology* 1986;148:385-88.

Williams AE, Fang CT, Siamon DJ, Poiesz BJ, Sandler SG, Darr WF 2nd, Shulman G, McGowan EI, Douglas DK, Bowman RJ. Seroprevalence and epidemiological correlates of HTLV-I infection in U.S. blood donors. *Science* 1988;240:643-6.

Wong-Staal F, Gallo RC. Human T-lymphotropic retroviruses. *Nature* 1985;317:395.

Yamashita M, Veronesi R, Menna-Barreto M, Harrington WJ Jr, Sampio C, Brites C, Badaró R, Andrade-Filho AS, Okhura S, Igarashi T, Miura T, Chamone D, Bianchini O, Jardim C, Sonoda S, Hayami M. Molecular epidemiology of human T-cell leukemia virus type I (HTLV-1) Brazil: the predominant HTLV-1s in South America differ from HTLV-1s of Japan and Africa, as well as those of Japanese immigrants and their relatives in Brazil. *Virology* 1999;261:59-69.

Yanagihara R, Jenkins CL, Alexander SS, Mora CA, Garruto RM. Human T lymphotropic virus type I infection in Papua New Guinea: high prevalence among the Hahai confirmed by Western analysis. *J Infect Diseases* 1990;162:649-54.

Yang Z. Among-site rate variation and its impact on phylogenetic analyses. *Tree* 1996;11:367-372.

Yoshida M. Discovery of HTLV-I, the first human retrovirus, its unique regulatory mechanisms, and insights into pathogenesis. *Oncogene* 2005;24:5931-7.

Zaaijer HL, Cuypers HT, Dudok-de-Wit C, Leite PN. 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* 1994;34:877-80.

XIII. ANEXO(S)

ANEXO 1. Modelo do questionário.

ESTUDO DE CASO-CONTROLE DOS DETERMINANTES DA INFECÇÃO PELO
HTLV-I/II EM DOADORES DE SANGUE NO ESTADO DA BAHIA

QUESTIONÁRIO

RG HTLV - _____

Nº BOLSA - _____

Banco de sangue de origem: _____

IDENTIFICAÇÃO

Nome: _____ DN: ____/____/____

Idade: _____

Gênero: _____

Endereço: Rua/Av _____, nº _____

Complemento: _____ Bairro: _____

Cidade: _____ CEP: _____

TEL1:(____)_____-_____-_____- TEL2:(____)_____-_____-_____- TEL3:(____)_____-_____-_____-

Endereço prévio 1: _____; endereço prévio 2: _____ (sigla do Estado da União)

Ocupação atual: _____ Desde: _____

Ocupação prévia 1: _____ De _____ até _____

Ocupação prévia 2: _____ De _____ até _____

Ocupação prévia 3: _____ De _____ até _____

DADOS RELACIONADOS A DOAÇÃO DE SANGUE ANTERIOR

Doação prévia? Sim (quantas vezes? _____) Não Não lembra

Onde 1: _____ Quando 1: _____

Onde 2: _____ Quando 2: _____

Onde 3: _____ Quando 3: _____

DADOS SOCIAIS

Renda pessoal (em R\$): _____ Renda familiar (em R\$): _____

Escolaridade (em número de anos estudados): _____

Estado civil: _____ Número de filhos: _____

Número de irmãos: _____ Religião: _____

Reside em domicílio próprio? Sim Não Não sabe/não quis responder

Saneamento básico no domicílio? Sim Não Não sabe/não quis responder

Recebe água tratada no domicílio? Sim Não Não sabe/não quis responder

Com quantas pessoas reside no domicílio? _____

HÁBITOS DE VIDA / ANTECEDENTES

Fumante? Sim (____ carteira/dia X ____ anos) Não

Etilista? Sim (do ano _____ até o ano _____) Não

Número total de anos de ingestão de álcool: _____ anos

Frequência de ingestão de álcool: diariamente fins de semana socialmente
 raramente não sabe/não quis responder

Idade da primeira relação sexual: _____

Uso de preservativos durante relação sexual:

sempre frequentemente raramente nunca não sabe/não quis responder

Número de parceiros sexuais nos últimos 6 meses: _____

Número de parceiros sexuais nos últimos 12 meses: _____

Número de parceiros sexuais até o presente: _____

Relação sexual com pessoas do mesmo sexo?

sempre frequentemente raramente nunca não sabe/não quis responder

Frequência de prática de sexo anal

sempre frequentemente raramente nunca não sabe/não quis responder

Frequência de prática de sexo oral

sempre frequentemente raramente nunca não sabe/não quis responder

Aleitamento materno: _____. Se amamentado, foi pela mãe biológica? _____

Já teve alguma vez o diagnóstico de doença sexualmente transmissível?

Sim Não Não sabe/não quis responder

Alguma vez já doou sangue apenas para fazer o exame de HIV?

Sim Não Não sabe/não quis responder

Alguma vez já recebeu transfusão sangüínea?

Sim Não Não sabe/não quis responder

ANEXO 2. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Estudo De Caso-Controle De Fatores De Risco Para Infecção Pelo HTLV-I Em Doadores De Sangue No Estado da Bahia

CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O Sr(a) está sendo convidado(a) a participar de um trabalho de pesquisa. Neste estudo de caso-controle serão avaliados possíveis fatores de risco para a infecção pelo vírus HTLV-I. Um estudo de caso-controle consiste em comparar pessoas com uma doença ou infecção (chamados de CASOS) com pessoas que não têm esta doença ou infecção (chamadas de CONTROLES). Isto permite identificar diferenças entre os CASOS (pessoas doentes ou infectadas) e os CONTROLES (pessoas sem doença ou infecção). Estas diferenças podem ou não estar associadas com a doença ou infecção em questão.

Este estudo está sendo conduzido porque o número de pessoas infectadas com o vírus HTLV-I no nosso estado é muito grande.

O objetivo deste estudo é, portanto, descobrir quais as características dos indivíduos infectados com o vírus (CASOS) que lhes são próprias, permitindo delinear um perfil de risco para aquisição do vírus.

Independente da presença do HTLV no seu sangue, o Sr(a) será convidado(a) a responder um questionário detalhado sobre suas características, incluindo perguntas de caráter pessoal, como renda pessoal e familiar, nível de escolaridade, amamentação, além de aspectos da sua vida sexual. Este questionário tem caráter estritamente investigativo e as respostas obtidas serão mantidas no mais absoluto sigilo. O seu nome e as suas respostas

ao questionário não serão revelados a nenhuma outra pessoa, e estes dados serão de conhecimento apenas dos médicos responsáveis diretamente pela pesquisa.

Serão colhidos 16 ml de sangue (quantidade equivalente a duas colheres das de sopa) para a repetição dos exames de sorologia, bem como para a caracterização genética do vírus. Não há malefícios à sua saúde pela retirada desta quantidade de sangue, e antecipamos apenas um pequeno desconforto causado no momento da picada para retirar a amostra de sangue.

Às pessoas infectadas com o HTLV-I será oferecido acompanhamento médico multidisciplinar no Centro de HTLV, localizado no Campus de Brotas da Fundação para o Desenvolvimento das Ciências. O objetivo deste acompanhamento é prover assistência médica integral gratuita aos indivíduos infectados, preservando-lhes a saúde, além de instituir tratamentos apropriados para eventuais complicações relacionadas à infecção pelo HTLV-I. Além disso, os portadores do HTLV terão orientação quando às medidas de prevenção da transmissão do HTLV. Os médicos que fazem parte desta pesquisa são os responsáveis pelo Centro de HTLV, que consta de infectologista, hematologista/oncologista, neurologista, oftalmologista, dermatologista, urologista, psicólogo, fisioterapeuta, entre outros profissionais.

Todos os participantes do estudo têm o direito de obter esclarecimentos sobre o andamento da pesquisa, bem como seus resultados preliminares, que serão fornecidos sempre por um dos pesquisadores responsáveis.

O principal benefício proveniente deste estudo é um benefício coletivo, de se conhecer os fatores de risco para a infecção pelo HTLV em doadores de sangue. Os CASOS (aqueles infectados com o HTLV) também se beneficiarão por poderem ser seguidos no Centro de HTLV, utilizando de toda a estrutura do referido centro.

O(a) Sr(a). não é obrigado(a) a fazer parte deste estudo. Mesmo que o(a) Sr(a). não deseje fazer parte deste estudo o seguimento no Centro de HTLV será garantido e dependerá unicamente do seu desejo e disponibilidade de comparecer no Ambulatório Docente Assistencial da Escola Bahiana de Medicina/Fundação para o desenvolvimento das Ciências, situado no Campus de Brotas, à Rua Dom João VI, nº 278, no bairro de Brotas em Salvador. O(a) Sr(a) também tem o direito de retirar o seu consentimento a qualquer momento, sem haver qualquer retaliação ou prejuízo no seu atendimento.

_____, _____ de _____ de _____.

Doador Participante do Estudo

Testemunha 1

Testemunha 2

Médico que obteve o consentimento.

ANEXO 3. Resolução CNS 196 de 1996

O Conselho Nacional de Saúde, no uso da competência que lhe é outorgada pelo Decreto nº 93933 de 14 de janeiro de 1987 , resolve:

Aprovar as seguintes diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos:

I - PREÂMBULO

A presente Resolução fundamenta-se nos principais documentos internacionais que emanaram declarações e diretrizes sobre pesquisas que envolvem seres humanos: o Código de Nuremberg (1947), a Declaração dos Direitos do Homem (1948), a Declaração de Helsinque (1964 e suas versões posteriores de 1975, 1983 e 1989), o Acordo Internacional sobre Direitos Civis e Políticos (ONU,1966, aprovado pelo Congresso Nacional Brasileiro em 1992), as Propostas de Diretrizes Éticas Internacionais para Pesquisas Biomédicas Envolvendo Seres Humanos (CIOMS/OMS 1982 e 1993) e as Diretrizes Internacionais para Revisão Ética de Estudos Epidemiológicos (CIOMS, 1991). Cumpre as disposições da Constituição da República Federativa do Brasil de 1988 e da Legislação brasileira correlata: Código de Direitos do Consumidor, Código Civil e Código Penal, Estatuto da Criança e do Adolescente, Lei Orgânica da Saúde 8.080, de 19/09/90 (dispõe sobre as condições de atenção à saúde, a organização e o funcionamento dos serviços correspondentes), Lei 8.142, de 28/12/90 (participação da comunidade na gestão do Sistema Único de Saúde), Decreto 99.438, de 07/08/90 (organização e atribuições do Conselho Nacional de Saúde), Decreto 98.830, de 15/01/90 (coleta por estrangeiros de dados e materiais científicos no Brasil), Lei 8.489, de 18/11/92, e Decreto 879, de 22/07/93 (dispõem sobre retirada de tecidos, órgãos e outras partes do corpo humano com fins humanitários e científicos), Lei 8.501, de 30/11/92 (utilização de cadáver), Lei 8.974, de 05/01/95 (uso das técnicas de engenharia genética e liberação no meio ambiente de organismos geneticamente modificados), Lei 9.279, de 14/05/96 (regula direitos e obrigações relativos à propriedade industrial), e outras.

Esta Resolução incorpora, sob a ótica do indivíduo e das coletividades os quatro referenciais básicos da bioética: autonomia, não maleficência, beneficência e justiça, entre outros, e visa assegurar os direitos e deveres que dizem respeito à comunidade científica, aos sujeitos da pesquisa e ao Estado.

O caráter contextual das considerações aqui desenvolvidas implica em revisões periódicas desta Resolução, conforme necessidades nas áreas tecnocientífica e ética.

Ressalta-se, ainda, que cada área temática de investigação e cada modalidade de pesquisa, além de respeitar os princípios emanados deste texto, deve cumprir com as exigências setoriais e regulamentações específicas.

II - TERMOS E DEFINIÇÕES. A presente Resolução, adota no seu âmbito as seguintes definições:

II.1- Pesquisa - classe de atividades cujo objetivo é desenvolver ou contribuir para o conhecimento generalizável. O conhecimento generalizável consiste em teorias, relações ou princípios ou no acúmulo de informações sobre as quais estão baseados, que possam ser corroborados por métodos científicos aceitos de observação e inferência.

II.2 - Pesquisa envolvendo seres humanos - pesquisa que, individual ou coletivamente, envolva o ser humano de forma direta ou indireta, em sua totalidade ou partes dele, incluindo o manejo de informações ou materiais.

II.3 - Protocolo de Pesquisa - Documento contemplando a descrição da pesquisa em seus aspectos fundamentais, informações relativas ao sujeito da pesquisa, à qualificação dos pesquisadores e à todas as instâncias responsáveis.

II.4 - Pesquisador responsável - pessoa responsável pela coordenação e realização da pesquisa e pela integridade e bem-estar dos sujeitos da pesquisa.

II.5 - Instituição de pesquisa - organização, pública ou privada, legitimamente constituída e habilitada na qual são realizadas investigações científicas.

II.6 - Promotor - indivíduo ou instituição, responsável pela promoção da pesquisa.

II.7 - Patrocinador - pessoa física ou jurídica que apoia financeiramente a pesquisa.

II.8 - Risco da pesquisa - possibilidade de danos à dimensão física, psíquica, moral, intelectual, social, cultural ou espiritual do ser humano, em qualquer fase de uma pesquisa e dela decorrente.

II.9 - Dano associado ou decorrente da pesquisa - agravo imediato ou tardio, ao indivíduo ou à coletividade, com nexos causal comprovado, direto ou indireto, decorrente do estudo científico.

II.10 - Sujeito da pesquisa - é o(a) participante pesquisado (a), individual ou coletivamente, de caráter voluntário, vedada qualquer forma de remuneração.

II.11 - Consentimento livre e esclarecido - anuência do sujeito da pesquisa e/ou de seu representante legal, livre de vícios (simulação, fraude ou erro), dependência, subordinação ou intimidação, após explicação completa e pormenorizada sobre a natureza da pesquisa, seus objetivos, métodos, benefícios previstos, potenciais riscos e o incômodo que esta possa acarretar, formulada em um termo de consentimento, autorizando sua participação voluntária na pesquisa.

II.12 - Indenização - cobertura material, em reparação a dano imediato ou tardio, causado pela pesquisa ao ser humano a ela submetida.

II.13 - Ressarcimento - cobertura, em compensação, exclusiva de despesas decorrentes da participação do sujeito na pesquisa.

II.14 - Comitês de Ética em Pesquisa - CEP - colegiados interdisciplinares e independentes, com “munus público”, de caráter consultivo, deliberativo e educativo, criados para defender os interesses dos sujeitos da pesquisa em sua integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos.

II.15 - Vulnerabilidade - refere-se a estado de pessoas ou grupos, que por quaisquer razões ou motivos, tenham a sua capacidade de autodeterminação reduzida, sobretudo no que se refere ao consentimento livre e esclarecido.

II.16 - Incapacidade - Refere-se ao possível sujeito da pesquisa que não tenha capacidade civil para dar o seu consentimento livre e esclarecido, devendo ser assistido ou representado, de acordo com a legislação brasileira vigente.

III - ASPECTOS ÉTICOS DA PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS

As pesquisas envolvendo seres humanos devem atender às exigências éticas e científicas fundamentais. III.1 - A eticidade da pesquisa implica em: a) consentimento livre e esclarecido dos indivíduos-alvo e a proteção a grupos vulneráveis e aos legalmente incapazes (autonomia). Neste sentido, a pesquisa envolvendo seres humanos deverá sempre tratá-lo em sua dignidade, respeitá-lo em sua autonomia e defendê-lo em sua vulnerabilidade;

b) ponderação entre riscos e benefícios, tanto atuais como potenciais, individuais ou coletivos (beneficência), comprometendo-se com o máximo de benefícios e o mínimo de danos e riscos;

c) garantia de que danos previsíveis serão evitados (não maleficência);

d) relevância social da pesquisa com vantagens significativas para os sujeitos da pesquisa e minimização do ônus para os sujeitos vulneráveis, o que garante a igual consideração dos interesses envolvidos, não perdendo o sentido de sua destinação sócio-humanitária (justiça e equidade).

III.2 - Todo procedimento de qualquer natureza envolvendo o ser humano, cuja aceitação não esteja ainda consagrada na literatura científica, será considerado como pesquisa e, portanto, deverá obedecer às diretrizes da presente Resolução. Os procedimentos referidos incluem entre outros, os de natureza instrumental, ambiental, nutricional, educacional, sociológica, econômica, física, psíquica ou biológica, sejam eles farmacológicos, clínicos ou cirúrgicos e de finalidade preventiva, diagnóstica ou terapêutica.

III.3 - A pesquisa em qualquer área do conhecimento, envolvendo seres humanos deverá observar as seguintes exigências: a) ser adequada aos princípios científicos que a justifiquem e com possibilidades concretas de responder a incertezas;

b) estar fundamentada na experimentação prévia realizada em laboratórios, animais ou em outros fatos científicos;

c) ser realizada somente quando o conhecimento que se pretende obter não possa ser obtido por outro meio;

d) prevalecer sempre as probabilidade dos benefícios esperados sobre os riscos previsíveis;

e) obedecer a metodologia adequada. Se houver necessidade de distribuição aleatória dos sujeitos da pesquisa em grupos experimentais e de controle, assegurar que, a priori, não seja possível estabelecer as vantagens de um procedimento sobre outro através de revisão de literatura, métodos observacionais ou métodos que não envolvam seres humanos;

f) ter plenamente justificada, quando for o caso, a utilização de placebo, em termos de não maleficência e de necessidade metodológica;

g) contar com o consentimento livre e esclarecido do sujeito da pesquisa e/ou seu representante legal;

h) contar com os recursos humanos e materiais necessários que garantam o bem-estar do sujeito da pesquisa, devendo ainda haver adequação entre a competência do pesquisador e o projeto proposto;

i) prever procedimentos que assegurem a confidencialidade e a privacidade, a proteção da imagem e a não estigmatização, garantindo a não utilização das informações em prejuízo das pessoas e/ou das comunidades, inclusive em termos de auto-estima, de prestígio e/ou econômico-financeiro;

j) ser desenvolvida preferencialmente em indivíduos com autonomia plena. Indivíduos ou grupos vulneráveis não devem ser sujeitos de pesquisa quando a informação desejada possa ser obtida através de sujeitos com plena autonomia, a menos que a investigação possa trazer benefícios diretos aos vulneráveis. Nestes casos, o direito dos indivíduos ou grupos que queiram participar da pesquisa deve ser assegurado, desde que seja garantida a proteção à sua vulnerabilidade e incapacidade legalmente definida;

l) respeitar sempre os valores culturais, sociais, morais, religiosos e éticos, bem como os hábitos e costumes quando as pesquisas envolverem comunidades;

m) garantir que as pesquisas em comunidades, sempre que possível, traduzir-se-ão em benefícios cujos efeitos continuem a se fazer sentir após sua conclusão. O projeto deve analisar as necessidades de cada um dos membros da comunidade e analisar as diferenças presentes entre eles, explicitando como será assegurado o respeito às mesmas;

n) garantir o retorno dos benefícios obtidos através das pesquisas para as pessoas e as comunidades onde as mesmas forem realizadas. Quando, no interesse da comunidade,

houver benefício real em incentivar ou estimular mudanças de costumes ou comportamentos, o protocolo de pesquisa deve incluir, sempre que possível, disposições para comunicar tal benefício às pessoas e/ou comunidades;

o) comunicar às autoridades sanitárias os resultados da pesquisa sempre que os mesmos puderem contribuir para a melhoria das condições de saúde da coletividade, preservando, porém, a imagem e assegurando que os sujeitos da pesquisa não sejam estigmatizados ou percam a auto-estima;

p) assegurar aos sujeitos da pesquisa os benefícios resultantes do projeto, seja em termos de retorno social, acesso aos procedimentos, produtos ou agentes da pesquisa;

q) assegurar aos sujeitos da pesquisa as condições de acompanhamento, tratamento ou de orientação, conforme o caso, nas pesquisas de rastreamento; demonstrar a preponderância de benefícios sobre riscos e custos;

r) assegurar a inexistência de conflito de interesses entre o pesquisador e os sujeitos da pesquisa ou patrocinador do projeto;

s) comprovar, nas pesquisas conduzidas do exterior ou com cooperação estrangeira, os compromissos e as vantagens, para os sujeitos das pesquisas e para o Brasil, decorrentes de sua realização. Nestes casos deve ser identificado o pesquisador e a instituição nacionais co-responsáveis pela pesquisa. O protocolo deverá observar as exigências da Declaração de Helsinque e incluir documento de aprovação, no país de origem, entre os apresentados para avaliação do Comitê de Ética em Pesquisa da instituição brasileira, que exigirá o cumprimento de seus próprios referenciais éticos. Os estudos patrocinados do exterior também devem responder às necessidades de treinamento de pessoal no Brasil, para que o país possa desenvolver projetos similares de forma independente;

t) utilizar o material biológico e os dados obtidos na pesquisa exclusivamente para a finalidade prevista no seu protocolo;

u) levar em conta, nas pesquisas realizadas em mulheres em idade fértil ou em mulheres grávidas, a avaliação de riscos e benefícios e as eventuais interferências sobre a

fertilidade, a gravidez, o embrião ou o feto, o trabalho de parto, o puerpério, a lactação e o recém-nascido;

v) considerar que as pesquisas em mulheres grávidas devem, ser precedidas de pesquisas em mulheres fora do período gestacional, exceto quando a gravidez for o objetivo fundamental da pesquisa;

x) propiciar, nos estudos multicêntricos, a participação dos pesquisadores que desenvolverão a pesquisa na elaboração do delineamento geral do projeto; e

z) descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que a aprovou.

IV - CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O respeito devido à dignidade humana exige que toda pesquisa se processe após consentimento livre e esclarecido dos sujeitos, indivíduos ou grupos que por si e/ou por seus representantes legais manifestem a sua anuência à participação na pesquisa.

IV.1 - Exige-se que o esclarecimento dos sujeitos se faça em linguagem acessível e que inclua necessariamente os seguintes aspectos:

a) a justificativa, os objetivos e os procedimentos que serão utilizados na pesquisa; b) os desconfortos e riscos possíveis e os benefícios esperados; c) os métodos alternativos existentes; d) a forma de acompanhamento e assistência, assim como seus responsáveis; e) a garantia de esclarecimento, antes e durante o curso da pesquisa, sobre a metodologia, informando a possibilidade de inclusão em grupo controle ou placebo; f) a liberdade do sujeito se recusar a participar ou retirar seu consentimento, em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado; g) a garantia do sigilo que assegure a privacidade dos sujeitos quanto aos dados confidenciais envolvidos na pesquisa; h) as formas de ressarcimento das despesas decorrentes da participação na pesquisa; e i) as formas de indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa.

IV.2 - O termo de consentimento livre e esclarecido obedecerá aos seguintes requisitos: a) ser elaborado pelo pesquisador responsável, expressando o cumprimento de cada uma das exigências acima; b) ser aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa que

referenda a investigação; c) ser assinado ou identificado por impressão dactiloscópica, por todos e cada um dos sujeitos da pesquisa ou por seus representantes legais; e d) ser elaborado em duas vias, sendo uma retida pelo sujeito da pesquisa ou por seu representante legal e uma arquivada pelo pesquisador.

IV.3 - Nos casos em que haja qualquer restrição à liberdade ou ao esclarecimento necessários para o adequado consentimento, deve-se ainda observar: a) em pesquisas envolvendo crianças e adolescentes, portadores de perturbação ou doença mental e sujeitos em situação de substancial diminuição em suas capacidades de consentimento, deverá haver justificação clara da escolha dos sujeitos da pesquisa, especificada no protocolo, aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa, e cumprir as exigências do consentimento livre e esclarecido, através dos representantes legais dos referidos sujeitos, sem suspensão do direito de informação do indivíduo, no limite de sua capacidade; b) a liberdade do consentimento deverá ser particularmente garantida para aqueles sujeitos que, embora adultos e capazes, estejam expostos a condicionamentos específicos ou à influência de autoridade, especialmente estudantes, militares, empregados, presidiários, internos em centros de readaptação, casas-abrigo, asilos, associações religiosas e semelhantes, assegurando-lhes a inteira liberdade de participar ou não da pesquisa, sem quaisquer represálias; c) nos casos em que seja impossível registrar o consentimento livre e esclarecido, tal fato deve ser devidamente documentado com explicação das causas da impossibilidade e parecer do Comitê de Ética em Pesquisa; d) as pesquisas em pessoas com o diagnóstico de morte encefálica só podem ser realizadas desde que estejam preenchidas as seguintes condições: - documento comprobatório da morte encefálica (atestado de óbito); - consentimento explícito dos familiares e/ou do responsável legal, ou manifestação prévia da vontade da pessoa; - respeito total à dignidade do ser humano sem mutilação ou violação do corpo; - sem ônus econômico financeiro adicional à família; - sem prejuízo para outros pacientes aguardando internação ou tratamento; - possibilidade de obter conhecimento científico relevante, novo e que não possa ser obtido de outra maneira; e) em comunidades culturalmente diferenciadas, inclusive indígenas, deve-se contar com a anuência antecipada da comunidade através dos seus próprios líderes, não se dispensando, porém, esforços no sentido de obtenção do consentimento individual; f) quando o mérito da pesquisa depender de alguma restrição de informações aos sujeitos, tal

fato deve ser devidamente explicitado e justificado pelo pesquisador e submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa. Os dados obtidos a partir dos sujeitos da pesquisa não poderão ser usados para outros fins que os não previstos no protocolo e/ou no consentimento.

V - RISCOS E BENEFÍCIOS

Considera-se que toda pesquisa envolvendo seres humanos envolve risco. O dano eventual poderá ser imediato ou tardio, comprometendo o indivíduo ou a coletividade.

V.1 - Não obstante os riscos potenciais, as pesquisas envolvendo seres humanos serão admissíveis quando: a) oferecerem elevada possibilidade de gerar conhecimento para entender, prevenir ou aliviar um problema que afete o bem-estar dos sujeitos da pesquisa e de outros indivíduos; b) o risco se justifique pela importância do benefício esperado; c) o benefício seja maior, ou no mínimo igual, a outras alternativas já estabelecidas para a prevenção, o diagnóstico e o tratamento.

V.2 - As pesquisas sem benefício direto ao indivíduo devem prever condições de serem bem suportadas pelos sujeitos da pesquisa, considerando sua situação física, psicológica, social e educacional.

V.3 - O pesquisador responsável é obrigado a suspender a pesquisa imediatamente ao perceber algum risco ou dano à saúde do sujeito participante da pesquisa, conseqüente à mesma, não previsto no termo de consentimento. Do mesmo modo, tão logo constatada a superioridade de um método em estudo sobre outro, o projeto deverá ser suspenso, oferecendo-se a todos os sujeitos os benefícios do melhor regime.

V.4 - O Comitê de Ética em Pesquisa da instituição deverá ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo.

V.5 - O pesquisador, o patrocinador e a instituição devem assumir a responsabilidade de dar assistência integral às complicações e danos decorrentes dos riscos previstos.

V.6 - Os sujeitos da pesquisa que vierem a sofrer qualquer tipo de dano previsto ou não no termo de consentimento e resultante de sua participação, além do direito à assistência integral, têm direito à indenização.

V.7 - Jamais poderá ser exigido do sujeito da pesquisa, sob qualquer argumento, renúncia ao direito à indenização por dano. O formulário do consentimento livre e esclarecido

não deve conter nenhuma ressalva que afaste essa responsabilidade ou que implique ao sujeito da pesquisa abrir mão de seus direitos legais, incluindo o direito de procurar obter indenização por danos eventuais.

VI - PROTOCOLO DE PESQUISA

O protocolo a ser submetido à revisão ética somente poderá ser apreciado se estiver instruído com os seguintes documentos, em português:

VI.1 - folha de rosto: título do projeto, nome, número da carteira de identidade, CPF, telefone e endereço para correspondência do pesquisador responsável e do patrocinador, nome e assinaturas dos dirigentes da instituição e/ou organização;

VI.2 - descrição da pesquisa, compreendendo os seguintes itens: a) descrição dos propósitos e das hipóteses a serem testadas; b) antecedentes científicos e dados que justifiquem a pesquisa. Se o propósito for testar um novo produto ou dispositivo para a saúde, de procedência estrangeira ou não, deverá ser indicada a situação atual de registro junto a agências regulatórias do país de origem; c) descrição detalhada e ordenada do projeto de pesquisa (material e métodos, casuística, resultados esperados e bibliografia); d) análise crítica de riscos e benefícios; e) duração total da pesquisa, a partir da aprovação; f) explicação das responsabilidades do pesquisador, da instituição, do promotor e do patrocinador; g) explicitação de critérios para suspender ou encerrar a pesquisa; h) local da pesquisa: detalhar as instalações dos serviços, centros, comunidades e instituições nas quais se processarão as várias etapas da pesquisa; i) demonstrativo da existência de infraestrutura necessária ao desenvolvimento da pesquisa e para atender eventuais problemas dela resultantes, com a concordância documentada da instituição; j) orçamento financeiro detalhado da pesquisa: recursos, fontes e destinação, bem como a forma e o valor da remuneração do pesquisador; l) explicitação de acordo preexistente quanto à propriedade das informações geradas, demonstrando a inexistência de qualquer cláusula restritiva quanto à divulgação pública dos resultados, a menos que se trate de caso de obtenção de patenteamento; neste caso, os resultados devem se tornar públicos, tão logo se encerre a etapa de patenteamento; m) declaração de que os resultados da pesquisa serão tornados públicos, sejam eles favoráveis ou não; e n) declaração sobre o uso e destinação do material e/ou dados coletados.

VI.3 - informações relativas ao sujeito da pesquisa: a) descrever as características da população a estudar: tamanho, faixa etária, sexo, cor (classificação do IBGE), estado geral de saúde, classes e grupos sociais, etc. Expôr as razões para a utilização de grupos vulneráveis; b) descrever os métodos que afetem diretamente os sujeitos da pesquisa; c) identificar as fontes de material de pesquisa, tais como espécimens, registros e dados a serem obtidos de seres humanos. Indicar se esse material será obtido especificamente para os propósitos da pesquisa ou se será usado para outros fins; d) descrever os planos para o recrutamento de indivíduos e os procedimentos a serem seguidos. Fornecer critérios de inclusão e exclusão; e) apresentar o formulário ou termo de consentimento, específico para a pesquisa, para a apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa, incluindo informações sobre as circunstâncias sob as quais o consentimento será obtido, quem irá tratar de obtê-lo e a natureza da informação a ser fornecida aos sujeitos da pesquisa; f) descrever qualquer risco, avaliando sua possibilidade e gravidade; g) descrever as medidas para proteção ou minimização de qualquer risco eventual. Quando apropriado, descrever as medidas para assegurar os necessários cuidados à saúde, no caso de danos aos indivíduos. Descrever também os procedimentos para monitoramento da coleta de dados para prover a segurança dos indivíduos, incluindo as medidas de proteção à confidencialidade; e h) apresentar previsão de ressarcimento de gastos aos sujeitos da pesquisa. A importância referente não poderá ser de tal monta que possa interferir na autonomia da decisão do indivíduo ou responsável de participar ou não da pesquisa.

VI.4 - qualificação dos pesquisadores: “Curriculum Vitae” do pesquisador responsável e dos demais participantes.

VI.5 - termo de compromisso do pesquisador responsável e da instituição de cumprir os termos desta Resolução.

VII - COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - CEP

Toda pesquisa envolvendo seres humanos deverá ser submetida à apreciação de um Comitê de Ética em Pesquisa.

VII.1 - As instituições nas quais se realizem pesquisas envolvendo seres humanos deverão constituir um ou mais de um Comitê de Ética em Pesquisa -CEP, conforme suas necessidades.

VII.2 - Na impossibilidade de se constituir CEP, a instituição ou o pesquisador responsável deverá submeter o projeto à apreciação do CEP de outra instituição, preferencialmente entre os indicados pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP/MS).

VII.3 - Organização - A organização e criação do CEP será da competência da instituição, respeitadas as normas desta Resolução, assim como o provimento de condições adequadas para o seu funcionamento.

VII.4 - Composição - O CEP deverá ser constituído por colegiado com número não inferior a 7(sete) membros. Sua constituição deverá incluir a participação de profissionais da área de saúde, das ciências exatas, sociais e humanas, incluindo, por exemplo, juristas, teólogos, sociólogos, filósofos, bioeticistas e, pelo menos, um membro da sociedade representando os usuários da instituição. Poderá variar na sua composição, dependendo das especificidades da instituição e das linhas de pesquisa a serem analisadas.

VII.5 - Terá sempre caráter multi e transdisciplinar, não devendo haver mais que metade de seus membros pertencentes à mesma categoria profissional, participando pessoas dos dois sexos. Poderá ainda contar com consultores “ad hoc”, pessoas pertencentes ou não à instituição, com a finalidade de fornecer subsídios técnicos.

VII.6 - No caso de pesquisas em grupos vulneráveis, comunidades e coletividades, deverá ser convidado um representante, como membro “ad hoc” do CEP, para participar da análise do projeto específico.

VII.7 - Nas pesquisas em população indígena deverá participar um consultor familiarizado com os costumes e tradições da comunidade.

VII.8 - Os membros do CEP deverão se isentar de tomada de decisão, quando diretamente envolvidos na pesquisa em análise.

VII.9 - Mandato e escolha dos membros - A composição de cada CEP deverá ser definida a critério da instituição, sendo pelo menos metade dos membros com experiência em pesquisa, eleitos pelos seus pares. A escolha da coordenação de cada Comitê deverá ser feita pelos membros que compõem o colegiado, durante a primeira reunião de trabalho. Será de três anos a duração do mandato, sendo permitida recondução.

VII.10 - Remuneração - Os membros do CEP não poderão ser remunerados no desempenho desta tarefa, sendo recomendável, porém, que sejam dispensados nos horários de trabalho do Comitê das outras obrigações nas instituições às quais prestam serviço, podendo receber ressarcimento de despesas efetuadas com transporte, hospedagem e alimentação.

VII.11 - Arquivo - O CEP deverá manter em arquivo o projeto, o protocolo e os relatórios correspondentes, por 5 (cinco) anos após o encerramento do estudo.

VII.12 - Liberdade de trabalho - Os membros dos CEPs deverão ter total independência na tomada das decisões no exercício das suas funções, mantendo sob caráter confidencial as informações recebidas. Deste modo, não podem sofrer qualquer tipo de pressão por parte de superiores hierárquicos ou pelos interessados em determinada pesquisa, devem isentar-se de envolvimento financeiro e não devem estar submetidos a conflito de interesse.

VII.13 - Atribuições do CEP:

- a) revisar todos os protocolos de pesquisa envolvendo seres humanos, inclusive os multicêntricos, cabendo-lhe a responsabilidade primária pelas decisões sobre a ética da pesquisa a ser desenvolvida na instituição, de modo a garantir e resguardar a integridade e os direitos dos voluntários participantes nas referidas pesquisas;
- b) emitir parecer consubstanciado por escrito, no prazo máximo de 30 (trinta) dias, identificando com clareza o ensaio, documentos estudados e data de revisão. A revisão de cada protocolo culminará com seu enquadramento em uma das seguintes categorias: · aprovado; · com pendência: quando o Comitê considera o protocolo como aceitável, porém identifica determinados problemas no protocolo, no formulário do consentimento ou em ambos, e recomenda uma revisão específica ou solicita uma modificação ou informação relevante, que deverá ser atendida em 60 (sessenta) dias pelos pesquisadores; · retirado: quando, transcorrido o prazo, o protocolo permanece pendente; · não aprovado; e · aprovado e encaminhado, com o devido parecer, para apreciação pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP/MS, nos casos previstos no capítulo VIII, item 4.c.
- c) manter a guarda confidencial de todos os dados obtidos na execução de sua tarefa e arquivamento do protocolo completo, que ficará à disposição das autoridades sanitárias;
- d) acompanhar o desenvolvimento dos projetos através de relatórios anuais dos pesquisadores;

e) desempenhar papel consultivo e educativo, fomentando a reflexão em torno da ética na ciência; f) receber dos sujeitos da pesquisa ou de qualquer outra parte denúncias de abusos ou notificação sobre fatos adversos que possam alterar o curso normal do estudo, decidindo pela continuidade, modificação ou suspensão da pesquisa, devendo, se necessário, adequar o termo de consentimento. Considerar-se como anti-ética a pesquisa descontinuada sem justificativa aceita pelo CEP que a aprovou; g) requerer instauração de sindicância à direção da instituição em caso de denúncias de irregularidades de natureza ética nas pesquisas e, em havendo comprovação, comunicar à Comissão Nacional de Ética em Pesquisa-CONEP/MS e, no que couber, a outras instâncias; e h) manter comunicação regular e permanente com a CONEP/MS.

VII.14 - Atuação do CEP: a) a revisão ética de toda e qualquer proposta de pesquisa envolvendo seres humanos não poderá ser dissociada da sua análise científica. Pesquisa que não se faça acompanhar do respectivo protocolo não deve ser analisada pelo Comitê. b) Cada CEP deverá elaborar suas normas de funcionamento, contendo metodologia de trabalho, a exemplo de: elaboração das atas; planejamento anual de suas atividades; periodicidade de reuniões; número mínimo de presentes para início das reuniões; prazos para emissão de pareceres; critérios para solicitação de consultas de experts na área em que se desejam informações técnicas; modelo de tomada de decisão, etc.

VIII - COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA (CONEP/MS)

A Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP/MS é uma instância colegiada, de natureza consultiva, deliberativa, normativa, independente, vinculada ao Conselho Nacional de Saúde.

O Ministério da Saúde adotará as medidas necessárias para o funcionamento pleno da Comissão e de sua Secretaria Executiva.

VIII.1 - Composição: A CONEP terá composição multi e transdisciplinar, com pessoas de ambos os sexos e deverá ser composta por 13 (treze) membros titulares e seus respectivos suplentes, sendo 05 (cinco) deles personalidades destacadas no campo da ética na pesquisa e na saúde e 08 (oito) personalidades com destacada atuação nos campos teológico, jurídico e outros, assegurando-se que pelo menos um seja da área de gestão da saúde. Os membros serão selecionados, a partir de listas indicativas elaboradas pelas

instituições que possuem CEP registrados na CONEP, sendo que 07 (sete) serão escolhidos pelo Conselho Nacional de Saúde e 06 (seis) serão definidos por sorteio. Poderá contar também com consultores e membros “ad hoc”, assegurada a representação dos usuários.

VIII.2 - Cada CEP poderá indicar duas personalidades.

VIII.3 - O mandato dos membros da CONEP será de quatro anos com renovação alternada a cada dois anos, de sete ou seis de seus membros.

VIII.4 - Atribuições da CONEP - Compete à CONEP o exame dos aspectos éticos da pesquisa envolvendo seres humanos, bem como a adequação e atualização das normas atinentes. A CONEP consultará a sociedade sempre que julgar necessário, cabendo-lhe, entre outras, as seguintes atribuições: a) estimular a criação de CEPs institucionais e de outras instâncias; b) registrar os CEPs institucionais e de outras instâncias; c) aprovar, no prazo de 60 dias, e acompanhar os protocolos de pesquisa em áreas temáticas especiais tais como: 1 - genética humana; 2 - reprodução humana; 3 - fármacos, medicamentos, vacinas e testes diagnósticos novos (fases I, II e III) ou não registrados no país (ainda que fase IV), ou quando a pesquisa for referente a seu uso com modalidades, indicações, doses ou vias de administração diferentes daquelas estabelecidas, incluindo seu emprego em combinações; 4 - equipamentos, insumos e dispositivos para a saúde novos, ou não registrados no país; 5 - novos procedimentos ainda não consagrados na literatura; 6 - populações indígenas; 7 - projetos que envolvam aspectos de biossegurança; 8 - pesquisas coordenadas do exterior ou com participação estrangeira e pesquisas que envolvam remessa de material biológico para o exterior; e 9 - projetos que, a critério do CEP, devidamente justificado, sejam julgados merecedores de análise pela CONEP; d) prover normas específicas no campo da ética em pesquisa, inclusive nas áreas temáticas especiais, bem como recomendações para aplicação das mesmas; e) funcionar como instância final de recursos, a partir de informações fornecidas sistematicamente, em caráter ex-offício ou a partir de denúncias ou de solicitação de partes interessadas, devendo manifestar-se em um prazo não superior a 60 (sessenta) dias; f) rever responsabilidades, proibir ou interromper pesquisas, definitiva ou temporariamente, podendo requisitar protocolos para revisão ética inclusive, os já aprovados pelo CEP; g) constituir um sistema de informação e acompanhamento dos aspectos éticos das pesquisas envolvendo seres

humanos em todo o território nacional, mantendo atualizados os bancos de dados; h) informar e assessorar o MS, o CNS e outras instâncias do SUS, bem como do governo e da sociedade, sobre questões éticas relativas à pesquisa em seres humanos; i) divulgar esta e outras normas relativas à ética em pesquisa envolvendo seres humanos; j) a CONEP juntamente com outros setores do Ministério da Saúde, estabelecerá normas e critérios para o credenciamento de Centros de Pesquisa. Este credenciamento deverá ser proposto pelos setores do Ministério da Saúde, de acordo com suas necessidades, e aprovado pelo Conselho Nacional de Saúde; e l) estabelecer suas próprias normas de funcionamento.

VIII.5 - A CONEP submeterá ao CNS para sua deliberação: a) propostas de normas gerais a serem aplicadas às pesquisas envolvendo seres humanos, inclusive modificações desta norma; b) plano de trabalho anual; c) relatório anual de suas atividades, incluindo sumário dos CEP estabelecidos e dos projetos analisados.

IX - OPERACIONALIZAÇÃO IX.1 - Todo e qualquer projeto de pesquisa envolvendo seres humanos deverá obedecer às recomendações desta Resolução e dos documentos endossados em seu preâmbulo. A responsabilidade do pesquisador é indelegável. Indeclinável e compreende os aspectos éticos e legais.

IX.2 - Ao pesquisador cabe: a) apresentar o protocolo, devidamente instruído ao CEP, aguardando o pronunciamento deste, antes de iniciar a pesquisa; b) desenvolver o projeto conforme delineado; c) elaborar e apresentar os relatórios parciais e final; d) apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; e) manter em arquivo, sob sua guarda, por 5 anos, os dados da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; f) encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; g) justificar, perante o CEP, interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

IX.3 - O Comitê de Ética em Pesquisa institucional deverá estar registrado junto à CONEP/MS.

IX.4 - Uma vez aprovado o projeto, o CEP passa a ser co-responsável no que se refere aos aspectos éticos da pesquisa.

IX.5 - Consideram-se autorizados para execução, os projetos aprovados pelo CEP, exceto os que se enquadrarem nas áreas temáticas especiais, os quais, após aprovação pelo CEP institucional deverão ser enviados à CONEP/MS, que dará o devido encaminhamento.

IX.6 - Pesquisas com novos medicamentos, vacinas, testes diagnósticos, equipamentos e dispositivos para a saúde deverão ser encaminhados do CEP à CONEP/MS e desta, após parecer, à Secretaria de Vigilância Sanitária.

IX.7 - As agências de fomento à pesquisa e o corpo editorial das revista científicas deverão exigir documentação comprobatória de aprovação do projeto pelo CEP e/ou CONEP, quando for o caso.

IX.8 - Os CEP institucionais deverão encaminhar trimestralmente à CONEP/MS a relação dos projetos de pesquisa analisados, aprovados e concluídos, bem como dos projetos em andamento e, imediatamente, aqueles suspensos.

X. DISPOSIÇÕES TRANSITÓRIAS

X.1 - O Grupo Executivo de Trabalho -GE, constituído através da Resolução CNS 170/95, assumirá as atribuições da CONEP até a sua constituição, responsabilizando-se por:

a) tomar as medidas necessárias ao processo de criação da CONEP/MS; b) estabelecer normas para registro dos CEP institucionais;

X.2 - O GET terá 180 dias para finalizar as suas tarefas.

X.3 - Os CEP das instituições devem proceder, no prazo de 90 (noventa) dias, ao levantamento e análise, se for o caso, dos projetos de pesquisa em seres humanos já em andamento, devendo encaminhar à CONEP/MS, a relação dos mesmos.

X.4 - Fica revogada a Resolução 01/88.