



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas



Programa de Pós-Graduação *stricto sensu*
Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas

SEROPREVALÊNCIA DO VÍRUS LINFOTRÓPICO T HUMANO TIPO I (HTLV-I) EM CRIANÇAS MOÇAMBICANAS HIV 1/2 SEROPOSITIVAS

Dissertação de Mestrado

Aluno: Ivan Nicolae Alfredo Manhiça

Orientadora: Profa. Dra. Valdiléa Gonçalves Veloso dos Santos

Co-orientadora: Profa. Dra. Beatriz Gilda Jegerhorn Grinsztejn

Rio de Janeiro, 2012

Ficha catalográfica elaborada pela
Biblioteca de Ciências Biomédicas/ ICICT / FIOCRUZ - RJ

M277 Manhiça, Ivan Nicolae Alfredo

Seroprevalência do vírus linfotrópico T humano tipo I (HTLV-I) em crianças moçambicanas HIV 1/2 seropositivas / Ivan Nicolae Alfredo Manhiça. – Rio de Janeiro, 2012.
xv,72 f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas, Pós-Graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas, 2012.

Bibliografia: f. 49-61

1. Coinfecção HIV/HTLV-I.2. 2. Crianças moçambicanas. I. Título.

CDD 616.9792

SEROPREVALÊNCIA DO VÍRUS LINFOTRÓPICO T
HUMANO TIPO I (HTLV-I) EM CRIANÇAS
MOÇAMBICANAS HIV 1/2 SEROPOSITIVAS

IVAN NICOLAE ALFREDO MANHIÇA

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas do Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC), da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), para obtenção do grau de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Valdiléa Gonçalves Veloso dos Santos

Co-orientadora: Profa. Dra. Beatriz Gilda Jegerhorn Grinsztejn

Rio de Janeiro

2012

IVAN NICOLAE ALFREDO MANHIÇA

Seroprevalência do Vírus Linfotrófico T Humano Tipo I
(HTLV-I) em Crianças Moçambicanas HIV 1/2
Seropositivas

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas do Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC) da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) para obtenção do grau de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Valdiléa Gonçalves Veloso dos Santos

Co-orientadora: Profa. Dra. Beatriz Gilda Jegerhorn Grinsztejn

Aprovada em 08 / 11 / 2012

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Elizabeth de Souza Neves

(Presidente)

Prof. Dr. Luiz Antonio B. Camacho

Prof. Dr. Marcus Tullius T. da Silva

Dedico este trabalho a Nehanda e ao Thierry!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, que de forma singular me conduziu até aqui.

Aos meus pais pela educação, pelo amor, cuidado e pelo incentivo sempre incondicional.

À Michela, a Nehanda e ao Thierry (os meus amores) pelo incentivo, pela paciência, pela força e pelos sacrifícios consentidos.

Aos meus irmãos pelo incentivo e apoio.

Aos meus sogros, meus segundos pais, pela disponibilidade e apoio dado.

À Dra. Valdiléa Veloso e a Dra. Beatriz Grinsztejn (orientadora e co-orientadora) pela oportunidade, pelo acolhimento, pela orientação e valiosas contribuições na condução deste trabalho.

À Dra. Marília Santini pelo apoio, paciência e valiosas contribuições na condução deste trabalho. Muito obrigado.

Ao Prof. Dr. Luiz Camacho pelos ensinamentos e contribuições na condução deste trabalho.

À Dra. Luciane Velasque pelas contribuições, especialmente na análise estatística.

Ao Egídio, meu companheiro dedicado, na longa e paciente coleta de amostras.

Ao Cremildo, pelo profissionalismo, apoio e coordenação da equipa laboratorial.

AGRADECIMENTOS

Ao Otávio Espindola e a Doris Schor pelo apoio no processamento da Carga Proviral do HTLV-1.

Ao Eduardo Samo Gudo, ao Nilesh Bhatt e ao Orvalho Augusto pelo incentivo e apoio durante todo processo.

Ao Prof. Orlando Ferreira pelo inestimável apoio logístico no Rio de Janeiro.

À Ana Cristina e ao Emerson Mesquita, colegas e amigos da turma do mestrado. Obrigado por tudo. Foi um prazer.

À equipe do Hospital de Dia Pediátrico do Hospital Geral José Macamo, especialmente a Dra. Patrícia, Dra. Bernardina e a Rosalina, pelo acolhimento, colaboração e apoio durante a seleção dos voluntários. Estendo os meus agradecimentos a Cecília e a Cacilda, flebotomistas que ajudaram a coletar as amostras.

Às equipes dos laboratórios de Serologia (Cremildo e Hélder) e de Biologia Molecular (Nália e Adolfo), bem como a todos colegas do Departamento de Imunologia e do CISPOC, Instituto Nacional de Saúde, que direta ou indiretamente contribuíram para que este trabalho pudesse decorrer sem sobressaltos. À todos, o meu muito obrigado.

À Direção de Saúde da Cidade de Maputo, a Direção do Hospital Geral José Macamo, a Direção do Centro de Saúde 1 de Maio (Dra. Eleutéria) e a Direção do Centro de Saúde Polana Caniço (Dra. Edília) pela colaboração.

Ao CNPq, pela bolsa de estudos.

Ao Ministério da Ciência e Tecnologia - Moçambique/Fundo Nacional de Investigação (FNI) pelo financiamento, permitindo assim a realização deste trabalho.

A Direção do IPEC pelo inestimável apoio dispensado.

Ao Ministério da Saúde (MISAU/DPS - Gaza), de forma particular ao Instituto Nacional de Saúde (INS), pela oportunidade.

Não poderia terminar sem agradecer de forma muito especial, acima de tudo e de todos aos pais, mães, tutores legais e respectivas crianças que aceitaram participar incondicionalmente neste trabalho. Muito obrigado por tudo.

“ Não conheço ninguém que conseguiu realizar seu sonho, sem sacrificar feriados e domingos pelo menos uma centena de vezes. Da mesma forma, se quisermos construir uma relação amigável com nossos filhos, temos que nos dedicar a isso, superar o cansaço, arrumar tempo para ficar com eles, deixar de lado o orgulho e o comodismo. Se quiser um casamento gratificante, terá que investir tempo, energia e sentimentos nesse objetivo. O sucesso é construído à noite! Durante o dia você faz o que todos fazem. Mas, para obter um resultado diferente da maioria, você tem que ser especial. Se fizer igual a todo mundo, obterá os mesmos resultados. Não se compare à maioria, pois, infelizmente ela não é modelo de sucesso. Se você quiser atingir uma meta especial, terá que estudar no horário em que os outros estão tomando chopp com batatas fritas. Terá de planejar, enquanto os outros permanecem à frente da televisão. Terá de trabalhar enquanto os outros tomam sol à beira da piscina. A realização de um sonho depende de dedicação. Há muita gente que espera que o sonho se realize por magia, mas toda magia é ilusão, e a ilusão não tira ninguém de onde está, em verdade A ILUSÃO É COMBUSTÍVEL DOS PERDEDORES pois... Quem quer fazer alguma coisa, encontra um MEIO. Quem não quer fazer nada, encontra uma DESCULPA.”

(Roberto Shinyashiki)

RESUMO

Introdução: Estudos recentes realizados em Moçambique mostraram que a prevalência da coinfeção HIV/HTLV-I em pacientes adultos infetados pelo HIV é de 4.5% e que a mesma cursa com dissociação entre os parâmetros clínicos e imunológicos. No entanto, até a data, não existem dados sobre a prevalência e características clínico-laboratoriais da coinfeção HIV/HTLV-I na população pediátrica, em Moçambique.

Objetivo: Determinar a seroprevalência e características clínico-laboratoriais da infeção por HTLV-1 em crianças moçambicanas seropositivas para o HIV atendidas em Unidades Sanitárias da Cidade de Maputo.

Métodos: Entre Novembro de 2010 e Agosto de 2011, foram estudadas de forma consecutiva, 945 crianças infetadas pelo HIV, atendidas na consulta da criança em risco (CCR) em 3 Unidades Sanitárias da Cidade de Maputo, para o rastreio da infeção pelo HTLV-I, contagem de células T CD4+ e determinação dos parâmetros hematológicos. Cada criança com coinfeção HIV/HTLV-I foi pareada com duas crianças com monoinfeção por HIV de acordo com a idade, o sexo e estadiamento clínico do HIV (OMS) para comparação de parâmetros clínicos e epidemiológicos.

Resultados: Foram recrutadas para o estudo 945 crianças, das quais 37 (3,9%; IC: 2.8 - 5.4%) foram positivas para o HTLV-I. A mediana da idade foi de 6 anos [Intervalo Interquartil (IQR): 4 - 9]. Não houve diferença significativa entre crianças mono e co-infectadas em relação à idade, sexo, parâmetros hematológicos, estadiamento da infeção pelo HIV e uso de antirretrovirais. Na análise dos casos pareados não foram observadas diferenças significativas entre os dois grupos relacionadas a dados epidemiológicos e clínicos. Nenhuma das crianças co-infectadas tinha manifestações clínicas do HTLV-I e apenas 4/37 apresentaram carga próviral detectável.

Discussão: Nossos dados demonstram que a infeção pelo HTLV-I circula também em crianças infectadas pelo HIV em Moçambique e que a contagem de células CD4 em sangue periférico não foi alterada na coinfeção na população estudada. Estes resultados são importantes para o desenho e implementação de novas estratégias para prevenção da transmissão vertical do HTLV-I, bem como para o manuseio clínico das crianças infetadas pelo HTLV-I em Moçambique.

Palavras-chave: 1. Coinfeção HIV/HTLV-I, 2. Crianças moçambicanas.

ABSTRACT

Introduction: Recent studies in Mozambique showed that the prevalence of co-infection HIV/HTLV-I in adult patients infected with HIV is 4.5% and that it evolves with dissociation between clinical and immunological parameters. However, to date, there are no data on the prevalence and clinical and laboratory characteristics data, of coinfection HIV/HTLV-I in children in Mozambique.

Objective: To determine the prevalence, clinical and laboratory characteristics of HTLV-I infection in mozambican children infected with HIV in Maputo City.

Methods: Between November 2010 and August 2011, HIV-infected childrens were consecutively selected in 3 Health Centers in Maputo City. They were screened for HTLV-I infection, count of CD4 + T cells and haematological parameters. Each child coinfectd with HIV/HTLV-I was paired with two children with HIV according to age, sex and clinical stage of HIV (WHO).

Results: We recruited 945 children in the study, of which 37 (3.9%, CI: 2.8 - 5.4%) were positive for HTLV-I. The median age was 6 years [interquartile range (IQR): 4-9]. Patients coinfectd with HIV/HTLV-I and the ones monoinfected with HIV were similar with respect to gender ($p = 0.35$), history of breastfeeding (86.5% in the HIV/HTLV-I vs 81.7% in the HIV group, $p = 0.6752$) and antiretroviral treatment (78.4% in the HIV/HTLV-I vs. 86.1% in the HIV group, $p = 0.279$).

Discussion: Our data show that HTLV-1 is prevalent in HIV-infected children in Mozambique and suggest that vertical transmission is the main mode of acquisition of HTLV-I in Mozambique. These results are important for the design and implementation of new strategies for prevention of vertical transmission of HTLV-I, as well as for the clinical management of children infected with HTLV-I in Mozambique.

Keywords: 1. Coinfection HIV / HTLV-I. 2. Mozambican children.

ÍNDICE

I. INTRODUÇÃO	1
II. REVISÃO DA LITERATURA.....	4
II.1. O HTLV.....	4
II.1.1 Biologia do HTLV	4
II.1.2 Epidemiologia da infecção pelo HTLV-I	6
II.1.3 Transmissão da infecção pelo HTLV-I	8
II.1.4 Diagnóstico do HTLV-I	9
II.1.5 Aspectos clínicos da infecção pelo HTLV-I	9
II.2. O HIV.....	11
II.2.1 Biologia do HIV	11
II.2.2 Epidemiologia da infecção pelo HIV	12
II.2.3 Transmissão da infecção pelo HIV.....	16
II.2.4 Aspectos clínicos da infecção pelo HIV.....	17
II.3 COINFECÇÃO HIV / HTLV- I.....	20
II.3.1 Epidemiologia da coinfeção HIV / HTLV- I	20
II.3.2 Coinfeção HIV/HTLV-I e progressão para o SIDA.....	21
III. OBJETIVOS	23
III. 1 Geral.....	23
III. 2 Específicos	23
IV. MATERIAL E MÉTODOS.....	24
IV.1 Delineamento do estudo.....	24
IV.2 Área do estudo	24
IV.3 População do estudo.....	24
IV.4 Procedimentos clínicos do estudo	25
IV.5 Procedimentos laboratoriais do estudo	26
IV.5.1 Diagnóstico de HIV-1/2.....	27
IV.5.2 Diagnóstico de HTLV-1/2	27
IV.5.3 Determinação dos parâmetros hematológicos	28
IV.5.4 Determinação das sub-populações de linfócitos T CD4+ e T CD8+.....	28
IV.5.5 Quantificação da carga proviral para HTLV-I em PBMC	28
IV.6 Considerações estatísticas.....	29
IV.6.1 Tamanho da amostra.....	29
IV.6.2 Coleta e manejo dos dados	30
IV.6.3 Análise dos dados.....	30

IV.7 Considerações Éticas.....	31
V. RESULTADOS.....	32
V. 1 Prevalência da Co-infecção HIV-HTLV-I	32
V. 2 Características clínicas e demográficas	32
V.2.1 População total do estudo	32
V.2.2 Subpopulação pareada por estadiamento clínico do HIV, idade e sexo ...	35
V.2.3 Carga Proviral do HTLV-I.....	39
VI. DISCUSSÃO	40
VIII. RECOMENDAÇÕES.....	48
IX. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49
Anexo I: Questionário de recolha de dados	62
Anexo II: Formulário de consentimento informado.	65
Anexo III: Aprovação do Comité de Ética	69
Anexo IV: Estadiamento da infecção pelo HIV na idade pediátrica (menores de 15 anos de idade).	70
Anexo V: Lista dos Voluntários Coinfectados	72

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

FIGURA 1 – Estrutura da partícula viral do HTLV-I.....	5
FIGURA 2 – Distribuição e frequência de casos HTLV-I na população mundial, por região geográfica	7
FIGURA 3 – Estrutura do HIV segundo BISMARA, 2006.....	12
FIGURA 4 – Estimativa da distribuição mundial da infecção por HIV	13
FIGURA 5 – Número de novas infecções por HIV no ano 2009	13
FIGURA 6 – Estimativa da distribuição mundial da infecção por HIV em crianças menores de 15 anos no ano 2010	14
FIGURA 7 – Prevalência da infecção pelo HIV em Moçambique 2000 – 2010	15
FIGURA 8 – Prevalência da infecção por HIV em crianças moçambicanas com idades entre 0 - 11 anos	16
FIGURA 9 - História natural da infecção pelo HIV	19
TABELA 1 – Características clínicas e demográficas da população total do estudo.....	34
TABELA 2 – Fatores clínicos relacionados com a transmissão do HTLV-1 nos pacientes coinfectados por HIV/HTLV-I e nos pacientes mono infectados por HIV	35
TABELA 3 – Indicadores de peso e estatura à nascença nos pacientes coinfectados por HIV/HTLV-I e nos pacientes mono infectados por HIV	36

TABELA 4 – Lesões dermatológicas: comparação de frequências nos pacientes coinfectedados por HIV/HTLV-I e nos pacientes mono infectados por HIV 36

TABELA 5 – Comparação de diferentes parâmetros hematológicos entre pacientes coinfectedados por HIV/HTLV-I e pacientes mono infectados por HIV, tendo em conta os grupos etários 38

TABELA 6 – Comparação de duas subpopulações linfocitárias (T CD4+ e T CD8+) entre pacientes coinfectedados por HIV/HTLV-I e pacientes mono infectados por HIV, tendo em conta os grupos etários 39

LISTA DE ABREVIATURAS

ATLL	Adult T-Cell Leukemia/Lymphoma
CCR	Consulta da Criança em Risco
CNBS	Comitê Nacional de Bioética para Saúde, Moçambique
CS	Centro de Saúde
DNA	Deoxyribonucleic Acid, Acido Desoxiribonucleico
DPS	Direção Provincial de Saúde
ECG	Eletrocardiograma
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
HAM/TSP	HTLV-associated Myopathy, Mielopatia associada ao HTLV
HG	Hospital Geral
HIV	<i>Human immunodeficiency vírus</i> , vírus da imunodeficiência humana
HTLV	Vírus linfotrópico de células T humanas
INS	Instituto Nacional de Saúde
INSIDA	Inquérito Nacional
IPEC	Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas
MISAU	Ministério da Saúde, Moçambique
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i> , reação de polimerase em cadeia
PBMC	Peripheral blood mononuclear cell
PTV	Prevenção da Transmissão Vertical
RNA	Ribonucleic Acid, Acido Ribonucleico
SIDA	Síndrome de Imunodeficiência Adquirida
TARV	Terapia antirretroviral
UNAIDS	United Nations Programme on Acquired Immune Deficiency Syndrome
UNICEF	The United Nations Children's Fund
Uss	Unidades Sanitárias
WB	Western Blot
WHO	World Health Organization

I. INTRODUÇÃO

A coinfeção pelo vírus de imunodeficiência humana (HIV) e pelo vírus linfotrófico T humano do tipo I (HTLV-I) vem se tornando, de forma emergente nos últimos anos, num problema de saúde pública. O número de pessoas coinfectadas na América do Sul e em África tem estado a aumentar significativamente (Casoli et al, 2007).

O efeito da coinfeção HIV/HTLV-I na patogênese do HIV-I ainda é controverso uma vez que alguns factores, produzidos por células infectadas pelo HTLV-I, aumentam e outros diminuem a infecção pelo HIV. Sabe-se que nestes pacientes citocinas provocam uma “*upregulation*” na expressão do HIV estimulando a infecção (Casoli et al, 2007).

A introdução do tratamento antiretroviral (TARV) em grande escala no mundo reduziu de forma dramática a morbidade e a mortalidade causadas pela infecção pelo HIV mas elevou o número de síndromes inflamatórias. Ainda que o TARV seja eficaz no controle da infecção pelo HIV, o seu impacto na infecção pelo HTLV-I é insignificante (UNAIDS, 2011; Casoli et al, 2007).

Estudos epidemiológicos sobre a influência do HTLV-I na infecção pelo HIV e consequente progressão para o síndrome de imunodeficiência adquirida (SIDA) sugerem que o HTLV-I promove a replicação do HIV, acelera a progressão para o SIDA e, os indivíduos adultos coinfectados cursam com uma linfocitose T CD4+ (Casoli et al, 2007; Gudo et al, 2009).

Dados disponíveis mostram que o HTLV-I é prevalente na população moçambicana. Dois estudos realizados usando amostras do Banco de Sangue do Hospital Central de Maputo, o maior e mais requisitado hospital de Moçambique, reportaram uma prevalência de HTLV-I de 1,14% (Cunha et al, 2007) e 0.89% (Gudo et al, 2009).

Um outro estudo realizado na população geral em várias unidades sanitárias de Moçambique reportou uma prevalência média da infecção pelo HTLV-I de 2,3% (Caterino-de-Araujo et al, 2010). Uma prevalência de 4,5% (IC95%, 3 - 6%) na população adulta infetada pelo HIV foi descrita por Bhatt et al, 2009.

Serão estes factos indicativos de que o HTLV-I é também prevalente em crianças moçambicanas infetadas pelo HIV? Até este momento, não há evidência científica, em Moçambique, mostrando a circulação do HTLV-I em crianças.

Alguns estudos indicam que as normas atuais para a monitorização da infeção por HIV não são adequadas para casos de co-infeção HIV/HTLV-I (Schechter et al, 1994; Brites et al, 1998). Em indivíduos adultos com coinfecção HIV/HTLV-I observa-se uma proliferação anómala de células T CD4+ (Schechter et al, 1994). Esta proliferação anormal das células T CD4+ é atribuída ao HTLV-I (Beilke et al, 2004).

Tendo em conta que em adultos o HTLV-I leva a disfunção das células T, é importante esclarecer se este facto é replicado também na idade pediátrica, pois isto pode ter repercussões nos algoritmos de seguimento de crianças infetadas pelo HIV. No entanto, a literatura internacional dispõe de pouca informação sobre a dinâmica das células T CD4+ em crianças coinfectadas por HIV/HTLV-I. Adicionalmente, pouco ou nada foi descrito sobre o impacto da modulação imune induzida pelo HTLV-I na progressão da infeção por HIV na criança.

Um estudo realizado recentemente no Brasil mostrou que crianças coinfectadas pelo HIV/HTLV-I tinham maior probabilidade de apresentar sinais e sintomas de doença relacionada ao HIV quando comparadas com crianças mono-infectadas, ainda que apresentassem maiores valores de células T CD4+. O mesmo estudo mostrou ainda que a proporção de mortes foi maior nas crianças coinfectadas e que as mesmas tinham um menor tempo de vida (Pedroso et al, 2011).

Assim sendo, com o presente estudo pretendíamos gerar conhecimento atual sobre a prevalência da infecção pelo HTLV-1 em crianças moçambicanas infetadas pelo HIV e obter respostas sobre alguns aspectos da patogénese da coinfeção HIV/HTLV-I nessa população.

II. REVISÃO DA LITERATURA

II.1. O HTLV

II.1.1 Biologia do HTLV

O vírus linfotrófico T humano do tipo I (HTLV-I) foi identificado na década de 1980 tornando-se assim no primeiro retrovírus oncogênico humano conhecido (Poiesz et al,1980). É, portanto, considerado o agente etiológico de um grupo de doenças hematológicas conhecidas como Linfoma/Leucemia das células T do Adulto (ATL) e de um grupo de doenças neurológicas conhecidas como complexo neurológico do HTLV-I de entre as quais, a mais frequente é a Mielopatia Associada ao HTLV/Paraparesia Espástica Tropical (HAM/TSP) (Araújo et al, 2009). É classificado como retrovírus do tipo C da família *Retroviridae*, subfamília *Oncovirinae*, gênero *Deltaretrovirus* (Ohtsuki et al, 1982).

Sua morfologia é similar à de outros retrovírus. É um retrovírus com cerca 100 a 140 nanômetros (nm) de diâmetro, esférico ou pleomórfico, que tem no seu genoma 9032 pares de bases arranjados em duas fitas de RNA de polaridade positiva que contém os genes *GAG*, *POL* e *ENV* flanqueados pelos terminais de longa repetição nucleotídica (*long terminal repeat*, LTR), essenciais para a integração do genoma viral, além de conter regiões de início da transcrição, regiões promotoras virais, bem como outros elementos regulatórios do ciclo replicativo viral (Seiki et al, 1983; Franchini, 1995).

O gene *GAG* codifica as proteínas do capsídeo viral, a região *GAG-POL* codifica a protease, o gene *POL* codifica a transcriptase reversa e integra-se e o gene *ENV* codifica as proteínas do envelope viral (Seiki et al, 1983). O gene *pX*, situado próximo à extremidade 3' que codifica para as proteínas transactivadoras e reguladoras *Tax* e *Rex*, distingue o HTLV-I dos outros retrovírus. A proteína *Tax* é importante para a imunopatologia das doenças associadas ao HTLV-I, para a ativação da transcrição viral e para a

transativação de um número de genes humanos (Yoshida. 1993; Hiscott et al, 1995; Munoz & Israel, 1995; Yoshida et al, 1995; Suzuki et al, 1996).

A proteína reguladora *Rex*, codificada na região *pX* do genoma viral, é uma fosfoproteína nuclear que atua como um regulador pós-transcricional do HTLV-I, controlando o processamento do RNA viral e favorecendo o acúmulo de proteínas estruturais em detrimento de proteínas acessórias, levando à produção de partículas virais (Franchini. 1995; Ferreira et al, 1997).

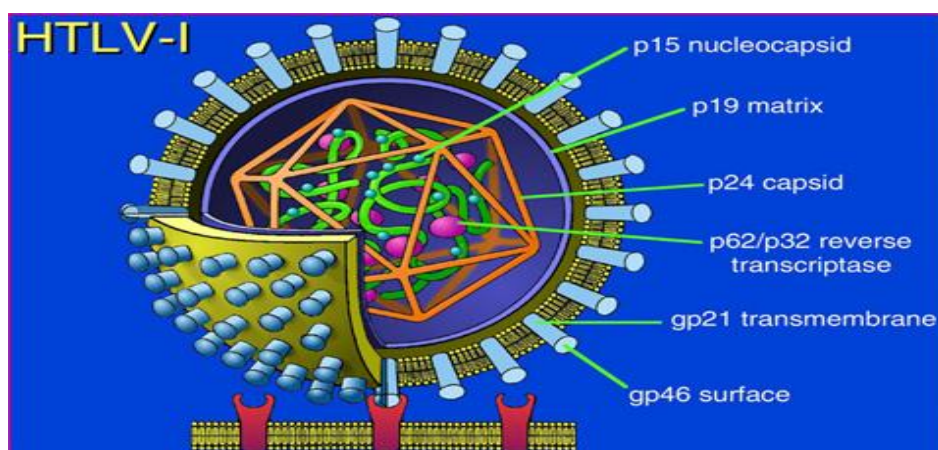


Figura 1. Estrutura da partícula viral do HTLV-I. É um vírus envelopado, com diâmetro de aproximadamente 100 a 140 nanômetros (nm) e morfologia esférica ou pleomórfica. O envelope contém a glicoproteína gp46 e sua porção transmembrana (gp21). O HTLV-I é um vírus com duas fitas simples de RNA (ssRNA). Na matriz viral, que comporta o capsídeo ou core viral, há proteínas virais como p19 e p24. As enzimas virais transcriptase reversa, protease e integrase também estão presentes no core (*Adaptado a partir de www.htlv.com.br/index.htm*).

As proteínas estruturais são respectivamente as do nucleocapsídeo (p15), do capsídeo (p24) e da matriz (p19), no core viral, enquanto as glicoproteínas gp21 e gp46 encontram-se no envelope (Fig.1).

O HTLV-I tem sido classificado em vários subtipos, baseado em diferenças na sequência do DNA proviral do gene ENV e da região LTR de isolados humanos. A classificação baseada na sequência da região LTR deve-se ao fato de esta região apresentar menor pressão seletiva (Gessain et al, 1996).

Controvérsias ligadas aos receptores celulares para o HTLV-I persistem. Algumas moléculas foram apontadas como receptores do HTLV-I, nomeadamente i) a molécula transportadora de glicose-1 (GLUT-1), que está distribuída de forma ubiqüitária na superfície celular (Manel et al, 2003; Swainson et al, 2005), ii), as proteoglicanas heparan-sulfato (HSPGs) também parecem participar da ligação e entrada do HTLV-I nas células (Jones et al, 2005), iii) mais recentemente, o receptor Neuropilina-1 (NP-1) foi sugerido como participante neste processo (Ghez et al, 2006; Lambert et al, 2009), iv)

Os receptores de quimiocinas CCL22, CCL17 e a molécula CCR4 também parecem estar envolvidos na infecção, visto que células IFN- γ ⁺CCR4⁺CD4⁺CD25⁺ encontram-se aumentadas e são o principal reservatório viral em pacientes com HAM/TSP (Yamano et al, 2009). O HTLV-I tem um tropismo especial pelos linfócitos CD4⁺ (Pedroso et al, 2011). Para que ocorra a infecção pelo HTLV-I é preciso que haja interação entre o envelope viral e o receptor celular e, posteriormente, fusão da partícula viral à membrana da célula-alvo (Overbaugh et al, 2001), momento no qual o conteúdo viral é libertado no citoplasma celular.

O HTLV-I apresenta baixa variabilidade na sequência intra e inter indivíduos (Gessain et al, 1992; Gessain et al, 1996). Esse aparente paradoxo foi atribuído à expansão clonal dos linfócitos infectados pelo HTLV-I (Wattel et al, 1995; Tanaka et al, 2005). A replicação do provírus ocorre principalmente por expansão clonal dos linfócitos infectados, mais do que pela produção de novos virions (Wattel et al, 1995; Tanaka et al, 2005).

II.1.2 Epidemiologia da infecção pelo HTLV-I

A infecção pelo HTLV-I é endêmica em muitas regiões do globo. As regiões mais destacadas são o Sudoeste do Japão, o Caribe, os Estados Unidos, a América do Sul e algumas regiões de África (Benttecourt et al, 2006). Dados disponíveis mostram que as taxas de seroprevalência diferem quando se tem em conta a localização geográfica, a população estudada e comportamentos

de risco individuais. De um modo geral, as taxas de seroprevalência relativamente mais altas são encontradas no sudoeste do Japão (Proietti et al, 2005).

Sendo uma infecção endêmica amplamente distribuída, estima-se que o número de pessoas infectadas pelo HTLV-I no mundo esteja entre 10 e 20 milhões. Em algumas áreas do globo, como no Japão, no Caribe, na América do Sul e na África Subsaariana, o número de pessoas infectadas atinge 1% da população (Araújo et al, 2009).

Altas taxas de seroprevalência, como 37%, foram reportadas em populações selecionadas no sudoeste do Japão (Yamaguchi, 1994; Muller et al, 1996) em contraste com as baixas taxas em outras regiões (El-ghazzawi et al, 1987; van den Hoek et al, 1991; Courouce et al, 1993; Houston et al, 1994; Steele et al, 1994). O motivo pelo qual algumas populações apresentam índices de seroprevalência mais altos do que outras ainda é desconhecido (Cooper et al, 2009).

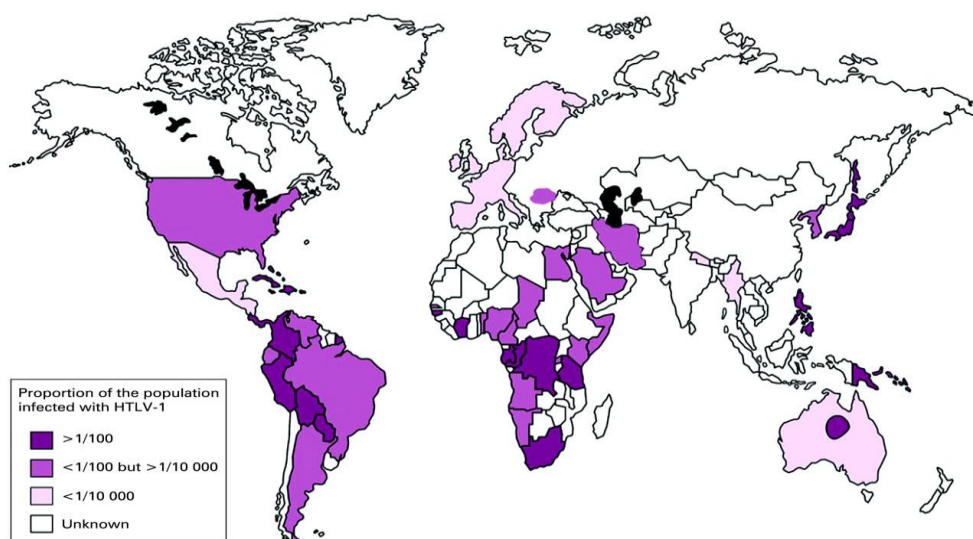


Figura 2. Distribuição e frequência de casos HTLV-I na população mundial, por região geográfica (Cooper et al, 2009).

Na infância, a seropositividade para o HTLV-I é muito baixa e aumenta a partir da adolescência e início da idade adulta (Carneiro-Proietti et al, 2002). Um

estudo realizado na Costa do Marfim, no qual participaram 3.177 voluntários, reportou uma prevalência média de HTLV-I de 3,5%. O mesmo estudo descreveu uma prevalência, na população geral adulta, de 1,8% (Verdier et al, 1989).

Estudos realizados em Moçambique, usando amostras do Banco de Sangue do Hospital Central de Maputo, mostraram uma prevalência do HTLV-I de 1,14% (Cunha et al, 2007) e 0,89% (Gudo et al, 2009) respectivamente. Recentemente, um estudo realizado na população geral em Moçambique relatou uma seroprevalência de HTLV-I nas regiões norte, centro e sul do País, de 2,4%, 3,9% e 0,9%, respetivamente (Caterino-de-Araujo et al, 2010).

Em alguns países de África a frequência do HTLV-I em indivíduos infectados pelo HIV-I ultrapassou os 10%. Estudo realizado no Ghana reportou uma prevalência de HTLV-I em indivíduos infectados pelo HIV-I, de 10,1% (Adjei et al, 2003). Vários outros estudos mostraram que a coinfecção HTLV-I/HIV-I circula na África Subsaariana (Getchell et al, 1987; Constantine et al, 1992; Naucler et al, 1992; Olaleye et al, 1995; Holmgren et al, 2003; Apea-Kubi et al, 2006). Em Moçambique, estudo em pacientes adultos com coinfecção HTLV-I/HIV-I mostrou uma prevalência de 4,5% (Bhatt et al, 2009).

II.1.3 Transmissão da infecção pelo HTLV-I

O HTLV-I existe como provírus, isto é, genoma viral incorporado ao DNA de linfócitos dos indivíduos infetados (Romanelli et al, 2010). A infecção cursa com baixos níveis plasmáticos do vírus livre, tornando a presença de células infectadas indispensável para a transmissão da mesma.

A transmissão do HTLV-I ocorre principalmente por três vias, nomeadamente: i) vertical de mãe para filho, principalmente pela amamentação; ii) pela via sexual, principalmente de homem para mulher; iii) por via parenteral, durante transfusões sanguíneas e de outros hemoderivados bem como pelo uso de

agulhas e seringas infectadas (Bittencourt et al, 2006, 2005; Manns et al, 1999).

II.1.4 Diagnóstico do HTLV-I

O diagnóstico rotineiro da infecção causada pelo HTLV-I baseia-se na detecção serológica de anticorpos específicos para componentes antigénicos das diferentes porções do vírus (*core* e envelope). Uma vez que os métodos de triagem sorológica para HTLV, os ensaios imunoenzimáticos, apresentam frequentes reações falso-positivas (Caterino-de-Araujo et al, 1998; Poiesz et al, 2000; Zehender et al, 1997), o imunodiagnóstico dessa retrovirose depende de confirmação da soro-reatividade, através de *Western blot* ou da reação em cadeia da polimerase (PCR). Na fase de confirmação, utiliza-se, geralmente, um teste sorológico, o *Western blot* (WB). Em alguns casos, a confirmação não é possível através do *Western Blot* (Ando et al, 2003). Nestes casos, utilizam-se os testes moleculares, que detetam a presença de ácidos nucleicos ou ribonucleicos do vírus, através da técnica de reação em cadeia de polimerase (PCR). Este teste não depende da produção de anticorpos contra o vírus, uma vez que deteta diretamente o material genético do mesmo (DNA proviral) fazendo da PCR o método de escolha para avaliação da transmissão neonatal. A PCR é um método capaz de esclarecer estados sorológicos indeterminados, pois possui alta sensibilidade e especificidade.

II.1.5 Aspectos clínicos da infecção pelo HTLV-I

A história natural da infecção pelo HTLV-I demanda mais estudos, uma vez que o tempo entre a infecção e o início dos sintomas é longo, tornando a manifestação de doenças relacionadas ao HTLV-I tardia, ocorrendo principalmente em adultos (Grant et al, 2002).

Assim, a maior parte das pessoas infectadas pelo HTLV-I mantem-se assintomática por longos períodos, desconhecendo o seu estado serológico, representando por isso um grande perigo para a saúde pública. O risco que

estas pessoas têm de desenvolver doença clinicamente significativa ao longo de suas vidas é um pouco inferior a 5% (Yamaguchi et al, 2002; Proietti et al, 2005).

O Vírus Linfotrófico T Humano do Tipo I (HTLV-I) causa principalmente distúrbios crônicos, que podem ser hematológicos, conhecidos como Leucemia/Linfoma das células T do Adulto (ATL) e neurológicos debilitantes, conhecidos como Mielopatia Associada ao HTLV /Paraparesia Espástica Tropical (HAM/TSP), caracterizada por dano neuroinflamatório que atinge nervos periféricos e medula espinhal, levando a um quadro de paralisia periférica (Manns et al, 1991; Proietti et al, 2005).

O vírus é ainda associado á uma doença ocular inflamatória conhecida como uveíte associada ao HTLV-I. Alguns autores (Lagrenade et al, 1990; Walshe et al, 1967) sugerem também que este vírus é o agente causal de várias outras doenças inflamatórias, entre as quais, destacamos a Síndrome de Sjogrens, algumas artropatías, bem como a polimiosite.

As manifestações clínicas do HTLV-I ocorrem principalmente na população adulta. Foi descrito que as manifestações nesta faixa etária cursam com sinais e sintomas subclínicos, tais como linfadenopatia, aumento do número de linfócitos anormais no sangue, linfocitose, linfocitopenia, anemia e diminuição dos eosinófilos (Lagrenade et al, 1990; Walshe et al, 1967).

Em relação à idade pediátrica, existe pouca informação, mas sabe-se que o HTLV-I tem sido associado a doenças dermatológicas como a dermatite infecciosa e o eczema exsudativo. Os primeiros sintomas aparecem por volta dos 3 anos de idade e regridem durante a puberdade. A morbidade associada ao HTLV-I, em crianças, não está muito bem descrita (Lagrenade et al, 1990).

II.2. O HIV

II.2.1 Biologia do HIV

O vírus de imunodeficiência humana (HIV) é o agente causador do *Síndrome de Imunodeficiência Adquirida* (SIDA), uma doença que se manifesta de forma crônica e progressiva, causando imunodepressão e depleção acentuada de linfócitos T CD4⁺ (Levy. 2009).

Classificado como um retrovírus que pertence à família *retroviridae*, gênero *lentivirus*, o HIV é um vírus RNA de dupla fita negativa cujo genoma possui perto de 9200 pares de base. É um vírus envelopado com forma esférica de cerca de 100 nm de diâmetro, com um genoma composto pelos genes GAG POL, ENV e pelas regiões terminais de repetição longa, LTR. Além destes, possui ainda 2 genes reguladores, TAT e REV e 4 genes acessórios, VIF, VPU, VPR e NEF (Thomson et al, 2002). O vírus apresenta tropismo para as células T CD4⁺ (Levy. 2009), pelo fato de a molécula CD4 ser o receptor para a glicoproteína viral gp120.

À semelhança de outros, o HIV precisa da maquinaria celular para a sua replicação. Após a entrada do vírus no citoplasma da célula, o RNA do vírus é reversamente transcrito em DNA, com o auxílio da enzima viral transcriptase reversa, permitindo a sua integração no DNA da célula infetada. Uma vez integrado, novas moléculas de RNA viral e proteínas virais são produzidas usando a maquinaria celular, gerando assim novas partículas virais que são libertadas por brotamento a partir da membrana plasmática da célula infetada.

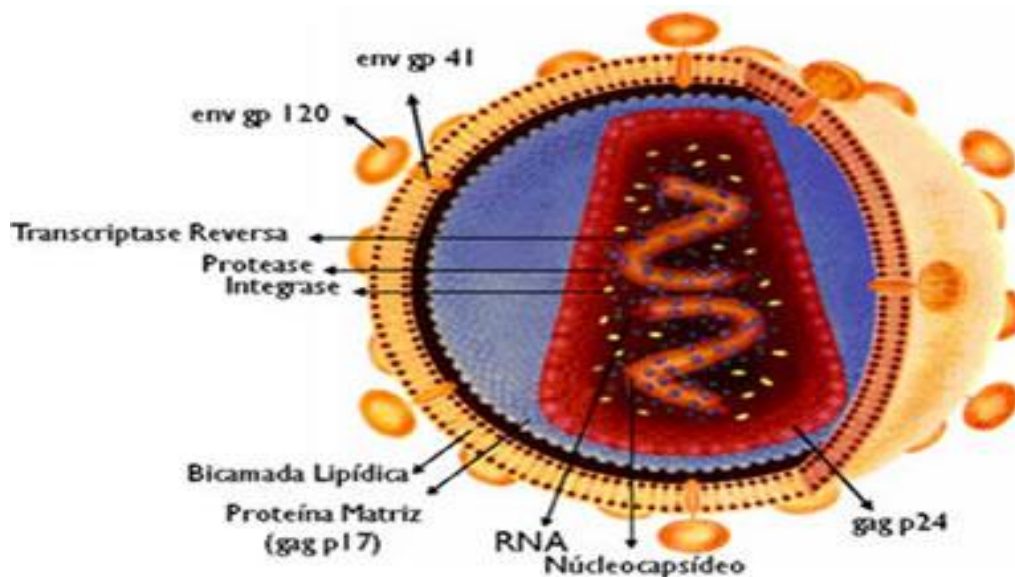


Figura 3. Estrutura do HIV (BISMARA, 2006).

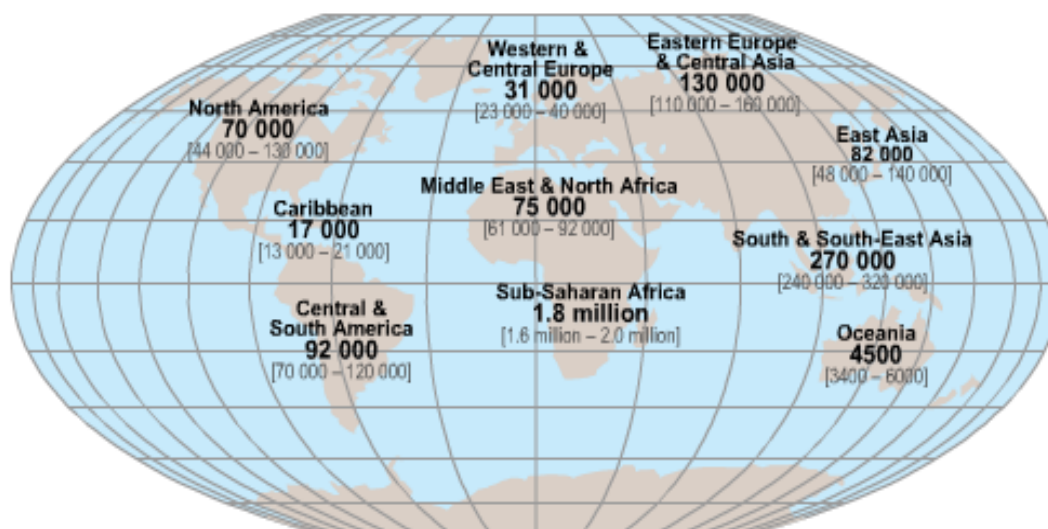
II.2.2 Epidemiologia da infecção pelo HIV

Após a sua identificação na década 1980 a epidemia da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) e da síndrome de imunodeficiência adquirida (SIDA) tornou-se num fenómeno global, dinâmico e instável. Rapidamente, a SIDA destacou-se entre as doenças infecciosas emergentes, não só pela magnitude mas também pela extensão dos danos causados a nível mundial. Mais do que uma epidemia, a SIDA apresenta-se como um verdadeiro mosaico de subepidemias geograficamente caracterizadas.

A infecção pelo vírus de imunodeficiência humana (HIV) é classificada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como pandemia. Acredita-se que desde a sua descoberta, na década de 1980, o HIV tenha causado cerca de 30 milhões de mortes (UNAIDS, 2011).

No final de 2010, cerca de 34 milhões de pessoas (31.600.000 – 35.200.000) viviam com o HIV em todo o mundo, sendo aproximadamente 16,8 milhões mulheres e 3,4 milhões crianças menores de 15 anos. Havia ainda 2,7 milhões [2.400.000 – 2.900.000] de novas infecções, incluindo 390.000 [340.000 – 450.000] entre as crianças menores de 15 anos (UNAIDS, 2011).

Estimativa de adultos e crianças vivendo com HIV em 2009



Total: 33.3 (31.4 – 35.8) milhões.

Figura 4. Estimativa da distribuição mundial da infecção por HIV. As África Subsahariana detêm a maior parte dos casos de infecção pelo HIV no mundo (UNAIDS, 2011).

No ano de 2009, cerca de 2,6 milhões [2.300.000 - 2.800.000 de pessoas] tornaram-se infetadas pelo HIV. Este número é quase um quinto (19%) menor do que os 3,1 milhões [2.900.000 – 3.400.000] de pessoas infetadas em 1999, e mais do que um quinto (21%) a menos de cerca de 3,2 milhões [3.000.000 - 3.500.000] estimados em 1997, ano em que as novas infecções atingiram o pico. Em 33 países, a incidência do HIV caiu mais de 25% entre 2001 e 2009, entre eles 22 países estão na África sub-saariana (UNAIDS, 2011).

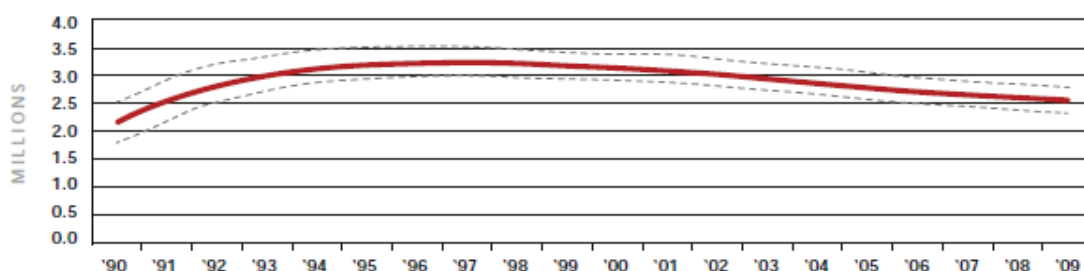


Figura 5. Número de novas infecções por HIV no ano 2009 (UNAIDS, 2011).

Com o incremento do acesso aos serviços para prevenir a transmissão do HIV de mãe para filho (PTV), o número de crianças que nascem com o HIV diminuiu. Ainda que se tenham registado progressos na expansão do acesso à terapia anti-retroviral (TARV) nos últimos anos e no aconselhamento em HIV pediátrico, a componente da testagem e início do tratamento tem evoluído de forma mais lenta. Em 2009, cerca de 2,5 milhões de crianças menores de quatro anos de idade viviam com HIV. Destes, a grande maioria, 2,3 milhões, vivia na África subsahariana. Das cerca de 1.276.000 crianças menores de 15 anos de idade que precisavam iniciar o TARV, apenas cerca de 28% iniciaram o tratamento (WHO, 2011).

No ano de 2010, cerca de 390 mil (340.000 – 450.000) crianças foram infetadas pelo HIV, elevando para 3,4 milhões (3.000.000 – 3.800.000) o número total de crianças menores de 15 anos vivendo com HIV. Mais de 90% dessas crianças vivem na África subsahariana (WHO, 2011).



Figura 6. Estimativa da distribuição mundial da infecção por HIV em crianças menores de 15 anos no ano 2010. A África Subsahariana detém a maior parte dos casos de HIV pediátrico no mundo (adaptado - WHO, UNAIDS and UNICEF, 2011).

A distribuição da pandemia não é homogênea nas diferentes regiões do mundo, sendo alguns países mais afetados do que outros. Mesmo dentro de cada país, há variações nos níveis de infecção entre diferentes áreas. O

número de pessoas infectadas pelo HIV continua a aumentar em muitas partes do mundo, apesar da implementação de estratégias de prevenção, sendo a África Subsaariana, de longe, a região do mundo mais afetada, com uma estimativa 22,9 milhões de casos no final de 2010 (UNAIDS 2011). Na África subsaariana, onde a maioria das novas infecções pelo HIV continuam a ocorrer, cerca de 1,8 milhões [1.600.000 - 2.000.000] de pessoas foram infectadas em 2009, número consideravelmente menor do que o estimado em 2001 (2.2 milhões [1.900.000 - 2.400.000]) (UNAIDS, 2011).

Em Moçambique, o primeiro caso de infecção por HIV foi identificado em 1986, em Cabo Delgado, uma província do norte do País. Desde então, vários outros casos de HIV foram diagnosticados em todo o País e estima-se que haja atualmente cerca de 1.500.000 pessoas infectadas. Dados do Inquérito Nacional sobre Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (MISAU, 2009) em Moçambique, mostram que a prevalência do HIV no país é de cerca de 1,5% (MISAU, 2009). O subtipo C representa o principal genótipo em Moçambique e África subsaariana, diferentemente do Ocidente, onde o principal genótipo é o B (Abreu et al, 2008).

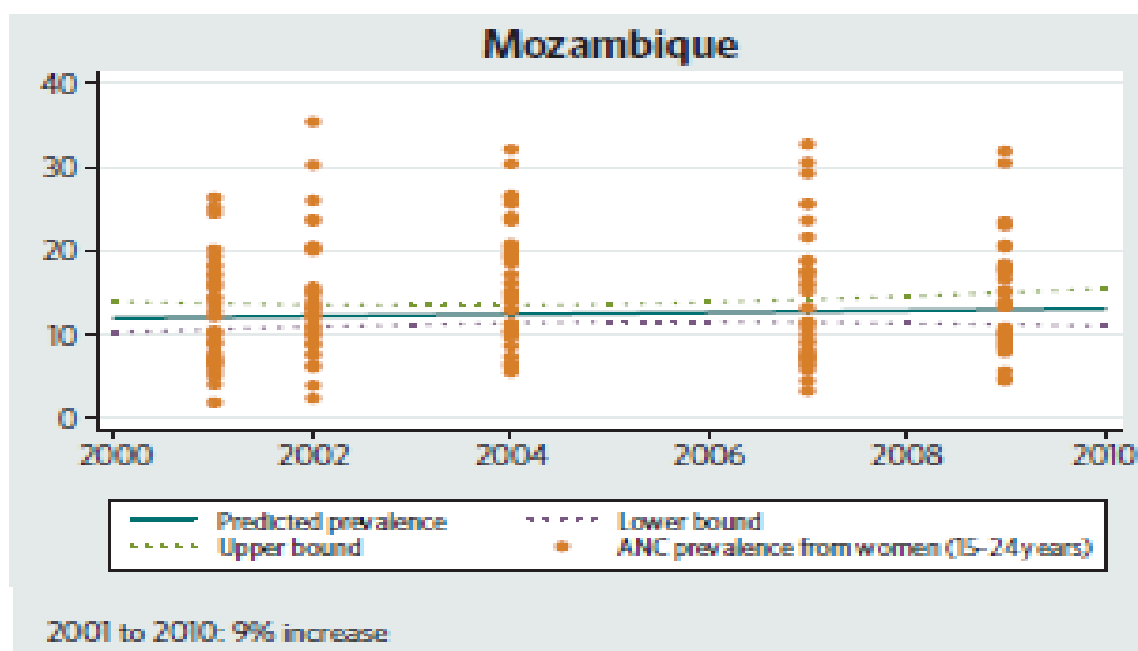


Figura 7. Prevalência da infecção pelo HIV em Moçambique 2000 – 2010 (Global HIV/AIDS Response – Progress Report 2011).

O INSIDA-2009 mostrou que em Moçambique a prevalência do HIV na idade pediátrica varia de acordo com o sub-grupo etário. Ainda segundo o mesmo estudo, a maior parte das crianças adquiriu a infeção pelo HIV através das suas mães (transmissão vertical), durante a gestação, o parto ou a amamentação. A prevalência do HIV diminui a medida que aumenta a idade das crianças (Figura. 8).

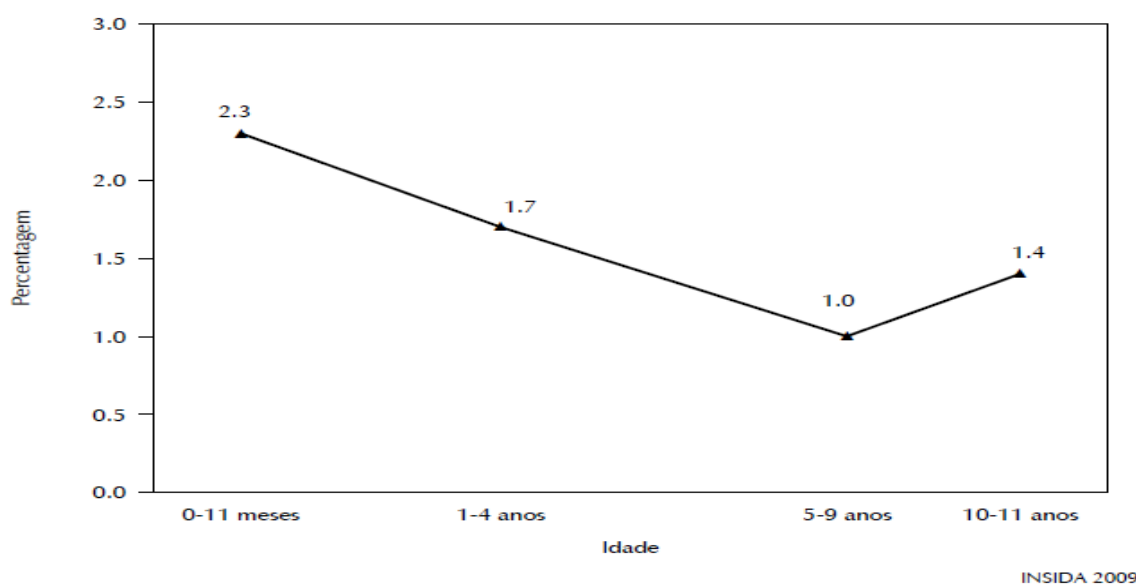


Figura 8. Prevalência da infeção por HIV em crianças moçambicanas com idades entre 0 - 11 anos (MISAU, 2009).

II.2.3 Transmissão da infecção pelo HIV

A transmissão do HIV, a semelhança do HTLV-I, ocorre principalmente por três vias, nomeadamente: i) vertical de mãe para filho; ii) pela via sexual; iii) por via parenteral, durante transfusões sanguíneas e de outros hemoderivados bem como pelo uso de agulhas e seringas infectadas (Jia et al, 2011; Shaw et al, 2012; De Cock et al, 2012).

II.2.4 Aspectos clínicos da infecção pelo HIV

Durante a sua progressão clínica, a infecção pelo HIV passa por alguns estágios conhecidos como i) infecção aguda, ii) fase assintomática ou de latência clínica e iii) fase da doença ou o SIDA propriamente dito.

A fase da infecção aguda sintomática, também conhecida como síndrome retroviral agudo ou infecção primária, ocorre em até 90% dos pacientes infectados (Bartlett et al, 2009; Cohen et al, 2011; Cohen et al, 2010; Chu et al, 2010). Nesta fase, quase não se realiza o diagnóstico pois o índice de suspeição é muito baixo. Em geral, o período entre a exposição e o aparecimento dos sintomas pode levar até um máximo de 30 dias. Durante esta fase, o paciente apresenta viremia elevada acompanhada de uma rápida diminuição dos linfócitos T CD4+, que posteriormente aumentam, mas não retornando aos níveis prévios à infecção, além de uma resposta imune vírus específica intensa. Observa-se ainda um aumento do número absoluto de linfócitos T CD8+ circulantes, refletindo uma resposta T citotóxica potente, com a inversão da relação CD4+/CD8+.

Basicamente, os sintomas aparecem durante o pico da viremia. As manifestações clínicas, autolimitadas, resumem-se muitas vezes a um quadro compatível com uma infecção viral rotineira, tais como febre, adenopatia, faringite, mialgia, artralgia, rash cutâneo maculopapular eritematoso, ulcerações muco-cutâneas envolvendo a mucosa oral, esôfago e genitália, cefaleia, fotofobia, hepatoesplenomegália, perda de peso, náuseas e vômitos. Normalmente, a fase aguda culmina com a estabilização da virémia em níveis variáveis (Bartlett et al, 2009; Cohen et al, 2011; Cohen et al, 2010; Chu et al, 2010).

Na fase assintomática ou de latência as manifestações clínicas são mínimas ou mesmo inexistentes. O paciente em regra está assintomático. Alguns pacientes apresentam linfadenopatia generalizada persistente mas não dolorosa. Na avaliação laboratorial, esta fase pode apresentar algumas alterações. Em geral

este é um período longo que pode durar de vários meses a anos (Ministério da Saúde, 2008).

A fase sintomática inicia de forma insidiosa por meio de sinais e sintomas inespecíficos e de intensidade variável mas cada vez mais frequentes, além de processos oportunistas de menor gravidade. De entre eles podemos destacar sudorese noturna, fadiga, emagrecimento e pancitopenia, bem como algumas situações clínicas como candidíase oral e vaginal, leucoplasia pilosa oral, gengivites, diarreia, herpes simples recorrente e herpes zoster.

Enquanto o paciente não iniciar com a terapia antiretroviral, os processos clínicos oportunistas vão se tornando cada vez mais frequentes e complicados, ou seja, o espectro da infecção pelo HIV torna-se evidente. As infecções oportunistas são provocadas por microrganismos que usualmente não são considerados patogênicos, ou seja, microrganismos que não são capazes de desencadear doença em pessoas sem comprometimento imunológico (Ministério da Saúde, 2008).

Entre as condições clínicas afetando as pessoas em estágio avançado da infecção pelo HIV, causando sintomas que vão desde uma tosse inespecífica até o coma, destacamos a tuberculose, o sarcoma de Kaposi, pneumocistose, infecções fúngicas recorrentes, diarreia crônica e síndromes neurológicas.

As crianças infectadas pelo HIV são comumente acometidas por infecções bacterianas comuns a toda criança, como por exemplo conjuntivite, infecções de ouvido e amigdalite. Estas infecções, numa fase avançada da infecção pelo HIV, tem uma aparência recorrente e severa (Ministério da Saúde, 2008).

A progressão clínica para o SIDA é frequentemente determinada pelo aumento da carga viral do HIV bem como pela redução progressiva e contínua do número de células T CD4⁺ resultando em imunossupressão grave (Pantaleo et al, 1995).

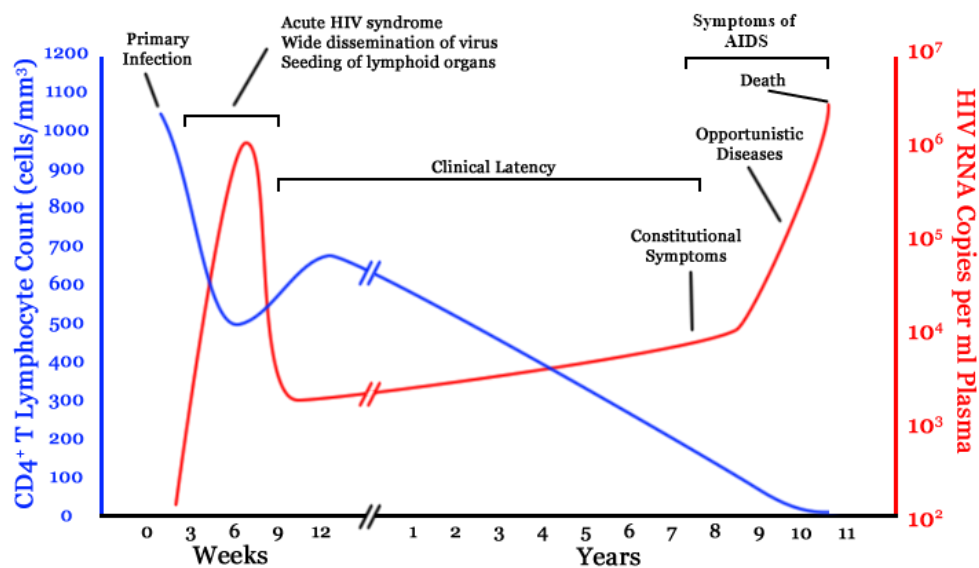


Figura 9. História natural da infecção pelo HIV. No início da infecção predominam sintomas que mimetizam uma simples infecção viral. Neste período, temos títulos elevados do vírus no sangue. Posteriormente, uma resposta imune adaptativa é montada para controlar a doença aguda e restaurar os níveis dos linfócitos T CD4+, sem no entanto eliminar o vírus. A progressão para o SIDA é caracterizada pelo surgimento recorrente de infecções oportunistas resultantes da queda progressiva do número de linfócitos T CD4+ e do aumento da carga viral (adaptado - Ministério da Saúde, 2008).

Alguns mecanismos foram descritos como sendo responsáveis pela imunossupressão, entre eles a redução progressiva do número de células T CD4⁺ e uma desregulação funcional do sistema imune. A morte linfocitária e a disfunção imune costumam ser resultados da ativação imunológica. Está descrita uma associação entre a ativação imune e a progressão para o SIDA (Lawn et al, 2001). A contagem de células T CD4⁺ é utilizada como marcador clínico e laboratorial para monitoramento da infecção pelo HIV bem como da eficácia do tratamento anti-retroviral.

II.3 COINFECÇÃO HIV / HTLV- I

II.3.1 Epidemiologia da coinfeção HIV / HTLV- I

A coinfeção pelo vírus de imunodeficiência humana (HIV) e pelo vírus linfotrófico T humano do tipo I (HTLV-I), vem se tornando de forma emergente, nos últimos anos, num problema de saúde pública. O número de pessoas coinfectadas na América do Sul e em África tem estado a aumentar (Casoli et al, 2007).

Vários estudos mostraram que o vírus linfotrófico T humano do tipo I (HTLV-I) e o vírus de imunodeficiência humana (HIV), ambos retrovírus patogênicos para seres humanos, possuem algumas características comuns, como a via de transmissão, o tropismo para as células T CD4+ e a distribuição geográfica (Weiss et al, 1987; Khabbaz et al, 1992; Wiktor et al, 1992) daí que a coinfeção HTLV-I/HIV-I seja frequente nas áreas onde ambos vírus são prevalentes (Moreira et al, 1993).

A coinfeção VIH/HTLV-I é um achado comum na América do Sul, Caraíbas, Japão e África, podendo a sua prevalência variar de 4% a 16% (Casseb et al, 2007). Em algumas regiões de África, foram descritas prevalências superiores a 10%. Num estudo realizado no Ghana, foi descrita uma prevalência de HTLV-I de cerca de 10,1% (Adjei et al, 2003).

Em Moçambique, uma prevalência da coinfeção HIV/HTLV-I de cerca de 2,3% foi descrita num estudo realizado em mulheres que frequentavam ambulatórios de doenças sexualmente transmissíveis (Melo et al, 2000). Recentemente, foi descrita em Maputo uma prevalência da coinfeção de 4,5% em adultos atendidos na consulta de HIV (Bhatt et al, 2009).

A maior parte dos estudos sobre a coinfeção HIV/HTLV-I foram direccionados à população adulta. Informação disponível indica que praticamente nenhum estudo relacionado a coinfeção HIV/HTLV-I foi realizado em crianças.

II.3.2 Coinfecção HIV/HTLV-I e progressão para o SIDA

O efeito da coinfecção HIV/HTLV-I na patogênese do HIV ainda é controverso, uma vez que alguns factores produzidos por células infectadas pelo HTLV-I aumentam e outros fragilizam o curso da infecção pelo HIV. Alguns estudos reportaram que o HTLV-I modula o sistema imune e pode causar modificação importante nos parâmetros imunológicos e virológicos nos pacientes com HIV (Nadler et al, 1996; Bartholomew et al, 1987; Harrison et al, 1997; Harrison et al, 1998; Brites et al, 2005; Casoli et al, 2007).

Ainda que para definição de caso de SIDA em adultos seja necessário contagem de células T CD4+ menores do que 200 cel/mm³ ou a presença de doença oportunista, foi demonstrado que pacientes com coinfecção HIV/HTLV-I apresentam elevados níveis de células T CD4+, o que pode mascarar o diagnóstico de progressão da imunodeficiência (Casseb et al, 2007; Marcus T.T. Silva et al 2012). Adicionalmente, enquanto o HIV promove uma imunodeficiência severa ao longo do tempo, a infecção pelo HTLV-I caracteriza-se por uma forte resposta imune ao vírus, resposta esta que pode causar uma doença neurológica progressiva (Gessain et al, 1985; Osame et al, 1986).

Sabe-se também que nestes pacientes citocinas provocam uma “upregulation” na expressão do HIV promovendo a infecção (Casoli et al, 2007). A introdução do tratamento antirretroviral (TARV) em grande escala no mundo reduziu de forma dramática a morbidade e a mortalidade causadas pela infecção pelo HIV, mas elevou o número de síndromes inflamatórias. Ainda que o TARV seja eficaz no controle da infecção pelo HIV, o seu impacto na infecção pelo HTLV-I é insignificante (UNAIDS, 2011; Casoli et al, 2007).

Estudos epidemiológicos sobre a influencia do HTLV-I na infecção pelo HIV e consequente progressão para a síndrome de imunodeficiência adquirida (SIDA), sugerem que o HTLV-I promove a replicação do HIV, acelera a progressão para o SIDA e os indivíduos adultos coinfectados cursam com uma linfocitose T CD4+ (Casoli et al, 2007; Gudo et al, 2009). Por outro lado,

enquanto o HIV é altamente citopático e causa doença em quase todos indivíduos infetados, o HTLV-I induz uma proliferação linfocitária e causa doença numa minoria das pessoas infetadas (Pedroso et al, 2011).

Um estudo realizado recentemente no Brasil reportou que crianças coinfectadas pelo HIV/HTLV-I tinham maior probabilidade de apresentar sinais e sintomas da doença quando comparadas com crianças mono infectadas ainda que apresentassem maiores valores de células T CD4+. O mesmo estudo mostrou ainda que a proporção de mortes foi maior nas crianças coinfectadas e que as mesmas tinham um menor tempo de vida (Pedroso et al, 2011).

O facto de a maior parte dos médicos que cuidam de pacientes infetados pelo HIV não estar familiarizada com a infeção pelo HTLV-I e vice-versa e também de os pediatras estarem desatentos aos possíveis efeitos da infeção pelo HTLV-I na criança, bem como a coinfeção HIV/HTLV-I ser prevalente em muitas áreas geográficas do mundo e em especial da África Subsaariana (Taylor et al, 1996; Melbye et al, 1998) e de os indivíduos coinfectados apresentarem contagens elevadas de células T CD4⁺ independentemente da sua progressão para o SIDA, pode mascarar a imunossupressão causada pelo HIV e induzir a tomada de decisões clínicas e terapêuticas inapropriadas, no que diz respeito ao início da terapia antiretroviral e profilaxia para infeções oportunistas (Schechter et al, 1994; Beilke et al, 2004).

O verdadeiro impacto da coinfeção HIV-I/HTLV-I é controverso. Ainda não há evidências sólidas de que ela pode afetar a história natural das duas infeções.

III. OBJETIVOS

III. 1 Geral

- Determinar a seroprevalência da infecção por HTLV-I em crianças moçambicanas seropositivas para o HIV-1/2, atendidas em Unidades Sanitárias da Cidade de Maputo.

III. 2 Específicos

- Analisar os fatores associados à prevalência da coinfeção HIV/HTLV-I nos pacientes coinfectados e comparar com os pacientes mono infectados.
- Descrever e analisar as características clínicas e laboratoriais em uma subpopulação do estudo.
- Descrever a carga proviral do HTLV-I nos pacientes coinfectados.

IV. MATERIAL E MÉTODOS

IV.1 Delineamento do estudo

Tratou-se de um estudo transversal, no qual foram convidados a participar, de forma consecutiva, todos os pacientes que se fizeram presentes à consulta de atendimento da criança com HIV nos centros em que a pesquisa foi realizada e que cumpriam todos os critérios de elegibilidade.

IV.2 Área do estudo

O estudo foi realizado em dois Centros de Saúde (CS) e um Hospital Geral (HG) que serve de referência para estes, respectivamente, Centro de Saúde Polana Caniço, Centro de Saúde 1º de Maio e o Hospital Geral de Mavalane, todos na área de saúde de Mavalane, na Cidade de Maputo.

A área de Saúde de Mavalane atende a uma população estimada em cerca de 541.935 habitantes, o que corresponde a cerca de 46% da população da Cidade de Maputo. É composta por 8 Centros de Saúde e 7 Postos de Saúde. Das unidades sanitárias referidas, 5 distam mais de 4 quilômetros do Hospital Geral de Mavalane. A escolha das referidas unidades sanitárias para a realização do estudo deveu-se ao facto de as mesmas cobrirem cerca de 64% do atendimento de casos de infeção pelo HIV na idade pediátrica, na Cidade de Maputo.

IV.3 População do estudo

A população do estudo consistiu em crianças com idades compreendidas entre os 2 meses e os 14 anos de idade, infectadas por HIV, atendidas nas unidades sanitárias acima mencionadas e que apresentassem os seguintes critérios de inclusão:

- Crianças com idade entre 2 meses e 14 anos;
- Crianças seropositivas para HIV;
- Crianças cujo tutor legal aceite que participem no estudo.

A inclusão no estudo foi voluntária e decorreu no período de Dezembro de 2010 a Agosto de 2011.

IV.4 Procedimentos clínicos do estudo

Numa primeira fase, a todos os voluntários foi aplicado o processo de consentimento informado, documentado por escrito. Dos pacientes que aceitaram participar do estudo e que cumpriam os critérios de inclusão foram coletados, nessa mesma ocasião, dados demográficos (idade e sexo), sobre a infeção pelo HIV (estadiamento clínico da OMS – Anexo 4) e amostra de sangue para realização de serologia para HTLV-I, hemograma completo e contagem de células T CD4+ e T CD8+.

Após a realização da serologia anti-HTLV-I, feita em bloco ao final da inclusão, foi selecionada dentre todos os voluntários uma sub-população na qual cada uma das crianças coinfectadas por HIV/HTLV-I foi pareada com duas crianças monoinfectadas por HIV, de acordo com estadiamento clínico do HIV (OMS), a idade e o sexo. Nessa subpopulação foi realizada uma segunda consulta durante a qual foram coletados dados epidemiológicos e clínicos mais detalhados (ver anexo 1, instrumento de coleta de dados). Nessa ocasião foi coletada amostra de sangue das crianças HTLV-I positivas para armazenamento e posterior medida de carga pró-viral desse vírus. O pareamento teve como objetivo controlar o efeito de confusão permitindo uma melhor observação de algumas variáveis bem como racionalizar os custos das análises laboratoriais e facilitar a logística de recolha de informação.

IV.5 Procedimentos laboratoriais do estudo

As amostras de sangue foram colhidas nas unidades sanitárias selecionadas para o estudo, após a realização de uma consulta médica em todas crianças que participaram do estudo. Foi colhido, de forma asséptica, um volume total de 5 ml de sangue da região cubital em tubo de vácuo contendo K3EDTA (Vacutainer, Becton Dickinson, San José, EUA). As amostras foram enviadas para o laboratório de imunologia do INS num intervalo de 6 horas após a colheita.

Uma vez no laboratório, foi feita uma alíquota de 200µl de sangue total que foi usada para a determinação imediata das sub-populações de linfócitos T CD4+ e T CD8+ e dos parâmetros hematológicos. O remanescente da amostra foi a centrifugação e separação do plasma em 1 alíquota de 500µl. Este foi conservado à -70° para que fosse posteriormente submetido ao teste imunoenzimático *ELISA* para rastreio de anticorpos anti-HTLV-I. O resto do plasma foi depositado em 2 frascos, conservados ainda no laboratório de serologia. Um terceiro frasco contendo o creme leucocitário foi enviado ao laboratório de Biologia Molecular para conservação à -70° e posterior processamento do PCR confirmativo do HTLV-I e envio a um laboratório do Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC) no Rio de Janeiro, onde foi determinada a Carga Proviral do HTLV-I. O transporte das amostras de Moçambique para o Brasil foi feito por uma empresa especializada para o efeito, garantindo a conservação das mesmas a uma temperatura de -70° até o destino.

Os exames laboratoriais, com exceção da medida de carga pró-viral do HTLV-I, foram realizados nos laboratórios de serologia e biologia molecular do Departamento de Imunologia do Instituto Nacional de Saúde (INS) em Maputo, que possui tecnologia e pessoal qualificado para executar todos os procedimentos.

IV.5.1 Diagnóstico de HIV-1/2

O diagnóstico da infecção por HIV-1/2 não fez parte dos procedimentos deste estudo, uma vez ter esse diagnóstico era critério de inclusão. Os voluntários foram recrutados em serviços de seguimento de crianças infetadas pelo vírus e o despiste de anticorpos anti-HIV-1/2 foi realizado nas Unidades Sanitárias onde os pacientes eram seguidos.

A testagem do HIV-1/2 em todos os voluntários para a pesquisa foi feita seguindo um algoritmo sequencial de testagem para o HIV, usado em Moçambique, que consiste em dois testes rápidos imunocromatográficos para a detecção de anticorpos anti-HIV-1/2. Primeiro, faz-se o rastreio com *Determine HIV-1/2* (Abbott Laboratories, Japão) e os casos reativos no teste inicial são confirmados pelo segundo teste - *Uni-Gold HIV* (Trinity Biotech, Irlanda), de acordo com as instruções dos fabricantes. Crianças menores de 18 meses são consideradas HIV seropositivas apenas se tiverem o teste *PCR-DNA* Positivo.

Os casos não reativos no teste *Determine* são classificados como negativos; os que são reativos em ambos testes são classificados como positivos para o HIV-1/2 e, finalmente, os que são reativos no *Determine* e não-reativos no *Uni-Gold* são classificados como sendo indeterminados.

IV.5.2 Diagnóstico de HTLV-1/2

O diagnóstico de HTLV-1/2 foi inicialmente feito por um teste imunoenzimático do tipo sandwich (MP Diagnostic HTLV-I/II ELISA 4.0, MP Biomedicals Ásia Pacific Pte Ltd, Singapura), segundo as instruções do fabricante. Os casos não reativos no teste ELISA foram classificados como negativos, enquanto os reativos foram submetidos a uma segunda testagem usando técnicas de biologia molecular (Nested/RT-PCR). Estes testes amplificam a região do gene *pX* para a proteína viral Tax. Os casos com a região *pX* detectável neste teste foram classificados como sendo positivos para HTLV-I e os não detectáveis foram classificados como indeterminados.

IV.5.3 Determinação dos parâmetros hematológicos

Os seguintes parâmetros hematológicos foram analisados: leucócitos totais, hemoglobina, hematócrito, plaquetas, linfócitos totais, monócitos e a concentração de hemoglobina corpuscular média. Os mesmos foram determinados usando um auto-analizador de hematologia (SYSMEX KX - 21N). Todas as amostras foram processadas dentro de um intervalo de tempo que não ultrapassou 6h após a sua colheita.

IV.5.4 Determinação das sub-populações de linfócitos T CD4+ e T CD8+

A determinação das sub-populações de células T/CD4+ e T/CD8+ foi feita por citometria de fluxo utilizando anticorpos monoclonais reagentes MultiTest CD3FITC/CD8PE/CD45PerCP/CD4APC (Becton Dickinson, EUA). Esta técnica utiliza uma plataforma única de lise e lavagem, um método de *immunophenotyping* e uma máquina FACSCalibur™ (Becton Dickinson, EUA), que usa o *software* automático Multiset™ para aquisição e análise de dados. Para determinar a contagem absoluta de leucócitos no sangue foram utilizados tubos TruCount™ (Becton Dickinson, EUA). Todas as amostras foram processadas dentro de um intervalo de tempo que não ultrapassou 6h após a sua colheita.

IV.5.5 Quantificação da carga proviral para HTLV-I em PBMC

A quantificação da carga proviral de HTLV foi realizada de acordo com a metodologia do Laboratório de Pesquisa em Patogenia Viral (IPEC-FIOCRUZ), utilizando termociclador para PCR em tempo real SmartCycler II (Cepheid) e o sistema de detecção TaqMan (Applied Biosystems). Os testes foram realizados em duplicata, sendo que a quantidade de células em cada reação foi determinada pela detecção de cópias do gene β -globina humana através de uma curva-padrão estabelecida com concentrações conhecidas de DNA humano (Promega). Da mesma forma, a quantidade de células infectadas em cada reação foi determinada a partir de uma curva-padrão gerada com a

amplificação de um fragmento de 159pb da região codificante para Tax de HTLV-1/2, utilizando os iniciadores SK43 e SK44, a partir da linhagem celular TARL-2, que contem uma única cópia do provírus de HTLV-1.

O limite de detecção foi de 1 célula infectada em 10^4 células. As reações para ambos os alvos foram realizadas em um volume total de 25 μ l, utilizando o Universal master mix (Applied Biosystems). Na PCR para β -globina foram utilizados 50pmoles dos iniciadores β -glob-F (5' GCAAGAAAGTGCTCGGTGC-3') e β -glob-R (5' TCACTCAGTGTGGCAAAGGTG-3') e 2,5pmoles de sonda (5'-FAM TAGTGATGGCC TGGCTCACCTGGAC-3'-TAMRA). A PCR para o gene *tax* foi realizada com 15pmoles dos iniciadores SK43 (5'-CGGATACCCAGTCTACGTGT-3') e SK44 (5'-GAGCCGATAACGCGTCCATCG-3') e 5pmoles da sonda SK45 (5' FAM-ACGCCCTACTGGCCACCTGTC-3'-TAMRA).

Os alvos foram amplificados seguindo a seguintes condições: uma etapa de ativação enzimática a 95°C por 10 min., seguida de 47ciclos de desnaturação a 95°C por 15 segundos e anelamento/extensão a 60°C por 1 min, com detecção da fluorescência ao final da etapa de extensão. As cargas provirais estão apresentadas em percentual de PBMCs infectados, e foram calculadas pela seguinte fórmula: [(número de cópias do gene *tax*)/(número de cópias do gene β -globina/2)] x 100.

IV.6 Considerações estatísticas

IV.6.1 Tamanho da amostra

O tamanho da amostra de 1068 indivíduos foi determinado com base nos estudos de prevalência do HTLV-I, realizados em Moçambique. Para o cálculo foi considerado:

- Nível de significância (alfa): 5% e Poder:80%;
- Considerando que o estudo efetuado em doadores de sangue encontrou uma prevalência de 0.8% e outro realizado em adultos HIV positivos encontrou uma prevalência de 4.5%, assumimos que neste estudo a prevalência de co-infecção seria de 3% em crianças;
- Erro máximo admitido: 1.5%.

IV.6.2 Coleta e manejo dos dados

Os dados clínicos foram colhidos dos prontuários médicos e de entrevista realizada com os tutores legais das crianças, procedimentos feitos por uma equipe composta por um médico e um biólogo, previamente treinados para o efeito. A base de dados foi desenhada usando o Software Microsoft Access 2003. Os dados clínicos e laboratoriais foram introduzidos na base de dados em duplicado por dois operadores. Após a digitação dos dados, os mesmos foram comparados, tendo como objetivo eliminar qualquer erro na digitação. Esta comparação foi feita (“mismatching”) usando a função DATA COMPARE do Software Epi-info versão 3.3.2.

IV.6.3 Análise dos dados

A análise estatística foi efetuada usando o Software STATA, versão 10SE. A prevalência da coinfeção HTLV/HIV foi estimada considerando o número de crianças infectadas pelo HTLV sobre o número total de crianças testadas. O intervalo de confiança de 95% foi determinado utilizando o modelo Poisson.

Para comparação das variáveis categóricas nos grupos mono infectado (HIV) e co infectados (HIV/HTLV-I) foi utilizado o teste Qui-quadrado de Pearson. Já as variáveis quantitativas foram comparadas através do teste não paramétrico Mann-Whitney

Para análise dos parâmetros laboratoriais, as crianças foram classificadas ainda em dois grupos de 0 a 6 anos e 7 a 13 anos. Estudos há que sugerem haver uma diminuição gradual na contagem glóbulos brancos bem como das

sub-populações linfocitárias T CD4+ e T CD8+ à medida que a idade aumenta, tendendo para a estabilização durante a adolescência (Denny, et al, 1992; Lugada et al, 2004).

IV.7 Considerações Éticas

O protocolo do estudo e seus instrumentos, nomeadamente, o termo de consentimento e o questionário de recolha de dados clínicos (anexo 1), foram submetidos ao Comitê Nacional de Bioética para a Saúde (CNBS), Moçambique, para a respetiva avaliação e aprovação. A pesquisa só foi iniciada após aprovação pelo CNBS (anexo 2).

O estudo foi conduzido de acordo com as Boas Práticas Clínicas e todos os requisitos legais aplicáveis. O consentimento informado foi lido e explicado pelo médico previamente treinado para o efeito, em local sossegado e sem limitação de tempo, usando uma linguagem clara e acessível ao destinatário. Esta explicação foi feita em Português ou Changana nos casos que se mostraram necessários.

Usou-se um código apropriado para identificar cada um dos voluntários de modo a garantir a confidencialidade. Os dados que identificavam os voluntários não foram difundidos fora do local de estudo. Todos tutores legais foram informados dos resultados da serologia para o HTLV-I. Nos casos em que a serologia foi positiva, o resultado foi partilhado com o respectivo médico pediatra e o laudo do teste incluído no processo clínico do voluntário.

V. RESULTADOS

V. 1 Prevalência da Co-infecção HIV-HTLV-I

Durante o período entre Dezembro de 2010 a Agosto de 2011, foram convidadas para participar no estudo 956 crianças infetadas pelo HIV. Destas, 945 (98,8%) consentiram voluntariamente, por meio de seus tutores legais, em participar do estudo.

Entre as 945 crianças que participaram no estudo, 37 foram identificadas como estando infetadas pelo HTLV-I, após testagem serológica e confirmação por uma técnica de PCR, resultando em uma prevalência da coinfeção HIV/HTLV-I de 3,9% (IC95%: 2,8% - 5,4%).

V. 2 Características clínicas e demográficas

V.2.1 População total do estudo

Os dados demográficos e clínicos das 945 crianças incluídas no estudo estão apresentados para os grupos de co-infectados (HIV/HTLV) e mono-infectados (HIV) na tabela 1. A mediana das idades foi de 6 anos (IQR:4 – 9), sendo de 7 anos (IQR:4 – 8.5) no grupo de crianças co-infectadas e 6 anos (IQR:4 – 9) no grupo com a mono-infecção (p-valor = 0.955). Em relação ao sexo, 467 (49,4%) crianças eram do sexo feminino e 478 (50,6%) de sexo masculino.

Entre os co-infectados, 15 (40,5%) eram meninas e entre os mono-infectados a proporção de meninas foi de 49,8% (n = 452), não havendo diferença estatisticamente significativa entre sexo e *status* de co-infecção.

Na inclusão, estavam fazendo uso de TARV 811 (85,8%) crianças, sendo 29 (78,4%) no grupo co-infectado e 782 (86,1%) no grupo mono-infectado. Entre os co-infectados, 8 (21,6%) não estavam em uso de TARV, enquanto entre os

mono-infectados a proporção de não uso de TARV foi de 13,9% (n=126; p-valor = 0,279).

Das crianças que estavam em TARV, 936 (99%) estavam fazendo a primeira linha. Não houve diferença significativa entre a linha de TARV e os grupos mono e co-infectados (p-valor = 0,279).

A contagem absoluta das células T CD4+ na população do estudo teve uma mediana de 1009 (IQR: 708 – 1461) sendo 1017 (IQR: 621 – 1732) no grupo de crianças co-infectadas e 1007 (IQR: 709,8 – 1458,8) no grupo de crianças mono-infectadas (p-valor = 0,686). Em relação aos valores percentuais desta população de células, a mediana foi 27 (IQR: 20 – 34), não havendo diferença entre o *status* de crianças co-infectadas (p-valor = 0,868).

Em relação à contagem absoluta de células T CD8+, a mediana foi 1435 (IQR: 1022.5 – 1935) na população geral, sendo 1438 (IQR: 1137 – 1936) nas crianças co-infectadas e 1433.5 (IQR: 1014.8 – 1933.2) nas crianças mono-infectadas (p-valor = 0,549). Também não foi encontrada diferença significativa das medianas dos valores percentuais nos grupos dos co-infectados e mono-infectados (p-valor = 0,932).

Em relação ao estadiamento clínico do HIV, 143 (15,1%) estavam no estadio I, 441 (46,7%) no estadio II, 284 (30,1%) no estadio III e apenas 77 (8,1) no estadio IV. Dezanove (51,4%) crianças co-infectadas e 422 (46,5%) mono-infectadas estavam no estadio II.

Tabela 1. Características clínicas e demográficas do grupo do estudo.

Variável	Pacientes	Pacientes	Total	p-valor
	coinfectados HIV/HTLV-1 (n=37)	monoinfectados HIV (n=908)	945	
Idade, anos				0.955
Mediana	7.0	6.0	6	
IQR	4.0 - 8.5	4.0 - 9.0	4.0 - 9.0	
Sexo				0.35
Feminino	15 (40.5%)	452 (49.8%)	467 (49.4%)	
Masculino	22 (59.5%)	456 (50.2%)	478 (50.6%)	
TARV				0.279
Não	8 (21.6%)	126 (13.9%)	134 (14.2%)	
Sim	29 (78.4%)	782 (86.1%)	811 (85.8%)	
Linha TARV				0.303
1 ^a	36 (97.3%)	900 (99.1%)	936 (99%)	
2 ^a	1 (2.7)	7 (0.8)	8 (0.8%)	
Células T CD4+ (cel/ mm³)				0.686
Mediana	1017	1007	1009	
IQR	621 – 1732	709.8 – 1458.8	708 – 1461	
Células T CD4+ (%)				0.868
Mediana	27	27	27	
IQR	19 – 35	20 – 34	20 – 34	
Células T CD8+ (cel/ mm³)				0.549
Mediana	1438	1433.5	1435	
IQR	1137 – 1936	1014.8 – 1933.2	1022.5 – 1935	
Células T CD8+ (%)				0.932
Mediana	38	37	37	
IQR	32 – 43	30 – 46	30 – 46	
Estadio do HIV (OMS)				0.621
I	3 (8.1%)	140 (15.4%)	143 (15.1%)	
II	19 (51.4%)	422 (46.5%)	441 (46.7%)	
III	11 (29.7%)	273 (30.1%)	284 (30.1%)	
IV	4 (10.8%)	73 (8.0%)	77 (8.1%)	

V.2.2 Subpopulação pareada por estadiamento clínico do HIV, idade e sexo

A história clínica dos pacientes co-infectados (37) e respetivos pares (71) mostrou que no grupo das crianças co-infectadas praticamente todas estiveram expostas a algum procedimento passível de transmitir a infeção por HTLV. A frequência de tais procedimentos variou nos dois grupos ainda que nenhum tenha sido estatisticamente significativo (Tabela. 2). O aleitamento materno misto destacou-se estando presente em 32 (86,5%) das crianças co-infectadas contra 58 (81,7%) das mono-infectadas. Ainda assim, este achado não foi estatisticamente significativo (p-valor = 0,6752).

Tabela 2. Fatores clínicos relacionados com a transmissão do HTLV nos pacientes coinfectedados por HIV/HTLV-1 e nos pacientes monoinfectados por HIV.

Variável	Pacientes	Pacientes	P - valor
	coinfectados HIV/HTLV-1 (n=37)	monoinfectados HIV (n=71)	
Transfusão de Sangue	9 (24.3%)	16 (22.5%)	0.834
História de Escarificação	2 (5.4%)	1 (1.4%)	0.233
Cirurgia Prévia	0 (0.0%)	1 (1.4%)	0.470
Estarção Dentária	4 (10.8%)	5 (7.0%)	0.503
Aleitamento Materno	32 (86.5%)	58 (81.7%)	0.6752
Aleitamento Materno Exclusivo	6 (16.2%)	10 (14.1%)	0.944

Em relação ao estado nutricional das crianças ao nascer (Tabela. 3), a baixa estatura para a idade foi o fator que mais se destacou nos participantes co-infectados (48,6%) e mono-infectados (42,3%), ainda que não tenha apresentado significância estatística (p-valor = 0,5275). Outros factores como o baixo peso á nascença (p-valor = 0,834), o baixo peso para a altura (p-valor = 0,4053) e o baixo peso para a idade (p-valor = 0,1129), também não foram estatisticamente significativos.

Tabela 3. Indicadores de peso e estatura à nascença nos pacientes coinfetados por HIV/HTLV-I e nos pacientes monoinfetados por HIV.

Variável	Pacientes	Pacientes	P - valor
	coinfetados	monoinfetados	
	HIV/HTLV-1 (n=37)	HIV (n=71)	
Baixo Peso a Nascimento	4 (10,8%)	12 (16,9%)	0,834
Indicadores Antropométricos			
Baixa estatura para a idade	18 (48,6%)	30 (42,3%)	0,5275
Baixo peso para a altura	3 (8,1%)	1 (4,2%)	0,4053
Baixo peso para a idade	8 (21,6%)	26 (36,6%)	0,1129

Na avaliação da ocorrência de lesões da pele nos dois grupos (Tabela. 4), vimos que dos 108 participantes avaliados, 65 (60,2%) apresentavam algum tipo de dermatite, sendo 21 (56,8%) crianças co-infetadas e 44 (62,0%) crianças mono-infetadas. Ainda assim, estes achados não foram estatisticamente significativos (p -valor = 0,599). Entre os pacientes co-infetados, o eczema (21,6%) foi o tipo de dermatite mais frequente enquanto nos mono-infetados, coube a dermatite seborreica (32,4%) o maior número de casos. Comparando os diferentes tipos de dermatite nos dois grupos, não foi detectada significância estatística (p -valor = 0,410).

Tabela 4. Lesões dermatológicas: comparação de frequências nos pacientes coinfetados por HIV/HTLV-I e nos pacientes monoinfetados por HIV.

Variável	Pacientes	Pacientes	Total 108	p*
	coinfetados	monoinfetados		
	HIV/HTLV-I (n=37)	HIV (n=71)		
Dermatite	21 (56,8)	44 (62,0%)	65 (60,2%)	0.680
Atópica	5 (13,5%)	4 (5,6%)	9 (8,3%)	
Seborreica	7 (18,9%)	23 (32,4%)	30 (27,8%)	0.357
Eczema	8 (21,6%)	14 (19,7%)	22 (20,4%)	
Escabiose	1 (2,7%)	2 (2,8%)	3 (2,8%)	

Foram comparados parâmetros hematológicos e também a contagem de subpopulações linfocitárias T CD4+ e T CD8+. Durante a avaliação dos parâmetros hematológicos (Tabela. 5) foram comparados, entre os pacientes co-infectados e os mono-infectados, os valores medianos da contagem de leucócitos totais, hemoglobina, hematócrito, plaquetas, linfócitos totais, monócitos e a concentração de hemoglobina corpuscular média. De um modo geral, verificou-se uma tendência a diminuição das medianas à medida que a idade aumentava. Nenhuma diferença estatisticamente significativa foi observada.

Tabela 5. Hemograma – Comparação de diferentes parâmetros hematológicos entre pacientes coinfetados por HIV/HTLV-I e pacientes monoinfetados por HIV, tendo em conta os grupos etários.

Variável	Idade (anos)					
	0 – 6			7 - 13		
	Pacientes coinfetados HIV/HTLV-1 (n=18)	Pacientes monoinfetados HIV (n=31)	<i>p</i> -valor	Pacientes coinfetados HIV/HTLV-1 (n=19)	Pacientes monoinfetados HIV (n=40)	<i>p</i> -valor
Leucócitos Totais (10^3 cells /mm³) (10^3/mm³)						
Mediana	8.45	8.9	0.836	7.0	7.5	0.756
IQR	7.4-12.1	7.5-11.1		6.0-10.3	6.2-9.1	
Hemoglobina (gr/dL)						
Mediana	10.6	10.0	0.149	11.5	11.1	0.342
IQR	9.8-11.9	9.5-11.1		9.9-12.2	10.2-11.9	
Hematócrito (%)						
Mediana	31.9	32.0	0.852	32.0	32.7	0.318
IQR	30.0-33.1	29.0-34.0		30.1-34.2	31.2-34.6	
CHCM (gr/dL)						
Mediana	32.1	31.2	0.237	33.3	32.8	0.820
IQR	31.2-33.0	30.3-33.0		31.9-34.0	31.7-34.1	
Plaquetas (10^3/mm³)						
Mediana	353	351	0.732	293	356	0.163
IQR	268-432	249-513		200-365	237-400	
Linfócitos Totais (10^3 cells /mm³)						
Mediana	3.4	4.6	0.097	2.9	3.2	0.342
IQR	3.2-5.1	3.3-5.6		2.1-3.6	2.6-3.9	
Monócitos (10^3 cells /mm³)						
Mediana	0.8	0.8	0.785	0.9	0.5	0.410
IQR	0.6-1.0	0.2-1.0		0.2-1.3	0.2-1.0	

Tanto o grupo dos pacientes co-infetados, bem como dos mono-infetados não mostrou diferenças estatisticamente significativas na comparação das diferentes sub-populações linfocitárias T CD4+ e T CD8+, quando comparados entre si os valores absolutos e percentuais. Ainda assim, as medianas foram, de um modo geral, maiores nos pacientes do grupo de 0 a 6 anos de idade

quando comparados com os pacientes do grupo de 7 a 13 anos de idade (Tabela. 6).

Tabela 6. Comparação de duas subpopulações linfocitárias (T CD4+ e T CD8+) entre pacientes coinfectados por HIV/HTLV-I e pacientes mono infectados por HIV, tendo em conta os grupos etários.

Variável	Idade (anos)					
	0 - 6			7 - 13		
	Pacientes coinfectado s HIV/HTLV-1 (n=18)	Pacientes mono infectado s HIV (n=31)	<i>p-valor*</i>	Pacientes coinfectado s HIV/HTLV-1 (n=18)	Pacientes HIV (n=31)	<i>p-valor</i>
Células T CD4+ (cel/ mm³)						
Mediana	1732	1349	0.131	652	800	0.355
IQR	1194-1889	883-1808		527-1003	597-1057	
Células T CD4+ (%)						
Mediana	29.5	27.0	0.169	23.0	22.5	0.607
IQR	26.0-37.0	18.0-35.0		17.0-30.0	15.5-28.5	
Células T CD8+ (cel/ mm³)						
Mediana	1548	1853	0.305	1297	1560	0.125
IQR	1307-2180	1263-2458		982-1936	1161-2239	
Células T CD8+ (%)						
Mediana	32.5	34	0.232	41.0	46.5	0.632
IQR	23.0-38.0	27.0-42.0		36.0-53.0	36.5-52.0	

V.2.3 Carga Proviral do HTLV-I

As 37 amostras das crianças coinfectadas pelo HIV/HTLV-I, ou seja, todas as amostras que foram consideradas positivas para HTLV-I, foram submetidas a quantificação da carga proviral do HTLV-I. Destas, 4 amostras apresentaram uma carga proviral detectável e as restantes uma carga proviral não detectável. As idades dos pacientes com a carga proviral detectável foram de 3, 4, 7 e 12 anos e as suas cargas provirais foram de 0,67%; 21,06%; 3,66% e 2,28% respectivamente. Destes, 2 eram do sexo masculino.

VI. DISCUSSÃO

O HTLV-I foi identificado e descrito há cerca de 30 anos tornando-se assim no primeiro retrovírus oncogênico humano conhecido (Gallo. 2005; Poiesz et al,1980).

É, portanto, à semelhança do HIV, um retrovírus humano e com este partilha algumas características como a via de transmissão, o tropismo pelos linfócitos T CD4+ e a distribuição geográfica (Weiss et al, 1987; Khabbaz et al, 1992 Wiktor et al, 1992; Blattner et al, 1994). Este facto faz com que a coinfeção HIV/HTLV-I seja frequentemente detetada em regiões onde ambos são prevalentes (Moreira et al. 1993; Dourado et al, 1999; de Araújo et al, 1984).

Os dados deste estudo mostraram que 37 das 945 crianças testadas para HTLV-I tiveram um resultado positivo trazendo uma prevalência da coinfeção HIV/HTLV-I de 3,9% (IC95%: 2,8 – 5,4). Estes resultados mostraram, primeiramente, que a prevalência da coinfeção é semelhante à observada em adultos moçambicanos infetados pelo HIV, de 4,5% (Bhatt et al, 2009). Moçambique não dispõe, até o momento, de informação sobre a prevalência desta coinfeção na população adulta HIV-. Nosso resultado foi maior do que o encontrado na Nigéria (Olaleye et al, 1995), com prevalência da coinfeção de 0,2% na população geral e menor do que o observado em Gana, com prevalência maior que 10% (Adjei et al, 2003), estudos realizados em adultos infectados por HIV. Estas diferenças podem ser atribuídas ao facto de o estudo realizado na Nigéria ter ocorrido numa altura (1995) em que oficialmente a prevalência de HIV ainda era baixa no continente africano, este país estar localizado no norte de África que tradicionalmente tem prevalências menores de HIV do que a zona sul onde se encontra Moçambique e também pelo facto de o estudo ter sido realizado de forma dispersa colhendo amostras por todo o país. No caso do estudo realizado no Gana, um país que situa-se também no norte de África, as amostras usadas provinham de pacientes internados numa unidade sanitária que se dedica ao atendimento de pacientes com doenças infecciosas (principalmente o HIV) o que pode explicar esta elevada prevalência.

Ainda que os trabalhos por nós citados reportem dados na população adulta, os mesmos tornam consistentes os resultados produzidos neste estudo. No entanto, de acordo com o nosso conhecimento, muito pouco está descrito na literatura internacional sobre a prevalência e sobre a dinâmica da coinfeção HIV/HTLV-I na idade pediátrica.

O facto de ambos vírus partilharem as vias de transmissão e de Moçambique estar situado no sul de África, uma região de alta prevalência do HIV, confirma o que alguns autores reportaram em seus estudos quando diziam que o HTLV-I é prevalente em regiões onde o HIV apresenta grandes taxas de infeção (Moreira et al, 1993; Dourado et al, 1999; de Araújo et al, 1984).

O aleitamento misto (86,5%), o aleitamento materno exclusivo (16,2%) a transfusão de sangue (24,3%), as escarificações (5,2%) e a extração dentária (10,8%) revelaram-se, neste trabalho, como possíveis vias de transmissão da infeção uma vez que a mesma é transmitida de mãe para filho, principalmente pela amamentação e por via parenteral, durante transfusões sanguíneas e de outros hemoderivados bem como pelo uso de agulhas e seringas infectadas. O alto índice de transfusão de sangue registado pode ser explicado pelo facto de muitas crianças moçambicanas serem afectadas de forma cíclica pela malária, uma doença infecciosa endémica em Moçambique, que cursa muitas vezes com anemia grave. A via sexual é uma forma de transmissão principalmente de homem para mulher (Bittencourt et al, 2006; Manns et al, 1999) e estudos na população adulta mostram maior prevalência do HTLV-I no sexo feminino (Murphy et al, 1989). No presente estudo, quando analisada a distribuição da infeção por sexo, verificou-se uma maior frequência no sexo masculino, ainda que nenhuma diferença estatisticamente significativa tenha sido detectada, resultado esperado considerando as vias de transmissão para a criança.

Ao analisar os parâmetros peso e a estatura das crianças à nascença com a coinfeção HIV/HTLV-I, olhando para o *p-valor* de pacientes coinfectados e dos mono infectados, concluímos que estes apresentaram uma variação muito tímida e não revelam nenhuma relação estatisticamente significativa. Como esse é um estudo transversal, incluindo crianças de 2 meses a 14 anos de

vida, não é possível identificar o momento da infecção pelo HTLV-I para avaliar o real impacto da coinfeção nesses parâmetros.

Hoje sabe-se que o HTLV-I é associado a ocorrência de desordens inflamatórias como uveítes, alveolites, síndrome de Sjogren e dermatite infecciosa (Lagrenade et al, 1990; Walshe et al, 1967). A dermatite infecciosa é descrita como uma doença da pele (eczema crônico), crônica, recidivante e infetada que ocorre na infância, envolvendo praticamente em todos casos o couro cabeludo e que pode evoluir para HAM / TSP e ATL. A HAM / TSP é uma mielopatia crônica e incapacitante do adulto (Bittencourt et al, 2006).

Apesar de 56,8% das crianças coinfectadas pelo HIV/HTLV-I em nosso estudo apresentarem lesões dermatológicas que foram classificadas como dermatite atópica, dermatite seborreica, dermatite fúngica, eczema e escabiose, nenhuma delas foi enquadrada no diagnóstico de dermatite infecciosa ou HAM / TSP e ATL. Esse achado pode estar associado ao fato de o tempo entre a infecção pelo HTLV e o início dos sintomas ser muito longo, tornando o início da manifestação de doenças relacionadas ao HTLV-I tardio, ocorrendo principalmente em adultos (Grant et al, 2002). Ainda que a dermatite infecciosa tenha sido a primeira manifestação pediátrica descrita como estando associada ao HTLV-I (La Grenade. 1994), a probabilidade da sua aparição em crianças infectadas pelo HTLV-I é de 0,4% (Maloney et al, 2000). Sabendo que a história natural da coinfeção HIV/HTLV-I demanda um longo período até que surjam os primeiros sinais e sintomas, e que os voluntários do presente estudo eram crianças saudáveis, podemos aceitar a ausência da dermatite infecciosa e de outros sintomas já descritos na idade pediátrica.

Determinar laboratorialmente os parâmetros hematológicos e imunológicos de pacientes infetados pelo HIV é uma forma comumente utilizada na prática clínica rotineira e também em estudos epidemiológicos como uma ferramenta para aferir sobre o seu estado de saúde.

Ao analisar os parâmetros hematológicos, comparando a mediana entre os grupos de pacientes coinfectados com a mediana dos mono infectados nos dois

subgrupos de idade, concluímos que estes apresentaram uma variação muito tímida. Enquanto a hemoglobina e o hematócrito tiveram uma tendência ligeira para o aumento com a idade, as contagens de leucócitos, plaquetas e dos monócitos diminuíram com a idade.

Ainda que estas variações não se tenham revelado estatisticamente significativas no nosso trabalho, em alguns estudos realizados em crianças africanas houve diferenças significativas, tendo em conta a idade, em vários parâmetros hematológicos nos quais inclui-se a hemoglobina, os glóbulos brancos e algumas sub-populações linfocitárias (Embree et al, 2001; Lugada et al, 2004; Quintó et al, 2006; Adetifa et al, 2009). Nos dados produzidos pelo presente trabalho, nenhuma relação estatisticamente significativa foi estabelecida.

O comportamento das sub-populações linfocitárias T CD4+ e TCD8+ no presente estudo variou principalmente em função da idade. Houve uma tendência para diminuição das medianas quando comparados o grupo 0 a 6 anos com o grupo de 7 a 13 anos. Este dado vai de acordo com o descrito por alguns autores, sugerindo uma diminuição fisiológica na contagem destas duas sub-populações linfocitárias à medida que a idade aumenta, chegando a estabilização no final da adolescência (Denny et al, 1992; Lugada et al, 2004).

No presente estudo, a coinfeção HIV/HTLV-I não cursou com linfocitose. Esta afirmação contraria a informação disponível sobre o comportamento das células T CD4+ nos casos de coinfeção. Evidências sugerem que em indivíduos adultos a coinfeção HIV/HTLV-I cursa com uma proliferação anormal de células T CD4+ (Schechter et al, 1994), atribuída ao HTLV-1 (Beilke et al, 2004). Isto pode ser explicado pelo facto de a história natural da coinfeção HIV/HTLV-I ter um curso insidioso levando muito tempo até ao surgimento dos primeiros sinais e sintomas e de os voluntários do presente estudo serem crianças saudáveis, não tendo ainda tempo de vida suficiente para que a doença progredisse.

As células T CD8+ desempenham um papel importante na supressão da replicação do HTLV-I por meio de uma proliferação induzida pela própria infecção (Vine et al, 2004; Hanon et al, 2000). Alguns autores sugerem que esta proliferação de células T CD8+ ocorre principalmente em indivíduos que apresentam altas cargas provirais do HTLV-I e algum tipo de doença neurológica. Nosso estudo não encontrou relação estatisticamente significativa quando comparamos as contagens desta sub-população linfocitária entre as crianças co-infectadas e as mono-infectadas.

Estudos há, que indicam que as normas atuais para a monitorização da infecção por HIV em pacientes adultos não são adequadas para os casos de coinfeção HIV/HTLV-I (Schechter et al, 1994; Brites et al, 1998) devido a linfocitose induzida pelo HTLV-I. Sabe-se ainda que a definição de caso de SIDA passa pela contagem de células T CD4+ menor do que 200 células/mm³ ou a presença de doença oportunista definidora de SIDA, mas já foi demonstrado que pacientes com coinfeção HIV/HTLV-I apresentam elevados níveis de células T CD4+, o que pode dificultar a monitorização da doença (Casseb et al, 2007). Esta é uma grande limitação para o seguimento dos pacientes co-infectados pelo HIV/HTLV-I.

Na idade pediátrica, a informação é escassa. Nossos dados sugerem não haver linfocitose induzida pelo HTLV-I, sugerindo portanto a necessidade de revisão das normas para monitorização da infecção pelo HIV em crianças co-infectadas. No entanto, um estudo realizado no Brasil em 2011 reportou que crianças co-infectadas pelo HIV/HTLV-I apresentaram uma maior probabilidade de desenvolver sinais e sintomas de SIDA quando comparadas com crianças mono-infectadas pelo HIV, ainda que apresentassem maiores valores de células T CD4+. O mesmo estudo mostrou ainda que a proporção de mortes foi maior nas crianças co-infectadas e que as mesmas tinham um menor tempo de vida (Pedroso et al, 2011). Por ser um estudo transversal não foi possível comparar, no nosso trabalho, a evolução da infecção pelo HIV nos dois grupos de crianças.

Os resultados encontrados por nós podem estar relacionados ao fato de que 85,8% das crianças analisadas estavam em uso de TARV e tanto as

coinfectedas quanto as monoinfectadas apresentavam valores altos de CD4 no momento da avaliação. O efeito da idade, do estágio clínico e do sexo nas prováveis respostas, foi minimizado pelo pareamento previamente feito. Testar as mães de cada criança infetada pelo HTLV-I, teria ajudado a reforçar a hipótese de transmissão vertical que tem sido defendida por vários autores.

No presente estudo, não foi possível tirar conclusões sólidas sobre o impacto da carga proviral do HTLV-I. Dos 37 pacientes com a coinfeção HIV/HTLV-I, apenas 4 tiveram uma carga proviral detetável sendo 2 do sexo feminino. As idades foram 3, 4, 7 e 12 anos. Os 4 pacientes com carga proviral detetável estavam em TARV, sendo que 2 no estágio clínico do HIV II, 1 com estágio clínico III e 1 paciente no estágio clínico IV. Os valores obtidos do processamento da carga proviral foram baixos, com exceção de um paciente que apresentou uma carga proviral de 21,06% PBMC. Nenhum paciente coinfetado apresentava sinais ou sintomas relacionados com a infeção pelo HTLV-I.

O facto de os 4 pacientes com carga proviral detetável estarem em TARV usando linhas de tratamento que incluem Lamivudina e Zidovudina, e de a maior parte destes pacientes apresentar baixos valores da carga proviral do HTLV-I, sugere que estes medicamentos podem reduzir a replicação do HTLV-I e consequentemente a sua carga proviral, como anteriormente descrito por Machuca V. & Soriano V. 2000 e Machuca et al, 2001.

A literatura internacional tem descrito sistematicamente, a presença de cargas provirais elevadas (acima de 10% PBMC) apenas em pacientes com manifestações clínicas de doença causada pelo HTLV-I (Yoshida et al, 1989; Gessain et al, 1990; Kira et al, 1991; Nagai et al, 1998) e baixas (entre 0,1 - 1% do PBMC) em pacientes assintomáticos, o que pode explicar a baixa frequência de casos detetáveis encontrada por nós.

O facto de o presente estudo relatar dados sobre pacientes em idade pediátrica e de os mesmos não apresentarem sinais de doença causada pelo HTLV-I vai ao encontro do que tem sido publicado por vários autores que referem que a

infecção pelo HTLV-I causa doença crônica e manifesta-se na população adulta (Yamaguchi et al, 2002; Proietti et al, 2005). Acreditamos que um estudo prospetivo daria mais informações sobre a variação da carga proviral e seu impacto no surgimento ou não de doença associada ao vírus.

A maior limitação do presente estudo foi o facto de não se ter testado as mães e até os irmãos das crianças participantes, impossibilitando uma maior aferição sobre a transmissão vertical do HTLV-I. Em Moçambique o rastreio do HTLV-I não é feito de forma rotineira. Ainda assim, todos voluntários do presente estudo serem seguidos ao longo dos próximos anos para monitorar uma possível evolução da doença e proporcionar a devida assistência. As mães e os irmãos dos voluntários, serem convidados a participar neste programa para que possam ser testados e, os casos positivos possam ser seguidos.

VII. CONCLUSÕES

Com o presente estudo podemos concluir o seguinte:

- A prevalência de infecção pelo HTLV-I em crianças moçambicanas infetadas pelo HIV é de 3,9% (IC95%: 2,8 – 5,4).
- Nenhum fator epidemiológico, clínico ou hematológico foi associado a presença da coinfeção HIV/HTLV-I.
- Nessa população, na qual a maioria das crianças estava em TARV (85,8%), a coinfeção HIV/HTLV-I não esteve associada a linfocitose T CD4+.

VIII. RECOMENDAÇÕES

- O facto de não terem sido identificados sinais epidemiológicos, clínicos e hematológicos capazes de indicar ou elevar a suspeita da presença da coinfeção HIV/HTLV-I em crianças, sugere-se a necessidade de ampliar a capacidade de realização de testes laboratoriais específicos.
- Estudos prospetivos são necessários para que futuramente se possa observar e inferir mais sobre a dinâmica das células T CD4+ em crianças padecendo da coinfeção HIV/HTLV-I, bem como sobre o impacto da modulação imune induzida por este vírus na progressão da infeção por HIV, para os pacientes em idade pediátrica.

IX. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abreu, C. M., *et al.* Genotypic and phenotypic characterization of human immunodeficiency virus type 1 isolates circulating in pregnant women from Mozambique. Arch Virol, 153(11): 2013-7. 2008.

Adetifa, I. M., *et al.* Haematological values from a Gambian cohort--possible reference range for a West African population. Int J Lab Hematol, 31(6):615-22. 2009.

Adetifa, I. M., *et al.* Haematological values from a Gambian cohort--possible reference range for a West African population, Dec;31(6):615-22. 2009.

Adjei, A. A., *et al.* Human T-lymphotropic type-1 virus specific antibody detected in sera of HIV/AIDS patients in Ghana. Jpn J Infect Dis, 56(2): 57-9. 2003.

ANDO, Y., *et al.* Long-term follow-up study of vertical HTLV-I infection in children breast-fed by seropositive mothers. J Infect, v. 46, n. 3, p. 177-9, 2003.

Apea-Kubi, K. A., *et al.* HTLV-1 and other viral sexually transmitted infections in antenatal and gynaecological patients in Ghana. West Afr J Med, 25(1): 17-21. 2006.

Araújo, A. Q., *et al.* HTLV-1 and neurological conditions: when to suspect and when to order a diagnostic test for HTLV-1 infection? Arq Neuropsiquiatr, Mar;67(1):132-8. 2009.

Bartholomew, C., *et al.* Progression to AIDS in homosexual men co-infected with HIV and HTLV-I in Trinidad. Lancet, Dec 19;2(8573):1469. 1987.

- Bartlett, J. G., *et al.* Medical Management of HIV Infection. Knowledge Source Solutions LLC,. 2009.
- Beilke, M. A., *et al.* Clinical outcomes and disease progression among patients coinfecting with HIV and human T lymphotropic virus types 1 and 2. Clin Infect Dis, 39(2): 256-63. 2004.
- Bhatt, N. B., *et al.* Loss of correlation between HIV viral load and CD4+ T-cell counts in HIV/HTLV-1 co-infection in treatment naive Mozambican patients. Int J STD AIDS, 20(12): 863-8. 2009.
- Bittencourt, A. L., *et al.* Manifestations of the human T-cell lymphotropic virus type I infection in childhood and adolescence. J Pediatr (Rio J), 82(6): 411-20. 2006.
- Blattner, W. A., *et al.* Textbook of AIDS Medicine. Baltimore: 887–908. 1994.
- Brites, C., *et al.* Co-Infection by HTLV-I/II is Associated With Increased Viral Load in PBMC of HIV-1 Infected Patients in Bahia, Brazil. Braz J Infect Dis, 2(2): 70-77. 1998.
- Brites, C., *et al.* Coinfection with HIV and human T lymphotropic virus type 1: what is the real impact on HIV disease?. Clin Infect Dis, 40(2): 329-30; author reply 330-1. 2005.
- Carneiro-Proietti, A. B., *et al.* Infection and disease caused by the human T cell lymphotropic viruses type I and II in Brazil. Rev Soc Bras Med Trop, Sep-Oct;35(5):499-508. 2002.
- Casoli, C., *et al.* Molecular and cellular interactions of HIV1/HTLV coinfection and impact on AIDS progression. AIDS Rev, 9(3): 140-9. 2007.
- Casseb, J., *et al.* T CD4+ cells count among patients co-infected with human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and human T-cell leukemia virus

type 1 (HTLV-1): high prevalence of tropical spastic paraparesis/HTLV-1-associated myelopathy (TSP/HAM). Rev Inst Med Trop Sao Paulo, Jul-Aug;49(4):231-3. 2007.

Caterino-de-Araujo, A., *et al.* Prevalence of human T-cell lymphotropic virus (HTLV-1/2) in individuals from public health centers in Mozambique. AIDS Res Hum Retroviruses, May;26(5):559-6. 2010.

Caterino-de-Araujo, A., *et al.* Sensivity of two enzymelinked immunosorbent assay tests in relation to Western blot in detecting human T-cell lymphotropic virus types I and II infections among HIV-1 infected patients from São Paulo, Brazil. Diagn Microbiol Infect Dis, v. 30, n. 3, p. 173-82, 1998.

Chu, C., Selwyn, P. A. Diagnosis and initial management of acute HIV infection. Am Fam Physician. May 15;81(10):1239-44. 2010.

Cohen, M. S., *et al.* Acute HIV-1 Infection. N Engl J Med, May 19;364(20):1943-54. 2011.

Cohen, M. S., *et al.* The detection of acute HIV infection. J Infect Dis, Oct 15;202 Suppl 2:S270-7. 2010.

Constantine, N. T., *et al.* Monitoring for HIV-1, HIV-2, HTLV-I sero-progression and sero-conversion in a population at risk in east Africa. J Egypt Public Health, Assoc 67(5-6): 535-47. 1992.

Cooper, S. A., *et al.* The neurology of HTLV-1 infection. Pract Neurol, 9(1): 16-26. 2009.

Courouce, A. M., *et al.* Seroepidemiology of HTLV-I/II in universal screening of blood donations in France. Aids, 7(6): 841-7. 1993.

- Cunha, L., *et al.* Use of replacement blood donors to study the epidemiology of major blood-borne viruses in the general population of Maputo, Mozambique. J Med Virol, 79(12): 1832-40. 2007.
- de Araujo, A. C., *et al.* HTLV-I and HTLV-II infections among HIV-1 seropositive patients in Sao Paulo, Brazil. Eur J Epidemiol, 10(2): 165-71. 1994.
- De Cock, K. M., *et al.* The evolving epidemiology of HIV/AIDS. AIDS, Jun 19;26(10):1205-13. 2012.
- Denny, T., *et al.* "Lymphocyte subsets in healthy children during the first 5 years of life," Journal of the American Medical Association, vol. 267, no. 11, pp. 1484–1488, 1992.
- Dourado, I., *et al.* Risk factors for human T-cell lymphotropic virus type I among injecting drug users in northeast Brazil: possibly greater efficiency of male to female transmission. Mem Inst Oswaldo Cruz, 94:13–18. 1999.
- El-ghazzawi, E., *et al.* Low prevalence of antibodies to HIV-1 and HTLV-I in Alexandria, Egypt. AIDS Forsch, 2(11): 639. 1987.
- Embree, J., *et al.* Lymphocyte subsets in human immunodeficiency virus type 1-infected and uninfected children in Nairobi. Pediatr Infect Dis J, Apr;20(4):397-403. 2001.
- Ferreira, O. C., V., *et al.* Human T-cell leukemia viruses: epidemiology, biology, and pathogenesis. Blood Rev, 11(2): 91-104. 1997.
- Franchini, G. Molecular mechanisms of human T-cell leukemia/lymphotropic virus type I infection. Blood, 86(10): 3619-39. 1995.
- Gallo, C. R. History of the Discovery of the First Human Retroviruses: HTLV-1 and HTLV-2. Oncogene, 24:5926-5930 pp. 2005.

- Gessain, A., *et al*/ High human T-cell lymphotropic virus type I proviral DNA load with polyclonal integration in peripheral blood mononuclear cells of French West Indian, Guianese, and African patients with tropical spastic paraparesis. Blood, Jan 15;75(2):428-33. 1990.
- Gessain, A., *et al*. Antibodies to human T-lymphotropic virus type-I in patients with tropical spastic paraparesis. Lancet, 2(8452): 407-10. 1985.
- Gessain, A., *et al*. Low degree of human T-cell leukemia/lymphoma virus type I genetic drift in vivo as a means of monitoring viral transmission and movement of ancient human populations. J Virol, 66(4): 2288-95. 1992.
- Gessain, A., *et al*. Genetic variability and molecular epidemiology of human and simian T cell leukemia/lymphoma virus type I. J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retroviro, 13 Suppl 1: S132-45. 1996.
- Getchell, J. P., *et al*. Detection of human T cell leukemia virus type I and human immunodeficiency virus in cultured lymphocytes of a Zairian man with AIDS. J Infect Dis, 155(4): 612-6. 1987.
- Ghez, D., *et al*. Neuropilin-1 is involved in human T-cell lymphotropic virus type 1 entry. J Virol, 80(14): 6844-54. 2006.
- Grant, C., *et al*. Human T cell leukemia virus type I and neurologic disease: events in bone marrow, peripheral blood, and central nervous system during normal immune surveillance and neuroinflammation. J Cell Physiol, 190(2): 133-59. 2002.
- Gudo, E. S., *et al*. Serologic and molecular typing of human T-lymphotropic virus among blood donors in Maputo City, Mozambique. Transfusion. 2009.

- Hanon, E., *et al.* Abundant tax protein expression in CD4+ T cells infected with human T-cell lymphotropic virus type I (HTLV-I) is prevented by cytotoxic T lymphocytes. Blood, 95, 1386-92. 2000.
- Harrison, L. H., *et al.* Human T cell lymphotropic virus type I does not increase human immunodeficiency virus viral load in vivo. J Infect Dis, 175(2): 438-40. 1997.
- Harrison, L. H. and M. Schechter. Coinfection with HTLV-I and HIV: increase in HTLV-I-related outcomes but not accelerated HIV disease progression? AIDS Patient Care STDS, 12(8): 619-23. 1998.
- Hiscott, J., *et al.* Molecular interactions between HTLV-1 Tax protein and the NF-kappa B/kappa B transcription complex. Virology, 214(1): 3-11. 1995.
- Holmgren, B., *et al.* Dual infections with HIV-1, HIV-2 and HTLV-I are more common in older women than in men in Guinea-Bissau. Aids, 17(2): 241-53. 2003.
- Houston, S., *et al.* Human T cell lymphotropic virus type 1 in Zimbabwe. Trans R Soc Trop Med Hyg, 88(2): 170-2. 1994.
- Jia, Z., *et al.* Tracking the evolution of HIV/AIDS in China from 1989-2009 to inform future prevention and control efforts. PLoS One, 6(10):e25671. Epub 2011 Oct 5. 2011.
- Jones, K. S., *et al.* Induction of human T cell leukemia virus type I receptors on quiescent naive T lymphocytes by TGF-beta. J Immunol, Apr 1;174(7):4262-70. 2005
- Khabbaz, R. F., *et al.* Seroprevalence of HTLV-I and HTLV-II among intravenous drug users and persons in clinic for sexually transmitted diseases. N Engl J Med, 326:375-380. 1992.

- Khabbaz, R. F., *et al.* Seroprevalence of HTLV-1 and HTLV-2 among intravenous drug users and persons in clinics for sexually transmitted diseases. N Engl J Med, Feb 6;326(6):375-80. 1992.
- Kira, J., *et al.* Increased HTLV-I proviral DNA in HTLV-I-associated myelopathy: a quantitative polymerase chain reaction study. Ann Neurol, Feb;29(2):194-201. 1991.
- LaGrenade, L., *et al.* Infective dermatitis of Jamaican children: a marker for HTLV-I infection. Lancet, Dec 1;336(8727):1345-7. 1990.
- Lambert, S., *et al.* HTLV-1 uses HSPG and neuropilin-1 for entry by molecular mimicry of VEGF165. Blood, 113(21): 5176-85. 2009.
- Lawn, S. D., *et al.* Contribution of immune activation to the pathogenesis and transmission of human immunodeficiency virus type 1 infection. Clin Microbiol Rev, 14(4): 753-77, table of contents. 2001.
- Levy, J. A. HIV pathogenesis: 25 years of progress and persistent challenges. Aids, 23(2): 147-60. 2009.
- Lugada, E. S., *et al.* Population-based hematologic and immunologic reference values for a healthy Ugandan population. Clin Diagn Lab Immunol, Jan;11(1):29-34. 2004.
- Machuca, A., *et al.* The effect of antiretroviral therapy on HTLV infection. Virus Res, Oct 30;78(1-2):93-100. 2001.
- Machuca, A. & Soriano, V. In vivo fluctuation of HTLV-I and HTLV-II proviral load in patients receiving antiretroviral drugs. Acquir Immune Defic Syndr, Jun 1;24(2):189-93. 2000.
- Manel, N., *et al.* The ubiquitous glucose transporter GLUT-1 is a receptor for HTLV. Cell, 115(4): 449-59. 2003.

Manns, A. and W. A. Blattner. The epidemiology of the human T-cell lymphotropic virus type I and type II: etiologic role in human disease. Transfusion, 31(1): 67-75. 1991.

Manns, A., *et al.* Human T-lymphotropic virus type I infection. Lancet, 353(9168): 1951-8. 1999.

Marcus T.T. Silva, *et al.* Neurological manifestations of coinfection with HIV and human T-lymphotropic virus type 1. AIDS, 26:521–526. 2012,.

Melbye, M., *et al.* HTLV-1 infection in a population-based cohort of older persons in Guinea-Bissau, West Africa: risk factors and impact on survival. Int J Cancer, 76(3): 293-8. 1998.

Melo, J., *et al.* HIV and HTLV prevalences among women seen for sexually transmitted diseases or pregnancy follow-up in Maputo, Mozambique. J Acquir Immune Defic Syndr, 23(2): 203-4. 2000.

Ministério da Saúde: guia de bolso: DOENÇAS INFECCIOSAS E PARASITÁRIAS. GUIA DE BOLSO, 7a edição revista. BRASÍLIA – DF 2008.

MISAU (2009). Inquérito Nacional de Prevalência, Riscos Comportamentais e Informação sobre o HIV e SIDA em Moçambique - INSIDA. Maputo, MISAU.

Moreira, E. D. Jr., *et al.* Seroepidemiology of human T-cell lymphotropic virus type I/II in northeastern Brazil. J Acquir Immune Defic Syndr, Aug;6(8):959-63. 1993.

Mueller, N., *et al.* Findings from the Miyazaki Cohort Study. J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol, 13 Suppl 1: S2-7. 1996.

- Munoz, E. and A. Israel. Activation of NF-kappa B by the Tax protein of HTLV-1. Immunobiology, 193(2-4): 128-36. 1995.
- Murphy, E. L., *et al.* Sexual transmission of human T-lymphotropic virus type I (HTLV-I). Ann Intern Med, 111(7): 555-60. 1989.
- Nadler, J. P., *et al.* Management of coinfection with human immunodeficiency virus and human T-cell lymphotropic virus type I. Clin Infect Dis, 23(2): 415. 1996.
- Nagai, M., *et al.* Analysis of HTLV-I proviral load in 202 HAM/TSP patients and 243 asymptomatic HTLV-I carriers: high proviral load strongly predisposes to HAM/TSP. J Neurovirol, Dec;4(6):586-93. 1998.
- Naucler, A., *et al.* Association between HTLV-1 and HIV-2 infections in Bissau, Guinea-Bissau. Aids, 6(5): 510-1. 1992.
- Ohtsuki, Y., *et al.* Ultrastructural study on type C virus particles in a human cord T-cell line established by co-cultivation with adult T-cell leukemia cells. Arch Virol, 73(1): 69-73. 1982.
- Olaleye, D. O., *et al.* Evidence of serological cross-reactivities with human immunodeficiency virus types 1 and 2 and human T-lymphotropic virus types I and II in sera of pregnant women in Ibadan, Nigeria. Int J Epidemiol, 24(1): 198-203. 1995.
- Osame, M., *et al.* HTLV-I associated myelopathy, a new clinical entity. Lancet, 1(8488): 1031-2. 1986.
- Overbaugh, J. and C. R. Bangham. Selection forces and constraints on retroviral sequence variation. Science, 292(5519): 1106-9. 2001.
- Pantaleo, G. and A. S. Fauci. New concepts in the immunopathogenesis of HIV infection. Annu Rev Immunol, 13: 487-512. 1995.

- Pedroso, C., *et al.* Coinfection by HIV-1 and human lymphotropic virus type 1 in Brazilian children is strongly associated with a shorter survival time. J Acquir Immune Defic Syndr, Dec 1;58(4):e120. 2011.
- Poiesz, B. J., *et al.* Comparative performances of an HTLV-I/II EIA and other serologic and PCR assays on samples from persons at risk for HTLV-I/II infection. Transfusion, v. 40, n. 8, p. 924-30, 2000.
- Poiesz, B. J., *et al.* Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous T-cell lymphoma. Proc Natl Acad Sci U S A, 77(12): 7415-9. 1980.
- Proietti, F. A., *et al.* Global epidemiology of HTLV-I infection and associated diseases. Oncogene, 24(39): 6058-68. 2005.
- Quintó, L., *et al.* Haematological and biochemical indices in young African children: in search of reference intervals. Trop Med Int Health, Nov;11(11):1741-8. 2006.
- Romanelli, L. C., *et al.* Human T cell lymphotropic virus (HTLV-1): when to suspect infection?. Rev Assoc Med Bras, May-Jun;56(3):340-7. 2010.
- Roucoux, D. F., *et al.* A prospective study of sexual transmission of human T lymphotropic virus (HTLV)-I and HTLV-II. J Infect Dis, 191(9): 1490-7. 2005.
- Schechter, M., *et al.* Coinfection with human T-cell lymphotropic virus type I and HIV in Brazil. Impact on markers of HIV disease progression. Jama, 271(5): 353-7. 1994.
- Seiki, M., *et al.* Human adult T-cell leukemia virus: complete nucleotide sequence of the provirus genome integrated in leukemia cell DNA. Proc Natl Acad Sci U S A, 80(12): 3618-22. 1983.

- Shaw, G. M., *et al.* HIV Transmission. Cold Spring Harb Perspect Med, Oct 6. pii: cshperspect.a006965v1. doi: 10.1101/cshperspect.a006965. 2012.
- Steele, A. D., *et al.* Low prevalence of human T lymphotropic virus type I in !Kung San in Bushmanland, Namibia. Am J Trop Med Hyg, 51(4): 460-5. 1994.
- Suzuki, T. and Yoshida, M. [Interaction of HTLV-1 Tax with cellular factors]. Tanpakushitsu Kakusan Koso, 41(8 Suppl): 1249-57. 1996.
- Swainson, L., *et al.* Glucose transporter 1 expression identifies a population of cycling CD4+ CD8+ human thymocytes with high CXCR4-induced chemotaxis. Proc Natl Acad Sci U S A, 102(36): 12867-72. 2005.
- Tanaka, G., *et al.* The clonal expansion of human T lymphotropic virus type 1-infected T cells: a comparison between seroconverters and long-term carriers. J Infect Dis, 191(7): 1140-7. 2005.
- Taylor, M. B., *et al.* Seroepidemiology of HTLV-I in relation to that of HIV-1 in the Gauteng region, South Africa, using dried blood spots on filter papers. Epidemiol Infect, 117(2): 343-8. 1996.
- Thomson, M. M., *et al.* Molecular epidemiology of HIV-1 genetic forms and its significance for vaccine development and therapy. Lancet Infect Dis, 2(8): 461-71. 2002.
- UNAIDS. GLOBAL HIV/AIDS RESPONSE: Epidemic update and health sector progress towards Universal Access 2011. (UNAIDS - 2011).
- Van den Hoek, J. A., *et al.* Low prevalence of human T-cell leukaemia virus-I and -II infection among drug users in Amsterdam, The Netherlands. J Med Virol, 34(2): 100-3. 1991.

- Verdier, M., *et al.* Prevalence of antibody to human T cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) in populations of Ivory Coast, West Africa. J Infect Dis, Sep;160(3):363-70. 1989.
- Vine, A. M., *et al.* The role of CTLs in persistent viral infection: cytolytic gene expression in CD8+ lymphocytes distinguishes between individuals with a high or low proviral load of human T cell lymphotropic virus type 1. J Immunol, 173, 5121-9. 2004.
- Walshe, M. M., Infective dermatitis in Jamaican children. Br J Dermatol, Apr;79(4):229-36. 1967.
- Wattel, E., *et al.* Clonal expansion of human T-cell leukemia virus type I-infected cells in asymptomatic and symptomatic carriers without malignancy. J Virol, 69(5): 2863-8. 1995.
- Weiss, S. H., *et al.* Emerging high rates of human T-cell lymphotropic virus type I (HTLV-I) and HIV infection among U.S. drug abusers (Abstract). III International Conference on AIDS. Washington, DC, June 1–5, 1987.
- WHO, UNAIDS and UNICEF, Global HIV/AIDS response: epidemic update and health sector progress towards universal access: progress report. 2011.
- Wiktor, S. Z., *et al.* Infection with human T lymphotropic virus types I and II in sexually transmitted disease clinics in Baltimore and New Orleans. J Infect Dis, May;165(5):920-4. 1992.
- Yamaguchi, K. Human T-lymphotropic virus type I in Japan. Lancet, 343(8891): 213-6. 1994.
- Yamaguchi, K. and T. Watanabe. Human T lymphotropic virus type-I and adult T-cell leukemia in Japan. Int J Hematol, 76 Suppl 2: 240-5. 2002.

Yamano, Y., *et al.* Abnormally high levels of virus-infected IFN-gamma+ CCR4+ CD4+ CD25+ T cells in a retrovirus-associated neuroinflammatory disorder. PLoS One, 4(8): e6517. 2009.

Yoshida, M. HTLV-1 Tax: regulation of gene expression and disease. Trends Microbiol, 1(4): 131-5. 1993.

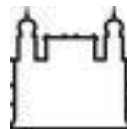
Yoshida, M., *et al.* HTLV-1 oncoprotein tax and cellular transcription factors. Curr Top Microbiol Immunol, 193: 79-89. 1995.

Zehender, G., *et al.* High prevalence of false-negative anti- HTLV type I/II enzyme-linked immunosorbent assay results in HIV type 1-positive patients. AIDS Res Hum Retroviruses, v. 13, n. 13, p. 1141-6, 1997.

Anexo I: Questionário de recolha de dados



MINISTÉRIO DA SAÚDE
INSTITUTO NACIONAL DE SAÚDE
DEPARTAMENTO DE IMUNOLOGIA



Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

Seroprevalência de Vírus Linfotrófico T Humano Tipo 1 (HTLV-1) em crianças moçambicanas HIV 1/2 seropositivas

Questionário

A. Identificação

Data: |__|_|-|__|_|-|__|_|_|_|_|

NID: |__|_|-|__|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_| N°HDD: |__|_|-|__|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|

Idade: |__|_|_| (anos/ meses) Sexo: M F

B. Dados Maternos

Idade: |__|_|_| anos Vivo: Sim Não Sem informação

Resultado HIV: (+) (-) Indeterminado Não fez Sem informação

Faz tratamento com ARVs: Sim Não

Se SIM, ano de início : |__|_|_|_|_|

C. Dados Paternos

Idade: |__|_|_| anos Vivo: Sim Não Sem informação

Resultado HIV: (+) (-) Indeterminado Não fez Sem informação

Faz tratatmento com ARVs: Sim Não

Se SIM, ano de início : |__|_|_|_|_|

D. Antecedentes Clínicos

Febre > 1 mês: Sim Não SI

Tosse > 1 mês: Sim Não SI

Diarreia > 1 mês: Sim Não SI

Falência de crescimento: Sim Não SI

Infecções de repetição: Sim Não SI

Candidíase > 1

episódio: Sim Não SI

Tuberculose tratada: Sim Não SI

Pneumonia grave

ou de repetição: Sim Não SI

Outra, mencione: _____

E. Antecedentes Pessoais

Tipo de parto: Cesariana Vaginal

Termo: Sim

Não

Peso ao nascimento (gramas): |__|__|__|__|

PTV- mãe: Sim Não SI

Quais: NVP AZT 3TC Outro: _____

PTV - nascença: Sim Não SI

Quais: NVP AZT + 3TC Outro: _____

Patologia Neonatal: _____

Tranfusão sanguínea: Sim Não SI

Injecções: Sim Não SI

Extracção dentária: Sim Não SI

Intervenção cirúrgica: Sim Não SI

Escarificações: Sim Não SI

F. Nutrição e vacinação

Aleitamento materno: Sim Não SI

Exclusivo: Sim Não SI

PAV: Sim Não SI Irregular

G. Exame físico

Peso (Kg): |__|__|.|__|

IMC (Kg/m²): |__|__|.|__|

Altura (cm): |__|__|__|

PC (cm): |__|__|__|

Estadio clínico HIV (OMS): |__|

Indicador OMS: _____

Dermatite: Sim Não

Se sim mencione tipo de dermatite presente:

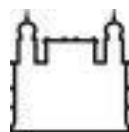
Atópica Seborreica Eczema Fúngica Sarna

Outras:

Anexo II: Formulário de consentimento informado.



MINISTÉRIO DA SAÚDE
INSTITUTO NACIONAL DE SAÚDE
DEPARTAMENTO DE IMUNOLOGIA



Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

FORMULÁRIO DE CONSENTIMENTO ORAL

Seroprevalência do Vírus Linfotrófico T Humano Tipo -1 em Crianças Moçambicanas HIV 1/2 Seropositivas

O/A Sr.(a) está sendo solicitado a aceitar que o seu parente participe, como voluntário, num estudo científico a ser conduzido pelo Departamento de Imunologia do Instituto Nacional de Saúde. Antes de tomar a sua decisão é importante que leia com atenção esta folha de Informação e Consentimento, que lhe dará a informação necessária sobre os vários aspectos do estudo. O estudo foi aprovado pelo Comité Nacional de Bioética para a Saúde de Moçambique. Não hesite em colocar ao seu clínico qualquer questão que lhe ocorra durante a sua participação neste estudo.

1. OBJECTIVOS DO ESTUDO

O objectivo deste estudo é determinar a seroprevalência da infecção por HTLV-1 em crianças Moçambicanas seropositivas para o HIV atendidas em Unidades Sanitarias da Cidade de Maputo.

2. INFORMAÇÃO GERAL

O vírus da imunodeficiência humana (HIV) é o agente causador do SIDA (síndrome da imunodeficiência adquirida) enquanto que o vírus linfotrófico T humano (HTLV) pode causar vários tipos de doenças, tais como cancro de células T (um grupo de células brancas do sangue), mielopatia (doença do musculos), doença do sistema nervoso central que leva a paralisia ou fraqueza dos membros inferiores e dermatite infecciosa (doenças da pele). Em muitos pacientes, estas doenças ocorrem em simultâneo. Para ambas as doenças, ainda não existe cura.

A literatura internacional não dispõe de informação suficiente sobre a patogênese da co-infecção HIV/HTLV-1 em crianças. Assim sendo, este é o primeiro estudo que vai descrever de uma forma multidisciplinar alguns aspectos clínicos e laboratoriais da infecção pelo HTLV-1 em crianças moçambicanas infectadas pelo HIV.

Em Moçambique a prevalência de HTLV em pacientes adultos infectados pelo HIV é de 4.5% e que a mesma cursa com a dissociação entre os parâmetros clínico e imunológico. No entanto, até a data, não existe em Moçambique um estudo realizado em crianças que demonstre estes factos científicos bem como informação sobre a co-infecção na população pediátrica. Assim sendo, este estudo pretende gerar conhecimento novo sobre a co-infecção HIV/HTLV-1 em crianças moçambicanas residentes na cidade de Maputo. Os resultados deste estudo permitirão aos clínicos e pesquisadores desenhar novas estratégias terapêuticas e diagnósticas para abordagem clínica e também adequar as actuais recomendações para o seguimento das crianças co-infectadas caso estas também apresentem uma linfocitose.

O presente projecto de pesquisa será realizado no Centro de Saúde Polana Caniço, no Centro de Saúde 1º de Maio e no Hospital Geral de Mavalane. Serão seleccionadas, aleatoriamente, 1068 crianças que atendem a estas unidades sanitárias. Na primeira fase do estudo, todas as crianças serão rastreadas para anticorpos anti-HTLV-1. Na segunda fase, cada criança com infecção por HTLV-1 será pareada com duas sem infecção por HTLV-1, tendo em conta o estadiamento clínico do HIV, a idade e o sexo.

Será feita uma comparação e descrição dos parâmetros clínicos, marcadores imuno-hematológicos, padrão de resposta celular, carga viral do HIV e pró-viral do HTLV-1.

Toda a testagem laboratorial será realizada no Departamento de Imunologia do Instituto Nacional de Saúde, que possui tecnologia e pessoal qualificado para executar todos os procedimentos.

O estudo será conduzido por Ivan manhiça, Médico, a frequentar o curso de pós-graduação em Pesquisa Clínica de Doenças Infecciosas, para obtenção de grau de mestrado, ministrado pelo Instituto Oswaldo Cruz, Brasil, sob a supervisão da Dra. Valdilea Veloso .

3. SELECÇÃO DOS PARTICIPANTES

Serão elegíveis para participar no estudo todas as crianças que obedeçam os seguintes critérios:

- Idade entre os 18 meses e 14 anos com teste rápido de HIV-Positivo;
- Crianças que estejam em TARV;
- Crianças menores de 18 meses de idade com PCR-RNA Positivo;
- Crianças cujo Tutor legal aceite a sua participação no estudo.

Se a criança não tiver iniciado o TARV será convidada a participar na segunda fase do estudo;

4. PROCEDIMENTOS DO ESTUDO

Caso o Senhor/a concorde com a participação do seu parente neste estudo, será-lhe-á feito um questionário no qual terá que responder a algumas questões pessoais sobre si e sobre a sua doença incluindo o tratamento da mesma. Por exemplo, algumas das perguntas que serão-lhe-ao feitas são: informação sobre a sua data de nascimento e quando foi diagnosticado o HIV.

Depois do questionário, iremos colher, ao seu parente, uma amostra de sangue equivalente a 1 colher de sopa (5 ml). Esta amostra será usada para determinar níveis de células CD4, determinar parâmetros hematológicos e realizar o rastreio de HTLV-1. Com excepção de HTLV-1, todas as outras análises que propomos fazer neste estudo são normalmente feitas durante o seguimento dos pacientes no Serviço Nacional de Saúde. Após a colheita, as amostras de sangue serão enviadas para o Departamento de Imunologia do Instituto Nacional de Saúde onde serão conservadas e processadas. Adicionalmente, o clínico fará um exame médico para identificar outros sinais e sintomas relacionados com HIV e HTLV-1.

Dentro de seis semanas após a primeira consulta, o Sr/Sra. será solicitado para voltar a segunda consulta com o seu parente. O seu médico dará a informação e irá explicar os resultados dos testes realizados. Uma cópia destes resultados estará dentro do processo clínico para que sejam consultados sempre que for necessário durante o seguimento clínico. Outra cópia vai ser arquivada de uma forma segura e confidencial no Departamento de Imunologia e será destruída logo após a divulgação dos resultados deste estudo.

Caso o seu parente, apresente o resultado de HTLV-1 reactivo (positivo) ou não reactivo (negativo) e que não esteja a receber o TARV, será-lhe-á solicitada uma segunda colheita amostra de sangue (5 ml) para determinar a carga viral de HIV-1, a carga pró-viral de HTLV-1 e realizar estudos para a determinação de alguns parâmetros imunológicos (ie. determinação de diferentes células de defesa).

Estes resultados serão-lhe-ão entregues dois meses após a segunda consulta. Referir que estes resultados não interferem no seguimento clínico normal do seu parente. O seu médico dará a informação e irá explicar os resultados dos testes realizados. Uma cópia destes resultados estará dentro do processo clínico para serem consultados sempre que for necessário durante o seguimento clínico. Outra cópia vai ser arquivada de uma forma segura e confidencial no Departamento de Imunologia e será destruída logo após a divulgação dos resultados deste estudo.

6. VANTAGEM DE PARTICIPAÇÃO NO ESTUDO

O/A Sr.(a) e o seu clínico assistente terão acesso aos resultados de exames e estes poderão ser usados para a monitoria e seguimento clínico do seu parente.

7. RISCO, STRESS, DOR E DESCONFORTO ASSOCIADOS A SUA PARTICIPACAO

Tirar sangue pode causar medo e um pouco de dor. Mas o técnico tem experiência e tudo fará para tornar o mais confortável possível.

Coleta de sangue: os riscos para o participante são mínimos, apenas os decorrentes da retirada de sangue por punção venosa, tais como dor no momento e local da picada e sangramento (até 5 segundos após a punção).

8. INFORMAÇÃO ACERCA DA CONFIDENCIALIDADE

Toda a informação colhida durante a participação neste estudo será tratada de forma confidencial. Os investigadores comprometem-se a não revelar a identidade do seu parente em qualquer publicação resultante deste estudo.

9. DIREITOS DURANTE A PARTICIPAÇÃO NESTE ESTUDO

Os registos relativos à participação do seu parente serão usados para os efeitos deste estudo e para a monitoria clínica do mesmo.

No início do estudo ser-lhe-á dado um número de identificação do estudo e este número será usado em todos os formulários e amostras laboratoriais. Apenas membros do estudo, do comité de ética e a pessoa encarregada da monitorização do estudo terão acesso a informação que liga o seu nome com o seu número do estudo. Os dados recolhidos serão tornados anónimos antes de introdução em qualquer computador.

Poderá ter acesso à informação clínica e dos exames laboratoriais do seu parente em qualquer altura. A sua participação no estudo é completamente voluntária. A participação no estudo não custará nada. Todos os testes laboratoriais são gratuitos. Se recusar participar no estudo continuará a receber o seguimento do HIV na consulta da mesma forma que vem a fazer. O seu parente pode retirar-se do estudo em qualquer altura sem que isto afecte os seus cuidados médicos presentes ou futuros .

10. QUEM PODE CONTACTAR EM CASO DE PROBLEMAS?

Caso haja alguma questão relacionada a este estudo deve contactar:
Dr. Ivan Manhiça, coordenador do estudo (Tel: 82-3066407 ou 21-309317)

11. DECLARAÇÃO DO PARTICIPANTE:

Fui informado verbalmente e por escrito sobre este estudo e compreendo de o quê se trata. Sei também quem contactar se necessitar mais informação. Compreendo que a confidencialidade será mantida. Compreendo que sou livre de retirar do estudo o meu Parente em qualquer altura sem que isto afecte os cuidados normalmente recebidos. Concordo com a participação do meu Parente neste estudo como sujeito voluntário e levarei uma cópia desta folha de informação para guardar.

Data e hora:

Nome do /Tutor Legal

Assinatura (ou impressão do polegar) do Tutor Legal

12. DECLARAÇÃO DO INVESTIGADOR:

Eu, abaixo-assinado, defini e expliquei ao voluntário/Tutor Legal numa linguagem que ele compreende, os procedimentos do estudo, os seus objectivos e o risco e benefícios associados com a sua participação. Informe o voluntário que a confidencialidade será mantida e que este é livre de se retirar do ensaio em qualquer altura sem que isto afecte os cuidados que recebe na clínica. Seguindo as minhas definições e explicações o voluntário concorda participar no estudo.

Data e hora

Nome do investigador

Assinatura

Anexo III: Aprovação do Comité de Ética



REPÚBLICA DE MOÇAMBIQUE

MINISTÉRIO DA SAÚDE

COMITÉ NACIONAL DE BIOÉTICA PARA A SAÚDE

Exma(s) Senhora(s)
Dr. Ivan Manhiça
Maputo

Ref.173 /CNBS

Data 18 de Maio de 2010

Assunto: Parecer sobre o estudo "Seroprovalência do Vírus linfotrófico T Humano Tipo 1 (HTLV-1) em crianças Moçambicanas HIV 1/2 Seropositivas ".

O Comité Nacional de Bioética para a Saúde (CNBS) analisou o protocolo intitulado: **"Seroprovalência do Vírus linfotrófico T Humano Tipo 1 (HTLV-1) em crianças Moçambicanas HIV 1/2 Seropositivas "**. Sobre o mesmo chegou a seguinte conclusão:

O CNBS não vê nenhum inconveniente de ordem ética que impeça a aprovação da nova versão do Consentimento informado.

Contudo, recomenda aos investigadores que o mantenham informado do decurso do estudo.

Faz notar que a aprovação ética não substitui a autorização administrativa.

Sem mais de momento as nossas cordiais saudações.

O Presidente

Dr. João Manuel de Carvalho Fumane

ENDEREÇO:
 MINISTÉRIO DA SAÚDE
 C. POSTAL 264
 Av. Eduardo Mondlane/Salvador Allende
 MAPUTO – MOÇAMBIQUE

Telefones: 430814/427131(4)
 Telex: 6-239 MISAU MO
 FAX: 258 (1) 426547
 258 (1) 33320

Anexo IV: Estadiamento da infecção pelo HIV na idade pediátrica (menores de 15 anos de idade).

Estágio Clínico I
<ul style="list-style-type: none"> • Assintomática • Linfadenopatia generalizada persistente
Estágio Clínico II
<ul style="list-style-type: none"> • Hepatoesplenomegalia • Erupções papulares pruriginosas • Dermatite seborréica • Infecção pelo Papiloma Vírus Humano • Molusco contagioso • Infecções fúngicas nas unhas • Ulcerações orais • Eritema gengival linear • Queilite angular • Alargamento da parótida • Herpes zoster • Infecções do trato respiratório recorrentes ou crónicas (otite média, sinusite, otorreia)
Estágio Clínico III
<ul style="list-style-type: none"> • Desnutrição moderada inexplicável que não responda adequadamente à terapia padrão • Diarréia persistente inexplicável (14 dias ou mais) • Febre persistente inexplicada (intermitente ou constante, por mais de um mês) • Candidíase oral (período neonatal fora) • Leucoplasia pilosa oral • Tuberculose pulmonar • Pneumonia bacteriana grave recorrente • Doença pulmonar crónica associada ao VIH, incluindo bronquiectasia • Pneumonite intersticial linfóide (LIP) • Anemia inexplicada (<80 g / l), e, ou neutropenia (<1000/μl) e ou trombocitopenia (<50 000/μl) durante mais de um mês
Estágio Clínico IV
<ul style="list-style-type: none"> • Emagrecimento severo inexplicável ou desnutrição grave que não responda adequadamente à terapia padrão • Pneumonia por Pneumocystis Carini • Infecções bacterianas graves recorrentes (por exemplo, empiema, piomiosite, ou infecção articular, meningite, pneumonia) • Infecção crónica como herpes simplex (orolabial ou cutânea de duração superior a um mês) • Tuberculose extrapulmonar • Sarcoma de Kaposi • Candidíase esofágica • Infecção no Sistema nervoso central como toxoplasmose (fora do período neonatal) • Encefalopatia associada ao HIV • Infecção por Citomegalovírus (retinite ou infecção de outros órgãos além do fígado, baço ou nódulos linfáticos; início na idade de um mês ou mais) • Criptococose extrapulmonar incluindo meningite • Qualquer micose endêmica disseminada (histoplasmose extrapulmonar por exemplo,

coccidiomicose, peniciliose)

- Criptosporidiose
- Isosporíase
- Infecção disseminada por micobactérias não-tuberculosas
- Candidíase da traqueia, brônquios e pulmões
- linfoma não-Hodgkin
- Leucoencefalopatia multifocal progressiva (PML)
- Nefropatia associada ao VIH ou cardiomiopatia associada ao HIV

Fonte: OMS

Anexo V: Lista dos Voluntários Coinfectados

Código do Estudo	Código do Lab	NID	Iniciais	Idade	Sexo	Data do recrutamento	TARV S/N	Estádio OMS	Linha T	CD8 %	CD8 Abs	CD4 %	CD4 Abs	ELISA	PCR HTLV-I	CPV (%PBMC)
HP0023	129976	07/484	PC	7a	m	07-12-2010	s	2	1ª	42	2600	16	1018	Pos	Pos	3.66
HP0048	130511	09/292	OC	10a	f	10-12-2010	s	3	1ª	53	2034	26	1003	Pos	Pos	ND
HP0070	130740	08/214	IM	3a	f	13-12-2010	s	2	1ª	35	1616	26	1194	Pos	Pos	0.67
HP0185	132510	06/177	CC	13a	m	29-12-2010	s	3	1ª	41	1315	31	1012	Pos	Pos	ND
HP0193	132693	08/109	ZS	4a	m	30-12-2010	n	2	1ª	37	1771	19	919	Pos	Pos	ND
HP0207	132842	07/367	CC	4a	f	03-01-2011	s	2	1ª	39	1570	27	1070	Pos	Pos	ND
HP0209	132844	06/217	FA	7a	m	03-01-2011	s	3	1ª	34	724	35	737	Pos	Pos	ND
HP0218	133219	10/007	GA	2a	m	04-01-2011	s	4	1ª	31	1819	41	2363	Pos	Pos	ND
HP0227	133228	07/036	JJ	9a	m	04-01-2011	s	2	1ª	47	1134	17	413	Pos	Pos	ND
HP0243	133506	10/027	AM	2a	f	06-01-2011	s	2	1ª	24	1499	29	1817	Pos	Pos	ND
HP0265	133685	10/155	MT	2a	m	07-01-2011	s	4	1ª	23	1438	26	1622	Pos	Pos	ND
HP0280	133879	07/214	SA	12a	m	10-01-2011	s	2	1ª	40	1297	19	616	Pos	Pos	ND
HP0316	134693	09/167	JJ	7a	m	17-01-2011	s	2	1ª	38	1307	29	1017	Pos	Pos	ND
HP0322	134699	06/340	JL	4a	m	17-01-2011	s	2	1ª	35	2310	29	1885	Pos	Pos	ND
HP0382	135777	07/502	AL	8a	f	25-01-2011	s	3	1ª	33	982	27	818	Pos	Pos	ND
HP0417	136116	08/215	EM	4a	m	27-01-2011	n	2	1ª	45	2180	11	554	Pos	Pos	ND
HP0435	136290	07/313	EJ	7a	f	28-01-2011	s	3	1ª	56	2279	16	652	Pos	Pos	ND
HP0452	136447	07/272	EM	5a	f	31-01-2011	n	2	1ª	39	823	25	533	Pos	Pos	ND
HP0454	136600	07/018	JA	12a	m	01-02-2011	s	2	1ª	43	1381	30	959	Pos	Pos	ND
HP0455	136599	08/077	ECM	8a	m	01-02-2011	n	3	1ª	57	1744	17	527	Pos	Pos	ND
HP0468	136935	08/245	SR	12a	m	04-02-2011	n	3	1ª	43	1936	11	517	Pos	Pos	ND
HP0478	138219	10/066	HC	8a	f	16-02-2011	n	2	1ª	39	983	23	579	Pos	Pos	ND
HP0489	138488	07/050	LA	7a	f	18-02-2011	s	2	1ª	31	1137	35	1283	Pos	Pos	ND
HP0502	139225	09/221	JJM	2a	m	24-02-2011	s	4	1ª	23	1422	30	1812	Pos	Pos	ND
HP0506	139229	10/169	LO	6a	m	24-02-2011	n	1	1ª	32	1219	35	1309	Pos	Pos	ND
HP0512	139373	2874/10	CZ	3a	f	25-02-2011	s	2	1ª	21	1026	39	1889	Pos	Pos	ND
HP0525	139507	9431/06	CA	13a	f	28-02-2011	s	3	2ª	54	1192	18	388	Pos	Pos	ND
HP0547	139875	2546/09	SF	7a	m	02-03-2011	s	2	1ª	62	2484	16	621	Pos	Pos	ND
HP0553	139869	2804/09	MH	2a	m	02-03-2011	s	1	1ª	16	1047	47	2981	Pos	Pos	ND
HP0563	140024	449/10	SD	1a	m	03-03-2011	s	1	1ª	38	2438	36	2317	Pos	Pos	ND
HP0611	140907	4296/08	MT	12a	f	10-03-2011	s	2	1ª	41	854	20	413	Pos	Pos	2.28
HP0732	142943	7931/11	JE	9m	f	28-03-2011	n	2	1ª	51	6472	16	2008	Pos	Pos	ND
HP0788	144755	9326/09	AA	7a	m	13-04-2011	s	4	1ª	36	963	43	1141	Pos	Pos	ND
HP0811	145440	1226/10	JE	4a	f	19-04-2011	s	2	1ª	33	1526	37	1732	Pos	Pos	ND
HP0821	145766	89904/09	AE	9a	m	21-04-2011	s	3	1ª	34	1483	23	1000	Pos	Pos	ND
HP0852	146282	599/11	MD	4a	m	03-05-2011	s	3	1ª	18	2361	67	8888	Pos	Pos	21.06
HP0888	148693	297/11	ZM	6a	f	23-05-2011	s	3	1ª	27	1205	30	1326	Pos	Pos	ND