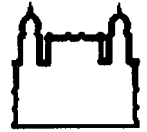




**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ**



**UFBA**

**Curso de Pós-Graduação em Patologia**

**FIOCRUZ**

**Dissertação de Mestrado**

**ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO E IMUNOLÓGICO DA  
ASSOCIAÇÃO ENTRE *Strongyloides stercoralis* E HTLV-1**

**MARIA AURÉLIA DA FONSECA PORTO**

**Salvador - Bahia  
1999**



001731

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
FACULDADE DE MEDICINA  
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ**

**Curso de Pós-Graduação em Patologia**

**ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO E IMUNOLÓGICO DA  
ASSOCIAÇÃO ENTRE *Strongyloides stercoralis* E HTLV-1**

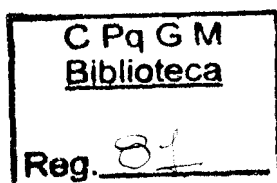
**MARIA AURÉLIA DA FONSECA PORTO**

**Orientador: Prof. Dr. EDGAR M. DE CARVALHO FILHO**

Dissertação apresentada para obtenção  
do grau de mestre em Patologia, área de  
concentração em Patologia Experimental.

Salvador- Bahia

1999



Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca do Centro de Pesquisas  
Gonçalo Moniz – FIOCRUZ – Salvador – BA

Porto, Maria Aurélio da Fonseca

839e Estudo epidemiológico e imunológico da associação entre  
*Strongyloides stercoralis* e HTLV-1 / Maria Aurélio da Fonseca  
Porto. \_ Salvador: UFBA / CPqGM, 1999.  
83p. : il.

Dissertação (Mestrado em Patologia) - Universidade  
Federal da Bahia, 1999.

1. *Strongyloides stercoralis*. 2. Virologia. 3. Imunologia. I.  
Título.


CDU 616.995.1:577.27

1.432

616.995.1:577.27  
1999

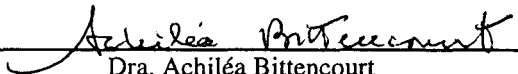
FOLHA DE APROVAÇÃO

COMISSÃO EXAMINADORA




---

Dr. Carlos Brites  
Prof. Adjunto  
FAMED/UFBA



---

Dra. Achiléa Bittencourt  
Prof. Adjunto  
FAMED - UFBA



---

Dr. Edgar M. de Carvalho Filho  
Livre Docente  
FAMED - UFBA

Dedico este trabalho ao meu pai, amigo e colega de profissão , **Lauro de Britto Porto**, por ter me transmitido com sua sabedoria e inspiração "que é preciso viver ativamente como se fosse morrer amanhã e aprender intensamente como se fosse viver para sempre" .

# Homenagem

Aos **pacientes** pela confiança e permanente colaboração com o meu trabalho , a minha afetuosa homenagem e gratidão.

## Agradecimentos

Às equipes dos Bancos de Sangue (Serviço de Transfusão de Sangue e Hemocentro da Bahia), indispensáveis ao êxito deste trabalho, pelo carinho, competência e disposição constante em ajudar.

Ao Dr. Franklin Neva, que muito colaborou, não somente com o seu grande conhecimento, mas também através do fornecimento de materiais essenciais ao desenvolvimento deste trabalho.

Aos professores Dr. Galvão Castro e Dr. Edson Moreira pelos conhecimentos transmitidos e críticas construtivas elaboradas.

Agradecimentos especiais a Glória Orge, Silvane Braga e Olívia Bacellar pela importante colaboração em várias etapas deste trabalho, com dedicação e competência .

A Noilson Gonçalves pela eficiente realização dos testes de Western Blot para confirmação do vírus HTLV-1.

A Prof. Leda Alcântara pela realização dos parasitológicos de fezes, fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho.

A Dilma Simplicia, sempre solidária , pelo apoio dado no contato com os pacientes.

A Carlos Santos pela valiosa ajuda prestada nos cálculos estatísticos.

A Dra. Amélia de Jesus pela atenciosa contribuição na elaboração dos gráficos de correlação.

A Ana Fiscina pela ajuda na organização das referências bibliográficas.

Aos amigos do Hospital Universitário Prof. Edgard Santos, Dr. Paulo Machado, Dra. Ilma Araújo, Dr. Agemiro D'Oliveira Júnior, Dr. Roque Pacheco, Virgínia Avelar, Vera Sílvia e Ângela Diniz pelo acolhimento e carinho no cotidiano.

Aos demais membros do Serviço de Imunologia pela cooperação e cuidado nas diversas tarefas: Elbe Myrtes, Lúcia Reis, Jackson Lemos, Orlando Sanches e Clenildo Santos.

A Rosália Meire, pela palavra amiga e incentivo em todos os momentos do desenvolvimento deste trabalho.

Às colegas de mestrado pela agradável convivência.

Às amigas Sandra Maciel, Leticia Castro e Maria da Purificação por terem compartilhado todos os momentos do desenvolvimento deste trabalho com uma escuta ativa, atenta e solidária.

Aos meus irmãos Roberto, Laura e Patrícia. Cada um, a seu jeito, deram o apoio desejado e a palavra amiga de incentivo, confiança e esperança. Ao meu irmão Francisco, a minha eterna saudade.

A minha querida mãe, Maria Aurélia, a certeza de que muito contribuiu, em vida, com o seu amor e fé, para a formação e solidez dos princípios necessários à prática de uma medicina consciente e humanitária.

À UCI-Farma por ter gentilmente cedido as medicações necessárias ao tratamento das parasitoses intestinais diagnosticadas nos pacientes.

À Fundação Oswaldo Cruz pela oportunidade dada para o meu crescimento profissional.



# SUMÁRIO

## LISTA DE ABREVIATURAS

## RESUMO

## ABSTRACT

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	1
1.1	ESTRONGILOIDÍASE.....	1
1.1.1	Ciclo evolutivo e formas clínicas.....	1
1.1.2	Diagnóstico e tratamento.....	5
1.1.3	Aspectos imunológicos.....	9
1.2	HTLV-1.....	15
1.2.1	Aspectos gerais.....	15
1.2.2	Interação do vírus com o sistema imune.....	20
1.3	INFECÇÃO PELO HTLV-1 E ESTRONGILOIDÍASE.....	24
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	28
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	29
3.1	SELEÇÃO DE PACIENTES E DEFINIÇÃO DE GRUPOS.....	29
3.1.1	Voluntários participantes do estudo da prevalência da infecção pelo <i>S. stercoralis</i> .....	29
3.1.2	Voluntários participantes dos estudos sorológicos e do teste de hipersensibilidade imediata.....	30
3.1.3	Voluntários participantes dos estudos de resposta imune celular.....	31
3.2	DIAGNÓSTICO DE ESTRONGILOIDÍASE.....	32
3.3	AVALIAÇÃO DA IMUNIDADE HUMORAL.....	32
3.3.1	Antígeno de <i>S. stercoralis</i> .....	32
3.3.2	Teste cutâneo de hipersensibilidade imediata com antígeno de <i>S. stercoralis</i> .....	34
3.3.3	Determinação de IgE específico contra antígeno de <i>S. stercoralis</i> .....	34
3.3.4	Determinação de IgG específico contra antígeno de <i>S. stercoralis</i> .....	35
3.4	AVALIAÇÃO DA IMUNIDADE CELULAR.....	36
3.4.1	Separação de células mononucleares do sangue periférico.....	36
3.4.2	Dosagem de IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-5, IL-10, TNF- $\alpha$ .....	36
3.5	TESTES SOROLÓGICOS PARA HTLV-1.....	37
3.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	38
<b>4</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	39
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	61
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	74
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	76

## LISTA DE ABREVIATURAS

ADCC	Citotoxicidade celular dependente de anticorpo
ATL	Leucemia e linfoma de células T do adulto
CD	"Cluster of differentiation" (marcador de membrana de células)
DO	Densidade óptica
EDA	Endoscopia digestiva alta
ELISA	Técnica de ensaio imunoenzimático
GMCSF	Fator estimulador de colônia de granulócitos e macrófagos
HAM	Mielopatia associada ao HTLV-1
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
HLA	Antígeno de histocompatibilidade leucocitário
HTLV-1	Vírus linfotrópico para células T humanas tipo 1
HTLV-2	Vírus linfotrópico para células T humanas tipo 2
IFN- $\gamma$	Interferon- $\gamma$
IFN- $\alpha$	Interferon- $\alpha$
IL-10	Interleucina-10
IL-12	Interleucina-12
IL-13	Interleucina-13
IL-16	Interleucina-16
IL-2	Interleucina-2
IL-2R	Receptor de interleucina-2
IL-3	Interleucina-3
IL-4	Interleucina-4
IL-5	Interleucina-5
LTR	Terminações longas repetidas
MHC	Moléculas do complexo de histocompatibilidade principal
NK	Células matadoras naturais
PCR	Reação de polimerase em cadeia
PMA	"Phorbol myristate acetato" (forbol ester)
PPD	Derivado protéico purificado de <i>Micobacterium tuberculosis</i>

SIDA	Síndrome da imunodeficiência adquirida
SNC	Sistema nervoso central
TGF- $\beta$	Fator inibidor de crescimento de célula T
Th1	Linfócitos T auxiliares do tipo 1
Th2	Linfócitos T auxiliares do tipo 2
TNF- $\alpha$	Fator de necrose tumoral- $\alpha$
TNF- $\beta$	Fator de necrose tumoral- $\beta$
TSP	Paraparesia espástica tropical
UI	Unidades internacionais
VCAM-1	Moléculas 1 de adesão célula vascular
VLA-4	Moléculas 4 de ativação muito tardia

## RESUMO

### ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO E IMUNOLÓGICO DA ASSOCIAÇÃO ENTRE *STRONGYLOIDES STERCORALIS* E HTLV-1. MARIA AURÉLIA DA FONSECA PORTO.

Estudos prévios têm mostrado que a coinfeção pelo *S. stercoralis* e pelo HTLV-1 pode resultar no desenvolvimento de formas disseminadas da estrogiloidíase. O presente estudo teve como objetivos: 1) comparar a prevalência de *S. stercoralis* em doadores de sangue infectados ou não pelo HTLV-1, 2) avaliar a eficácia do teste sorológico através da detecção de IgG e IgE específicos contra *S. stercoralis* e do teste de hipersensibilidade imediata no diagnóstico de estrogiloidíase em pacientes coinfectados ou não pelo HTLV-1 e 3) avaliar a resposta imune celular nestes dois grupos. A frequência de infecção pelo *S. stercoralis* no grupo com HTLV-1 foi duas vezes maior do que no grupo sem infecção pelo HTLV-1 ( $p = 0,128$ ) e foi quatro vezes maior, quando foram utilizados como controles, pacientes do Hospital Universitário Prof. Edgard Santos ( $p = 0,01$ ). Quando pacientes com estrogiloidíase foram comparados com os que apresentavam coinfeção pelo HTLV-1 e pelo *S. stercoralis*, não houve diferença entre os níveis de IgG específico contra o antígeno de *S. stercoralis*, nos dois grupos ( $p = 0,54$ ), porém a média dos níveis de IgE em indivíduos com estrogiloidíase não coinfectados foi maior ( $251 \pm 437\text{UI}$ ) do que a média dos indivíduos coinfectados ( $74 \pm 94\text{UI}$ ), ( $p = 0,01$ ). A média dos resultados do teste cutâneo no grupo com estrogiloidíase sem coinfeção foi também maior ( $136 \pm 75\text{mm}^2$ ) que a média do grupo coinfectado pelo HTLV-1 ( $74 \pm 65\text{mm}^2$ ), ( $p = 0,001$ ). A positividade do teste cutâneo foi mais baixa no grupo com estrogiloidíase e coinfeção pelo HTLV-1, quando comparado com o grupo com estrogiloidíase sem coinfeção pelo vírus ( $p = 0,002$ ). Em relação ao teste sorológico (IgE específica contra antígeno de *S. stercoralis*) a positividade deste teste também foi maior no grupo sem coinfeção pelo HTLV-1 ( $p = 0,004$ ). Os níveis de IFN- $\gamma$  e IL-5 nos pacientes coinfectados pelo *S. stercoralis* e HTLV-1 foram  $919 \pm 944$  e  $173 \pm 168\text{pg/ml}$  respectivamente, enquanto nos pacientes apenas com estrogiloidíase foram  $20 \pm 46$  e  $727 \pm 554\text{pg/ml}$  ( $p = 0,01$  e  $p < 0,0001$  respectivamente). Nossos dados mostram que há maior frequência de estrogiloidíase nos indivíduos com infecção pelo HTLV-1 e que a infecção pelo HTLV-1 reduz os níveis de IL-5 e diminui a positividade dos testes cutâneo e sorológico (IgE específico contra antígeno de *S. stercoralis*).

## ABSTRACT

EPIDEMIOLOGIC AND IMMUNOLOGIC STUDY OF THE ASSOCIATION BETWEEN *STRONGYLOIDES STERCORALIS* AND HTLV-1. **MARIA AURÉLIA DA FONSECA PORTO**. Considerable evidence has recently been accumulated concerning complication of strongyloidiasis such as recurrence and severe disease in patients with HTLV-1 infection. The main objectives of the present study were: 1) to determine the prevalence of *S. stercoralis* infection in blood donors infected or not with HTLV-1, 2) to compare the IgG and IgE serological tests for *S. stercoralis* antigens, as well as the immediate hypersensitivity skin test in patients coinfecting with HTLV-1 and *S. stercoralis*, with those having only strongyloidiasis, and 3) to determine how HTLV-1 infection may change the pattern of cytokines secreted by mononuclear cells from patients with strongyloidiasis. The frequency of *S. stercoralis* infection was twice higher in subjects coinfecting with HTLV-1 than in blood donors with only HTLV-1 ( $p = 0.128$ ) and four fold higher than that observed in patients from the Hospital Universitário Prof. Edgard Santos ( $p = 0.01$ ). While specific IgG levels anti *S. stercoralis* were similar in patients with strongyloidiasis when compared with subjects coinfecting with HTLV-1 and *S. stercoralis* ( $p = 0.54$ ), the mean IgE levels in this later group was lower ( $74 \pm 94\text{IU}$ ) than that observed in patients with only strongyloidiasis ( $251 \pm 473\text{IU}$ ), ( $p = 0.01$ ). The size of the skin test induration was also larger in patients with strongyloidiasis ( $136 \pm 75\text{mm}^2$ ), when compared with subjects coinfecting with *S. stercoralis* and HTLV-1 ( $74 \pm 65\text{mm}^2$ ), ( $p = 0.001$ ). Additionally the positivity of the IgE test and of the immediate hypersensitivity skin test was significantly lower ( $p = 0.004$  and  $p = 0.002$  respectively) in the group coinfecting when compared with patients who had only strongyloidiasis. In patients coinfecting, the IFN- $\gamma$  and IL-5 levels were  $919 \pm 944$  and  $173 \pm 168$  pg/ml respectively, while in subjects with only strongyloidiasis the levels of these cytokines were  $20 \pm 46$  and  $727 \pm 554$  pg/ml ( $p = 0.01$  and  $p < 0.0001$  respectively). These data show that HTLV-1 infection leads to a decreasing in the IgE level and, skin test reactivity, in patients coinfecting with *S. stercoralis* and also reduce significantly the levels of IL-5.

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 ESTRONGILOIDÍASE

### 1.1.1 Ciclo evolutivo e formas clínicas

A estrogiloidíase é uma das mais importantes helmintíases intestinais em países tropicais, onde, em algumas regiões, a prevalência pode alcançar 85% (MARCIAL, 1971). No Brasil, alguns estudos epidemiológicos revelam variação de prevalência entre 15% a 82% em zonas rurais (GENTA, 1986) com uma média de 20% (PEDRO et al., 1989). As maiores taxas encontram-se nos estados de Minas Gerais, Amapá, Goiás e Rondônia (VERONESI, 1997). Condições ambientais como clima quente e úmido e socio-econômicas parecem ser responsáveis por esta variação. A doença é causada pelo nematódeo *S. stercoralis* e, embora a maioria das infecções seja assintomática, a apresentação da forma grave é acompanhada por elevadas morbidade e mortalidade. Embora existam outras espécies de *Strongyloides* e a infecção humana causada pelo *Strongyloides fulleborni* tenha sido documentada, o *S. stercoralis* é a espécie mais importante e a única causadora da estrogiloidíase humana em nosso meio (CARVALHO., 1978; RAMACHANDRAN et al., 1992). A transmissão da doença ocorre pela penetração das larvas filarióides infectantes (L3), através da pele humana intacta. As larvas migram para o pulmão pela corrente sanguínea. No pulmão, elas ultrapassam os capilares pulmonares e entram nos alvéolos, sofrendo uma muda para o estágio L4 neste órgão. Em seguida, elas ascendem até a faringe, são deglutidas e atingem a maturação final para verme adulto (fêmeas partenogéticas) na mucosa do intestino delgado. Os ovos liberados atingem maturidade e eclodem liberando as larvas rabditóides (L1) que migram para a luz do intestino. As larvas rabditóides nos estágios, L1 e L2, são eliminadas pelas fezes e

podem se transformar-se em vermes machos ou fêmeas de vida livre. Quando as condições do solo não são favoráveis, as larvas (L2) transformam-se em larvas infectantes (L3). Um modo peculiar de infecção, conhecida como auto-endo-infecção, ocorre pela transformação das larvas rabditóides em filarióides (forma infectante) na luz intestinal, aumentando, assim, a carga parasitária. Esta auto-endo-infecção é responsável pela longa permanência do parasito no hospedeiro, sendo um fator importante no processo que conduz às formas graves da estrogiloidíase. Condições que levam à diminuição do trânsito intestinal, como constipação (CARVALHO, 1978; HAGELSKJAER et al., 1994; PATEY et al., 1990; ROGER & NELSON, 1966), diverticulose (CARVALHO, 1978; ROGER & NELSON, 1966; NEVA, 1986) e megacólon (CARVALHO, 1978) podem favorecer a transformação das larvas no intestino e, conseqüentemente, a auto-endo-infecção. Como estas condições raramente são associadas com formas graves da estrogiloidíase, supõe-se que uma alteração na resposta imune do hospedeiro tenha grande importância neste processo de auto-endo-infecção. Outra forma de auto-infecção (auto-exo-infecção) se dá na região perianal onde as larvas L2 podem se transformar em L3 e penetrar pela pele, atingir a corrente sanguínea e manter o ciclo evolutivo. Em modelos experimentais como o cão, o tempo decorrido entre a penetração da larva infectante na pele e a eliminação de larvas rabditóides nas fezes é de 28 dias ou menos (CARVALHO, 1978).

Clinicamente, a estrogiloidíase pode se apresentar sob forma aguda e na forma crônica, podendo esta última ser assintomática, sintomática ou grave. Como já foi dito anteriormente, a maioria dos indivíduos infectados é assintomática ou oligosintomática.

A forma aguda é pouco detectada em áreas endêmicas, sugerindo ser uma forma com poucas manifestações clínicas. Quando presente, as manifestações clínicas são decorrentes da penetração da larva na pele e da sua migração, causando uma erupção

eritêmato-papulosa, pruriginosa, conhecida como larva currens, que pode desaparecer em poucas horas, devido à rápida migração das larvas. Cada lesão representa uma larva migrando superficialmente através da pele. Estas lesões são freqüentemente vistas na região anal e nádegas, mas podem ocorrer em outras partes do tegumento. Dentre as manifestações respiratórias, a tosse não produtiva é a mais encontrada. Outros sintomas, como indisposição, febre, artralgia e cefaléia podem estar presentes (CARVALHO, 1988; CARVALHO, 1978, PATEY et al., 1990). Sintomas mais graves, como dispnéia e hemoptise, são freqüentes e geralmente ocorrem quando a auto-infecção é intensa. Leucocitose com eosinofilia é um achado comum nas formas agudas da doença.

A forma crônica pode ser leve, moderada ou grave. Quando é leve, geralmente é assintomática. Na forma moderada e grave há predomínio de manifestações digestivas, como dor abdominal, diarréia e vômitos, sendo estas manifestações mais intensas na forma disseminada, podendo levar à desidratação, a distúrbios hidroeletrolíticos, à hipoalbuminemia, e, em alguns casos, à íleo paralítico. Manifestações cutâneas e respiratórias nesta fase podem ocorrer, sendo relacionadas ao processo de auto-endo-infecção. Nestas formas graves da doença, o parasito pode ser documentado em vários órgãos como: fígado, pulmão, coração e sistema nervoso central (SNC). Nestas formas disseminadas também podem ocorrer raramente crises convulsivas, devido ao envolvimento do SNC (MARINHO, 1963; NEEFE, 1973) e hepatite granulomatosa (POLTERA & KATSIMUBURA, 1974), porém são manifestações raras.

Na forma grave, a porcentagem de eosinófilos é normal ou baixa na maioria dos casos, indicando um mau prognóstico associado a alta mortalidade. Em contraste, a eosinofilia pode estar presente nas fases aguda e crônica leve ou moderada. Complicações como infecções bacterianas (principalmente por germes gram negativos), podendo levar a



um quadro de septicemia e meningite bacterianas, estão relacionadas com alta mortalidade. Estudos revelam que a alta prevalência (CARVALHO, 1980) deste tipo de infecção nestes pacientes, não está apenas relacionada a doenças debilitantes, mostrando o papel importante da infestação parasitária nestas complicações. Neste caso, há disseminação sangüínea de bactérias intestinais que acompanham as larvas durante o processo de auto-infecção. Alternativamente, lesões da mucosa do cólon podem facilitar a penetração das bactérias.

Dentre os fatores que podem influenciar o desenvolvimento das formas graves em áreas endêmicas, encontramos as neoplasias (IGRA-SIEGMAN et al., 1981; NUCCI et al., 1995), o uso de corticosteróides (CRUZ et al., 1966; HAGELSKJAER, 1984) e de imunossupressores (GERMAN et al., 1992) e as doenças consumptivas, que levam o hospedeiro a um estado de imunodepressão. Todavia, em uma série de 73 casos de autópsias de indivíduos com diagnóstico de estrogiloidíase grave, nas quais esta parasitose foi considerada como causa principal ou fator contribuinte para a causa mortis, não se identificaram em 53,41% dos casos, fatores de risco para o desenvolvimento de formas graves ou outras doenças associadas (GOMES, 1980). Estes dados sugerem que outros fatores devem participar no aumento da susceptibilidade do hospedeiro para o aparecimento das formas graves desde quando a síndrome de má absorção e a desnutrição que podem estar relacionadas com a presença do parasito no intestino, são documentadas apenas nas fases mais avançadas da doença. Uma possibilidade que tem sido aventada, é que a própria parasitose possa debilitar o hospedeiro e favorecer o aparecimento das formas disseminadas da doença.

Embora estudos histopatológicos de baço e linfonodos mesentéricos tenham mostrado deficiência da imunidade celular em pacientes com estrogiloidíase não associada a condições debilitantes (CARVALHO & QUEIROZ, 1976; QUEIROZ & BARRETO,

1975), não parece existir associação entre depressão da resposta imune celular e desenvolvimento de formas graves da estrogiloidíase.

### 1.1.2 Diagnóstico e tratamento

O diagnóstico da estrogiloidíase é feito pelo encontro das larvas nas fezes e a técnica habitualmente usada é a de Baermann, que tem o princípio de concentrar as larvas, através do tropismo das mesmas para uma área com temperatura mais elevada (45°C). Os outros métodos parasitológicos têm baixa sensibilidade mesmo quando repetidos. No entanto, com a utilização do método de Baermann, os resultados podem ser negativos. Isto ocorre devido à variabilidade encontrada na excreção das larvas. Outros métodos, como cultura de fezes e aspirado gastrointestinal com cápsula de Bauer (enteroteste) e exame direto do material colhido através da endoscopia digestiva alta (EDA), são mais sensíveis, porém têm alto custo ou necessitam de laboratórios especializados (GENTA et al., 1986). Adicionalmente, há o incômodo dos testes invasivos como o enteroteste e a EDA. Vários testes sorológicos foram testados, com a finalidade de detectar anticorpos contra *S. stercoralis*, sendo que, atualmente, o mais usado é feito através da técnica de Enzima Linked Immunoabsorved Assay (ELISA) que detecta anticorpos da classe imunoglobulina G (IgG) contra antígenos de *S. stercoralis*. Este teste não parece estar alterado em pacientes imunocomprometidos (GENTA et al., 1986) e tem especial recomendação na fase aguda da estrogiloidíase, pelo fato de que o tempo entre a infecção e a eliminação das larvas pelas fezes é aproximadamente de 28 dias. Outra importante aplicação deste teste está na forma disseminada da estrogiloidíase, visto que em alguns destes pacientes pode haver dificuldade de detectar-se larvas nesta apresentação da doença, pois a maioria das larvas

rabditóides transformam-se em filarióides e penetram na mucosa intestinal. Este teste tem sensibilidade de 90% e especificidade variando de 80 a 99%, a depender do grupo estudado (BRASIL et al.,1988; GAM et al.,1987; GENTA,1986). Reações cruzadas ocorrem mais com pacientes com a filariose e a ascariíase, porém em pequenas proporções. Uma importante questão é a persistência de anticorpos da classe IgG anti *S. stercoralis* após a erradicação do parasito. Os títulos destes anticorpos podem diminuir lentamente, podendo persistir por um período de meses a um ano. Anticorpos da classe imunoglobulina E (IgE) não são rotineiramente usados no diagnóstico de estrogiloidíase, pois encontram-se diminuídos nos pacientes com estrogiloidíase grave e nos imunodeprimidos (GENTA et al., 1986).

Com a finalidade de determinar a eficiência de diferentes técnicas na detecção de larvas de *S. stercoralis* nas fezes, Kaminsky, em 1993, comparou o exame direto com a técnica de Baermann modificada e o método de cultura em placas com ágar. De 427 espécimes estudados, 9 (2,1%) foram positivas pelo exame direto, 33 adicionais (7,7%) foram positivos pelo exame de Baermann e 28 adicionais (6,5%) pela de cultura em placas de ágar. A utilização de duas técnicas (Baermann e cultura) detectou larvas de *S. stercoralis* em 61 (14,2%) dos casos que foram negativos pelo exame direto. O método de Baermann foi 3,6 mais eficiente que o método direto e a utilização da cultura associada ao Baermann resultou em uma eficácia 1,6 vezes superior ao Baermann usado isoladamente.

Um dos problemas com a pesquisa de larvas nas fezes diz respeito à variabilidade da excreção de larvas em diferentes dias. No sentido de determinar a reprodutibilidade na detecção de parasitos, Dreyer et al. (1996) realizaram pesquisas de parasitos semanalmente em 108 indivíduos com forma assintomática da estrogiloidíase. Durante oito semanas de estudo 239 (27,7%) das 864 espécimes foram positivas para *S. stercoralis*, no entanto em

apenas três indivíduos (2,8%) as larvas foram detectadas em todas os oito exames realizados. Em contrapartida, em 36 indivíduos (33,3%) com estrogiloidíase, todas as pesquisas foram negativas. Em 43 indivíduos nos quais o *S. stercoralis* foi detectado em pelo menos dois dos quatro primeiros exames, somente um (2,3%) apresentou resultados posteriores negativos em todos os outros quatro exames realizados. Em contraste, de 29 indivíduos que apresentaram larva detectável em somente um dos quatro primeiros espécimes, 22 (75,9%) foram negativos nos próximos quatro exames. Estes dados mostram uma grande variabilidade na detecção de *S. stercoralis* nas fezes, o que pode resultar em resultados negativos. Adicionalmente, esta variabilidade na excreção dificulta a interpretação de estudos terapêuticos, desde que um exame negativo após a terapêutica não significa, necessariamente, que houve cura da doença.

Além da técnica de ELISA, o método de imunofluorescência indireta foi testado para a detecção de anticorpos contra *S. stercoralis*. Utilizando o soro de 68 indivíduos sabidamente infectados e o mesmo tipo de antígeno de *S. stercoralis*, a sensibilidade da técnica de ELISA foi de 83,8% e a da imunofluorescência indireta de 77,9% (GAM et al., 1987). A sensibilidade, especificidade e o valor preditivo do teste de ELISA foi calculado em um outro estudo (GENTA, 1988) tomando como base uma amostra de 268 indivíduos infectados e 571 controles não infectados. Neste estudo, a sensibilidade do teste foi de 88% , a especificidade de 99% e o valor preditivo do teste positivo de 97%. Por outro lado, testes negativos foram associados com ausência de infecção em 95% dos indivíduos testados.

O teste cutâneo de hipersensibilidade imediata no diagnóstico da estrogiloidíase tem sido usado há mais de 3 décadas. Em 1961, usando *Strongyloides ratti* como fonte de antígeno, Pelegrino e col reportaram 93% de positividade, quando o antígeno foi usado na

concentração de 40µg N/ml, caindo para 60% quando o antígeno foi usado na concentração de 4µg N/ml. A sensibilidade do teste intradérmico com antígeno de *S. stercoralis* foi de 82,7% em 52 casos de estrogiloidíase, enquanto que somente 10,8% de 148 indivíduos não infectados apresentaram reação positiva (SATO et al., 1986). O teste cutâneo tem, como vantagens sobre a sorologia, resultado imediato, facilidade de execução e baixo custo.

Há várias décadas o tratamento da estrogiloidíase vem sendo realizado com thiabendazol (2-(thiazol-4-yl) benzimidazole. Esta droga mata somente vermes adultos, não conseguindo destruir as larvas rabditóides e filarióides e os ovos. Existem variados esquemas. Os três mais usados são: 1) 50mg/kg em dose única 2) 25 mg/kg/dia por um período de três dias 3) 500mg/dia por um período de 21 dias. Este último esquema geralmente é usado nas formas graves e em pacientes imunocomprometidos. O índice de cura com esta droga é alto quando os exames parasitológicos de fezes são realizados imediatamente após a terapêutica, no entanto, Grove (1982) observou que quando estes exames são realizados 6 meses após o tratamento, 7% dos indivíduos permaneceram infectados e 33% voltaram a apresentar manifestações clínicas da estrogiloidíase. Outras drogas foram usadas para o tratamento da estrogiloidíase, como o mebendazol (metilN-[5(6)-benzoil-2benzimidzzoli) e o albendazol ( [metil-5-(propil-tio)-1H-benzimidazol-2-yl] carbomato), porém não apresentaram maior taxa de cura quando comparados com o thiabendazol (VERONESI, 1997). O cambendazol (2-(4-tiazolil)-5-isopropoxi-carbonilamino) na dose de 5mg/kg, em dose única, tem sido associado a cura de 90 a 100% dos casos (GROVE, 1982; PIRES & DREYER, 1983), tendo ainda como vantagem apresentar raros efeitos colaterais. No entanto, o uso do cambendazol, não tem sido

avaliado no tratamento da estrogiloidíase disseminada. A ivermectina (5-O-dimetil-22,23-dihidro-25-(1-metiletil)avermectina A<sub>1a</sub>), um anti-helmíntico ativo contra vários nematódeos tem sido usada no tratamento da estrogiloidíase com taxa de cura variando entre 90% e 100% (PIRES & DREYER, 1983; VERONESI, 1997) quando usado em dose única de 200µg/kg. Esta droga mostrou-se eficaz nos indivíduos que não responderam ao uso repetido do thiabendazol (LIU & WELLER, 1993).

Independentemente da droga usada, parasitológicos de fezes devem ser realizados por um período mínimo de seis meses para que a infecção seja considerada como erradicada.

### 1.1.3 Aspectos Imunológicos

Sendo os helmintos pelo próprio tamanho e composição antigênica muito mais complexos que outros parasitos, pouco ainda se sabe sobre como o hospedeiro se defende e destrói estes parasitos. A maioria dos estudos com relação a resposta imune contra helmintos tem sido realizado em modelos experimentais de *Schistosoma mansoni* ou em indivíduos infectados pelo *S. mansoni* e, nestes casos, existem evidências de que tanto a resposta celular como anticorpos, principalmente da classe IgE, participam da defesa contra o *S. mansoni* (DUNNE et al., 1992). No entanto, o *S. mansoni* vive em vasos sanguíneos mesentéricos, enquanto que o habitat do *S. stercoralis* é a luz intestinal. Adicionalmente, por ocasião do processo de auto-endo-infecção as larvas penetram do intestino para os vasos sanguíneos. Desta forma, o mecanismo de defesa contra o *S. stercoralis* pode se dar através de respostas imunológicas que contribuam para expulsão das larvas juntamente com as fezes e, através de mecanismos de destruição do verme adulto ou das larvas durante a

auto-infecção. Como os modelos experimentais, como o cão infectado pelo *S. stercoralis* e o rato pelo *S. ratti*, não têm permitido avanços importantes no conhecimento da resposta imune contra o *S. stercoralis*, têm sido os achados histopatológicos, os estudos *in vitro* e as associações entre formas graves da doença com distúrbios imunológicos que têm servido de base para hipóteses sobre a interação do hospedeiro/helminto. Estudos histopatológicos do intestino, geralmente vistos em autópsia, mostram infiltrado inflamatório mononuclear na parede intestinal, causado pela presença de larvas e fêmeas adultas. Estas larvas quando desintegradas causam uma reação inflamatória granulomatosa (ANDRADE & GOMES, 1964; DE PAOLA, 1962), onde se encontram macrófagos, plasmócitos e algumas células gigantes. Hepatite granulomatosa também tem sido observada. Granuloma também já foi descrito em paciente imunodeprimido pós transplante renal no curso fatal da estrogiloidíase. Neste caso, observou-se presença de larvas e lesões granulomatosas em diversos órgãos, inclusive fígado e coração (GERMAN et al., 1992).

Como em torno das larvas, observa-se, também, infiltração de eosinófilos (GERMAN et al., 1992; POLTERA & KATSIMUBARA, 1974), tem sido aventada a possibilidade de que o mecanismo de citotoxicidade celular dependente de anticorpo (ADCC) seja uma forma de defesa contra este helminto. Neste caso, IgG ou IgE seriam responsáveis por ligarem-se ao parasito e o eosinófilo aderiria ao *S. stercoralis* através da ligação com as regiões Fc dessas imunoglobulinas (CARVALHO et al., 1983). Não só elevação quantitativa de eosinófilos tem sido demonstrada nos pacientes infectados por helmintos, mas também um aumento da sua capacidade helmintotóxica (DAVID et al., 1980).

A demonstração da ação citotóxica dependente de anticorpos, mediada pelos eosinófilos contra os esquistossômulos *in vitro*, reforça a importância destas células no mecanismo de defesa contra helmintos (BUTTERWORTH et al., 1974; CAPRON et al.,

1978; DAVID et al., 1980; OTTESEN et al., 1977). A documentação de que a expulsão natural de *Trichinella spiralis* (AHMAD et al., 1991) em ratos pode ser transferida passivamente por IgE indica que este isotipo pode contribuir para eliminação de parasitas intestinais. Desta forma, tanto eosinófilos como anticorpos da classe IgG e IgE participam da defesa contra enteroparasitos.

Enquanto eosinofilia é vista na estrogiloidiase não complicada, aumento de eosinófilos não é observado nas formas graves da doença. Nos pacientes que usam corticosteróides esta alteração poderia ser explicada pelo efeito eosinopênico destas drogas. Em alguns casos, porém, esta eosinopenia pode refletir um aumento da migração de eosinófilos para os tecidos, com uma finalidade de impedir a invasão das larvas filarióides. Alternativamente, pode realmente ocorrer uma diminuição dos níveis de eosinófilos como consequência das infecções causadas por bactérias do trato intestinal. Desta forma, ainda não é claro se a eosinopenia observada na forma grave da estrogiloidiase é causa ou consequência desta forma clínica da doença.

Sabe-se, que, pacientes com estrogiloidiase, apresentam altos níveis de IgE sugerindo que esta helmintíase estimule a produção desta classe de imunoglobulina (BAZJAK, 1975) sendo um importante fator no mecanismo de defesa contra o parasita. Estudos prévios realizados evidenciaram aumento dos níveis de IgE total e específico em pacientes com estrogiloidiase (LEAO et al., 1980; MCRURY et al., 1986; PIRES & DREYER, 1993; ROSSI et al., 1993), entretanto, estes níveis podem estar baixos e, nestes casos, geralmente estão relacionados com uma maior gravidade da doença (GENTA et al., 1986). Na esquistossomose existe uma correlação entre IgE específica para antígenos do parasito e resistência à re-infecção (DEMEURE, 1993; DUNNE et al., 1992; RIHET et al.



1991). Estudos posteriores serão necessários para determinar se esses isotipos participam do mecanismo de destruição do *S. stercoralis*.

Embora níveis de IgG total e número de eosinófilos em sangue periférico sejam significativamente mais baixos nos pacientes com forma grave de estrogiloidiase em comparação com outras formas clínicas da doença (CARVALHO et al., 1983), não tem sido documentada diminuição dos níveis de IgG específico contra *S. stercoralis* em pacientes imunocomprometidos (GENTA et al., 1986). Nestes casos, observou-se diminuição dos níveis de IgG subtipo 2 (IgG2) e IgG subtipo 4 (IgG4) quando comparado com pacientes imunocompetentes (GENTA & LILLIBRIDGE, 1989). Embora o papel destas imunoglobulinas na destruição ou expulsão do *S. stercoralis* não esteja bem esclarecido, sabe-se que os anticorpos devem ter um papel na proteção contra este helminto, desde que existe uma associação entre hipogamaglobulinemia e formas graves da estrogiloidiase (OLIVEIRA et al., 1981).

Alterações da imunidade celular como depleção de linfócitos nos órgãos linfóides de pacientes com forma grave da doença (CARVALHO & QUEIROZ; QUEIROZ & BARRETO, 1975) e diminuição da proliferação de linfócitos *in vitro* contra antígeno de *S. stercoralis* em pacientes que apresentam a forma crônica têm também sido documentadas (GENTA et al., 1983). Neste último caso, a diminuição da resposta pode ser atribuída a fatores supressores encontrados nos soros desses pacientes. A participação de células na defesa contra *S. stercoralis* poderia ser feita hipoteticamente através da produção de interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), que ativa células efetoras do sistema imunológico como as células citotóxicas naturais (NK) e os polimorfonucleares ou através da síntese de interleucina-4 (IL-4) que modula a produção de IgE e de interleucina-5 (IL-5) que estimula a produção e

maturação de eosinófilos. Mais recentemente, com a descoberta de que a população de células T auxiliaadoras (CD4+) é heterogênea e constituída por subpopulações de células denominadas linfócitos T auxiliaadores do tipo 1 (Th1) e linfócitos T auxiliaadores do tipo 2 (Th2), alcançou-se um melhor entendimento da resposta imune nas doenças parasitárias. As células Th1 secretam interleucina-2 (IL-2), IFN- $\gamma$ , fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) e fator de necrose tumoral- $\beta$  (TNF- $\beta$ ) e são responsáveis pela resposta imune celular, enquanto as células Th2 secretam IL-4, IL-5 e interleucina-10 (IL-10) e cooperam, predominantemente, com os linfócitos B na produção de anticorpos. Embora os mecanismos de defesa contra o *S. stercoralis* não sejam totalmente conhecidos, existem evidências de que a resposta Th2, através da síntese de IgE e IgG, pode estar envolvida na destruição do parasito (FINKELMAN et al., 1997; KING & NUTMAN, 1982). Em pacientes coinfectados com *S. stercoralis* e vírus linfotrópico para células T humanas tipo 1 (HTLV-1) a síntese de IgE total encontra-se diminuída (ATKINS et al., 1998; HAYASHI et al., 1997; NEWTON et al., 1992; PHELPS, 1993) e formas graves de estrogiloidíase tem sido observada (GOTTUZO et al., 1999; NEWTON et al., 1992; PATEY et al., 1992). Entretanto, não é conhecido como o HTLV-I interfere na resposta específica contra o *S. stercoralis* assim como em mecanismos envolvidos na expulsão de outros helmintos.

Em modelos experimentais há uma associação entre a resposta de células Th2 e a proteção contra diversos helmintos (FINKELMAN et al., 1997). Interleucina-12 (IL-12) e IFN- $\gamma$  inibem a imunidade protetora contra estes parasitos (FINKELMAN, 1994; ROTMAN et al., 1997). A produção de IL-4 é necessária para esta proteção, limita a gravidade da infecção e tem efeito redundante, pois interfere na resposta imune e diretamente na fisiologia do intestino, aumentando o conteúdo de fluidos no trato digestivo.

O acúmulo de fluidos é decorrente do aumento da permeabilidade intestinal, redução do peristaltismo e da absorção de líquidos (FINKELMAN et al., 1997; PEARCE et al., in press). O mecanismo de defesa na mucosa contra parasitos intestinais também é importante, sendo que este envolve a ação de mastócitos que através do seu receptor para a região Fc de anticorpos (IgG e IgE) ligados ao antígeno, produz histamina que pode lesar diretamente estes parasitos, como também pode agir ativando e modulando a função de células lesivas para helmintos, como os eosinófilos (NAWA et al., 1994). Esta atividade de defesa local estaria dependente de linfócitos Th2, por produzirem substâncias como interleucina-3 (IL-3) e IL-4 que ativariam estes mastócitos. Estudo realizado com ratos hipotímicos revelou uma incapacidade dos mesmos em expulsar o *S. ratti* da mucosa intestinal; no entanto, após administração de IL-3, houve expulsão associada a intensa mastocitose (ABE & NAWA, 1988; ABE et al., 1992). Como a interleucina-13 (IL-13) tem funções semelhantes à IL-4 e parece compartilhar do mesmo receptor (BARNER et al., 1998), esta citocina pode, também, estar envolvida na defesa contra o *S. stercoralis*.

Outra evidência de que a resposta Th2 esteja mais relacionada com a defesa contra helmintos é a ausência de associação entre formas graves da doença e diminuição de uma resposta celular. Algumas doenças não neoplásicas com comprometimento da imunidade celular, como por exemplo a infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), que leva a uma diminuição de função das células T, por si só, não predisõem à disseminação da estrogiloidíase (HAGELSKJAER, 1994; PLUMELLE & ÉDOUARD, 1996). Casos isolados de estrogiloidíase disseminada em pacientes com infecção pelo HIV têm sido relatados (MAAYAN, 1987), porém parece existir uma falta de associação epidemiológica entre estas duas doenças. Estes dados indicam que o acometimento imunológico nos

pacientes infectados pelo HIV, não parece comprometer os mecanismos responsáveis pelo controle da estrogiloidíase.

## 1.2 HTLV-1

### 1.2.1 Aspectos gerais

O vírus HTLV-1 pertence à família Retroviridae, subfamília Oncovirinae e foi o primeiro retrovírus a ser isolado, nos fins da década de 70, de um paciente com leucemia (POIESZ et al., 1980). Em 1985, a infecção pelo HTLV-1 foi também associada com algumas formas de neuropatias (GESSAIN et al., 1985). O HTLV-1 é um vírus RNA fita simples, caracterizado pela presença no seu genoma do gene que codifica a transcriptase reversa. Esta enzima é importante na transcrição do seu RNA em DNA, o que lhe permite a integração do seu DNA como um provirus no genoma da célula afetada (PORTERFIELD, 1980).

O genoma deste vírus possui três genes estruturais básicos que são o gag (que origina proteínas do capsídeo, da matriz, e do nucleocapsídeo), o pol (onde situam-se os genes para produção da transcriptase reversa e integrase viral) e o env (que origina proteínas do envelope viral) e mais dois outros genes regulatórios, o tax e o rex. O gene tax é importante na replicação viral por ativar a transcrição das terminações longas repetidas (LTR) no genoma viral dando início à sua replicação (LIN et al., 1998). Além disso, ele codifica uma proteína que amplifica a transcrição de alguns genes celulares tais como : (IL-2), receptor de IL-2 (IL-2R), fator estimulador de colônia de granulócitos e macrófagos (GM-CSF) e paratormônio. Este mecanismo de ativação a distância de genes promotores do desenvolvimento celular é denominado de transativação viral. O gene rex age na fase

pós-transcrição, regulando a expressão genômica viral. O vírus HTLV-1 tem tropismo especial por linfócitos T CD4+, podendo, também, infectar outras linhagens celulares como linfócitos T citotóxicos (CD8+) (KAPLAN, 1993; RICHARDSON et al., 1990; RICHARDSON et al., 1997). Adicionalmente, já foi demonstrada infecção de células dendríticas *in vitro* por HTLV-1 (DE REVEL et al., 1993; KNIGHT et al., 1993).

Este vírus está comprovadamente associado com malignidades hematológicas, desordens neurológicas, porém, tem-se relatado outras patologias associadas ao HTLV-1. A infecção pelo HTLV-1 tem sido detectada em diferentes regiões do mundo, encontrando-se áreas endêmicas no Japão, África, América do Sul (Brasil, Colômbia, Venezuela, Peru, Equador e Chile) e América Central, principalmente na região do Caribe (BLANK et al., 1993; MUELLER, 1991; STUVER et al., 1992; TAJIMA et al., 1982). Estudos epidemiológicos, realizados no Brasil, relataram a presença de anticorpos anti HTLV-1/2 em 0,41% dos doadores de sangue, com variação entre 0,08% a 1,35%. A maior soroprevalência (1,35%) foi encontrada na cidade de Salvador (GALVÃO-CASTRO et al., 1997). Outro estudo realizado na cidade de Salvador mostrou infecção pelo HTLV-1 em 1,8% de pessoas saudáveis e em 18,4% de pacientes hospitalizados no Serviço de Doenças Infecciosas (MOREIRA et al., 1993). Embora algumas justificativas tenham sido levantadas para explicar a alta prevalência na cidade de Salvador, como a colonização africana no Brasil, estudos necessitam ser realizados para esclarecer melhor este fato.

O vírus HTLV-1 é transmitido através de linfócitos infectados. As vias de transmissão viral são as seguintes: sexual, vertical e transmissão parenteral. A via sexual tem uma maior transmissão do homem para a mulher com uma taxa de transmissão de 60% (KAJIYAMA et al., 1986), enquanto que a transmissão da mulher para o homem é de 0,4% a 1% (KAJIYAMA et al., 1986; KAPLAN et al., 1996). A transmissão pela via vertical tem

sido principalmente atribuída ao aleitamento materno, com uma taxa de transmissão de 25% em áreas endêmicas, quando a amamentação for igual ou maior do que 6 meses, e em menor proporção (0-5%) pela via transplacentária (RIMA et al., 1993). A transmissão pela via parenteral ocorre através da transfusão sanguínea, com uma soroconversão variando entre 44 a 63% em áreas endêmicas (MANNIS et al., 1992; OKOCHI et al., 1984). Seringas e/ou agulhas contaminadas são responsáveis pela transmissão em usuários de drogas. Na cidade de Salvador foi encontrada uma soroprevalência de 25% em usuários de drogas (ANDRADE et al., in press). Este dado difere de outras regiões do mundo onde o uso de drogas está mais relacionado com a transmissão do vírus T-linfotrópico humano tipo 2 (HTLV-2) (KHABBAZ et al., 1992). O HTLV-1 possui um período de latência muito longo, com uma variação de acordo com a via de transmissão. A via de transmissão tem também sido associada com o tipo de manifestação clínica apresentada. O desenvolvimento de leucemia/linfoma de células T do adulto (ATL) está associado com a transmissão vertical, com um período de latência maior ou igual a 40 anos. Já no caso de doença neurológica, existe associação com a transmissão pela via sexual ou parenteral e o período de latência geralmente é bem mais curto (6 meses a 8 anos) (NAVARRO-ROMAN, 1997).

Clinicamente, a infecção pelo HTLV-1 pode manifestar-se sob a forma de leucemia/linfoma de células T do adulto e sob a forma de paraparesia espástica tropical (TSP) e mielopatia associada ao HTLV-1 (HAM) (OSAME, et al., 1986). Na ATL, ocorre uma integração monoclonal do vírus nos linfócitos T, transformando e imortalizando estas células (NAVARRO-ROMÁN et al., 1997; TSUDA et al., 1993). Esta imortalização é consequência da maior expressão de IL-2 R e de IL-2 que age inibindo a apoptose (TSUDA et al., 1993). Não é bem compreendido o motivo pelo qual somente a minoria de indivíduos infectados pelo HTLV-1 (2 a 4%) desenvolvem a doença, enquanto a grande maioria dos

indivíduos infectados mantêm-se assintomáticos (RIMA et al., 1993). Relatos têm sugerido a participação do gene *tax*, que agiria inibindo a DNA polimerase de reparo da célula infectada (JEANG et al., 1990). Este fato associado a um estresse oxidante como consequência de uma constante ativação, induz o aparecimento de mutações genéticas randômicas não letais e, eventualmente, mutações oncogênicas (ARIMA, 1997). Um estudo recente mostra a importância da carga viral no aparecimento de linfócitos atípicos em sangue periférico de portadores do vírus, onde uma maior carga viral foi relacionada com uma maior frequência destes linfócitos (HISADA et al., 1998). A importância de fatores genéticos como haplotipos do antígeno de histocompatibilidade leucocitário (HLA), em determinar a intensidade da resposta do hospedeiro contra o vírus, como também doenças a ele relacionadas, deve ser relevante (SONODA et al., 1996). A ATL apresenta-se sob quatro formas clínicas distintas: 1) incipiente; 2) aguda; 3) crônica e 4) linfomatosa. Após evidência de manifestação clínica a sobrevida média é de 1,3 anos (BARBOSA et al., 1999).

Na TSP/HAM que se apresenta com uma frequência de 1% dentre portadores, encontramos um grande leque de manifestações, onde o núcleo básico da síndrome inclui uma paraparesia progressiva incapacitante com sinais piramidais (espasticidade e hiperreflexia) e sinais sensitivos e esfinterianos variáveis. Isto ocorre como consequência de uma crônica e progressiva desmielinização do cordão espinhal. Aventa-se a possibilidade de que a desmielinização é consequência de uma resposta citotóxica (linfócitos T CD8+ ) direta contra células infectadas no SNC ou por citocinas como TNF- $\alpha$  que são implicadas na destruição da mielina (KUBOTA et al., 1998). Outra explicação seria um processo autoimune, onde células T CD4+ ativadas contra antígenos virais tivessem

uma reação cruzada a antígenos do SNC, ou mesmo, células T CD4+ autorreativas para o SNC, quando infectadas pelo HTLV-1, são ativadas, proliferam e acabam migrando para o SNC onde vão encontrar o antígeno (HOLLSBERG, 1997). Dá suporte a esta possibilidade a grande quantidade destas células no local acometido com produção de substâncias como matriz metaloproteinase-9 e MIP-1 $\alpha$  (quimiocina atraente para macrófagos e leucócitos) que são produzidas por linfócitos T CD8+ facilitando a entrada de outras células no SNC e IL-16 que tem efeito quimiotático sobre linfócitos T CD4+ (BIDDISON et al., 1997). Tem sido demonstrada a participação do HLA no controle da carga viral e conseqüentemente no desenvolvimento de HAM/TSP, onde o subtipo HLA- A 02 previne em 28% o desenvolvimento desta patologia, reduzindo a carga viral nos portadores do vírus (JEFFERY et al., 1999). As queixas clínicas mais comuns na mielopatia associada ao HTLV-1 são : paraparesia progressiva, dor em coluna torácica e lombar com irradiação para membros inferiores, incontinência urinária, diminuição da libido, impotência, parestesias e disestesias dentre outras.

Existem relatos de outras doenças associadas ao HTLV-1, onde o vírus foi isolado nos órgãos alvos tais como: Uveíte, Poliomiosite, Artropatia Inflamatória Crônica, Alveolite Linfocítica, Dermatite Infectiva (em crianças) e outras doenças de origem autoimune (HOLLSBERG & HAFLER, 1993; MATTOS et al., 1993; VERNANT et al., 1987). O tropismo de células T infectadas para estas regiões tem sido associado à alta expressão da molécula 1 de adesão da célula vascular (VCAM-1) encontrada nestas células (VALENTIN et al., 1997).



## 1.2.2 Interação do vírus com o sistema imune

A resposta imune contra os vírus, organismos intracelulares, caracteriza-se, inicialmente, pela produção de interferon- $\alpha$  (IFN- $\alpha$ ) por células infectadas pelo vírus. Esta citocina age inibindo a replicação viral, leva a uma resistência a infecção viral de células não infectadas, aumenta o potencial lítico de células NK e aumenta a expressão de moléculas do complexo de histocompatibilidade principal (MHC) classe I. A expressão destas moléculas juntamente com antígenos virais ativam a fase efetora da resposta imune adaptativa, neste caso mediada por células T citotóxicas (CD8 +), que são as principais células efetoras na imunidade contra o vírus. Ativação do sistema complemento e os anticorpos servem para neutralizar os agentes virais presentes em locais extracelulares e na circulação.

O vírus HTLV-1 ao penetrar nos linfócitos T, escapa do primeiro ataque do sistema imune, ou seja, da virólise mediada pelo complemento. A resposta citotóxica por células NK é enfraquecida em pacientes com HTLV-1, talvez pela baixa expressão viral encontrada nestes pacientes, principalmente em pacientes com ATL e carreadores. Nos pacientes com HAM/TSP encontramos uma maior expressão viral com maior frequência de linfócitos T citotóxicos específicos contra o HTLV-1 (BIDDISON et al., 1997; KUBOTA et al., 1998), que reconhecem, principalmente, células alvo, expressando proteína tax, destruindo assim as células com maior expressão viral. Como pode haver variantes de tax, isto impede o reconhecimento das células T citotóxicas, contribuindo para a persistência do vírus.

Uma variedade de proteínas leva a uma resposta humoral, incluindo proteínas gag, env e tax proteínas, sendo as proteínas gag com maior poder imunogênico. Foi sugerido que

anticorpo (Ac) contra a proteína do envelope (gp46) pode neutralizar a infectividade do HTLV-1, porém a soroconversão com o aparecimento de anticorpos anti HTLV-1 não leva à eliminação do vírus. Anticorpos do tipo M (IgM) anti HTLV-1 são encontrados com maior frequência nos pacientes com HAM/TSP, quando comparados com portadores assintomáticos e pacientes com ATL (NAGASATO et al., 1991). Este achado pode ser reflexo de uma ativa replicação do vírus nestes pacientes, visto que nestes indivíduos tem-se demonstrado uma maior expressão viral.

Sendo o HTLV-1 um vírus que tem predileção por infectar células T, são múltiplas as conseqüências da interação do HTLV-1 com o sistema imune, embora o mecanismo que altera a função celular não seja bem esclarecido. Sabe-se que o HTLV-1 se beneficia com a ativação de células T, favorecendo uma infecção permanente. Estas células, quando infectadas, sofrem alterações importantes na expressão gênica e no controle do crescimento celular, tendo como conseqüência uma alta expressão de IL-2R e, em alguns casos, de IL-2 (COPELAND & HEENEY, 1996; TENDLER et al., 1990; UCHIYAMA et al., 1985). Alguns trabalhos têm demonstrado que estas células T encontram-se sempre ativadas (COPELAND & HEENEY, 1996; HOLLSBERG & HAFLER, 1993). Constituem-se evidências desta constante ativação a presença de marcadores como CD-25 e HLA-DR (HOLLSBERG & HAFLER, 1993; MACCHI et al., 1998), a capacidade destas células de proliferar espontaneamente e de responder indiscriminadamente a estímulos sem restrição do HLA (POPOVIC et al., 1984). Embora haja evidência que esta ativação pode levar à uma diminuição da expressão viral, facilitando o escape do vírus à resposta imune do hospedeiro (COPELAND et al., 1994; COPELAND et al., 1995), persiste a expressão de IL-2 e IL-2R mediada pelo gene tax. A ativação celular em indivíduos infectados pelo HTLV-1 parece ser induzida pelo contato da célula infectada com célula não infectada com

participação da ativação via CD2, que é uma via alternativa de ativação de linfócito T (WUCHERPFENNIG et al., 1992). Esta molécula (CD2) também funciona como receptor para a proteína do envelope viral (gp46). A principal evidência da necessidade do contato entre células infectadas e não infectadas e da ausência de restrição em relação ao HLA vem de estudos realizados com clones de células T infectadas com HTLV-1. Embora clones de células T infectados com HTLV-1 tenham capacidade de proliferar isoladamente ou na presença de antígeno, a proliferação torna-se bastante aumentada quando à cultura de células são adicionadas células apresentadoras de antígenos. Não foi documentado diferença, entretanto, se estas células apresentadoras apresentavam o mesmo MHC que a célula T ou tinham MHC diferente, e se o antígeno estivesse presente ou não (POPOVIC et al., 1984). Os sinais para transcrição destas células são usados por este retrovírus, regulando, assim, a sua produção. Embora a IL-2 seja o principal fator de proliferação de células T, existe controvérsia em relação ao papel da IL-2 na proliferação celular de indivíduos infectados pelo HTLV-1. Enquanto alguns trabalhos mostram proliferação independente de IL-2 (HOLLSBERG et al., 1992; WUCHERPFENNIG et al., 1992), outros sugerem a influência desta citocina na função das células T colaboradoras, resultando em uma desregulada proliferação em indivíduos infectados pelo HTLV-1 (ARIMA, 1997; MARUYAMA et al., 1987). Apesar de não estar bem esclarecida a influência da IL-2 na proliferação de linfócitos infectados pelo HTLV-1, sabe-se que esta citocina age imortalizando estas células, protegendo-as contra a apoptose (TSUDA et al., 1993). Um outro estudo demonstrou que células T infectadas pelo HTLV-1, não são imunossuprimidas pelo fator inibidor de crescimento de células T- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) (HOLLSBERG et al., 1994). Como a proliferação é predominantemente de células CD4+,

a relação CD4/CD8 encontra-se aumentada. Encontramos, também, em sangue periférico destes pacientes grande quantidade de células CD45RO infectadas pelo HTLV-1, que são tolerantes à apoptose (MACCHI et al., 1993; SUSUKI et al., 1996).

A infecção das células T colaboradoras com conseqüente ativação e proliferação favorece a uma estimulação de células B com produção policlonal de anticorpos. Esta proliferação é independente do antígeno e do MHC das células apresentadoras de antígeno. Diferente do que ocorre com as células CD4+, quando a infecção é de células citotóxicas (CD8+) há uma perda da sua atividade citotóxica (POPOVIC et al., 1984). Outra alteração encontrada nas células T infectadas com este vírus é um aumento da expressão da molécula de adesão VCAM-1, normalmente pouco expressa nestas células (VALENTIN et al., 1997). Este fato favorece a uma maior interação entre as células infectadas com as não infectadas que, geralmente, expressam moléculas 4 de ativação muito tardia (VLA-4).

A infecção pelo vírus HTLV-1 desvia a resposta imune para uma resposta Th1 nos pacientes infectados com produção aumentada de IFN- $\gamma$  e diminuição de IL-4 (MACCHI et al., 1998). Como a IL-4 é a principal citocina envolvida na diferenciação de células B em células produtoras de IgE, ocorre, conseqüentemente, diminuição dos níveis de IgE total. Além disso, tem-se observado diminuição dos receptores solúveis de baixa afinidade para IgE (MATSUMOTO et al., 1990). Em um estudo realizado onde houve infecção de clones de células T CD4+ Th1 e de clones Th2, observou-se que o clone Th1 manteve produção de IFN- $\gamma$ , enquanto que o clone Th2 passou a produzir IFN- $\gamma$  e diminuir a produção de IL-4, adquirindo, assim, um comportamento Th1 (MACCHI et al., 1998). Embora a reação de hipersensibilidade tardia seja considerada uma resposta do tipo Th1, diminuição da resposta ao teste intradérmico com derivado protéico purificado de *Micobacterium tuberculosis*

(PPD) em pacientes infectados com HTLV-1 foi observada, principalmente, em indivíduos acima de 60 anos. Foi também documentada uma associação inversa entre reatividade ao PPD e prevalência de anticorpos anti HTLV-1 (TACHIBANA et al., 1988). Este encontro pode ter como uma explicação, o fato de que a infecção pelo HTLV-1 induz uma ativação antígeno inespecífica, por exemplo, tem sido documentado que células T CD8+ infectadas pelo HTLV-1 perdem sua capacidade citotóxica (POPOVIC et al., 1984).

### 1.3 INFECÇÃO PELO HTLV-1 E ESTRONGILOIDÍASE

Associação entre HTLV-1 e estrogiloidíase tem sido demonstrada em regiões onde ambos os agentes são endêmicos. Após relatos de casos isolados da associação entre HTLV-1 e infecção por *S. stercoralis*, estudos epidemiológicos têm avaliado esta associação. Em Okinawa, uma área endêmica conhecida pela elevada proporção de infecção pelo *S. stercoralis* e pelo HTLV-1, Nakada et al. (NAKADA et al., 1984) demonstraram que 60% de portadores de *S. stercoralis* apresentavam sorologia positiva para HTLV-1. Subseqüentemente Takai et al. e Fujita et al. demonstraram índices de positividade para HTLV-1 em 47,8% e em 57,8% de pacientes com estrogiloidíase respectivamente. Ainda em Okinawa Sato e Shiroma, em 1989, detectaram anticorpos anti HTLV-1 em 73,6% dos pacientes com estrogiloidíase, enquanto que em controles negativos para esta parasitose anti HTLV-1 foi encontrado em somente 18,4% dos casos. Também foi observada associação entre *S. stercoralis* e HTLV-1 em um outro estudo realizado em Okinawa, onde 31,6% dos pacientes com estrogiloidíase detectada pelas fezes, apresentavam sorologia positiva para HTLV-1 enquanto, que, apenas 9,6% do grupo controle apresentava sorologia positiva para HTLV-1 (HAYASHI et al., 1997). Não há,

entretanto, unanimidade na demonstração de uma freqüência maior de infecção pelo *S. stercoralis* em pacientes infectados com o HTLV-1. Em estudo realizado nesta mesma cidade não houve diferença entre a soropositividade para HTLV-1 (33,7%) em 86 portadores de estrogiloidiase comparado com 29% em 359 indivíduos controles negativos (ARAKAKI et al., 1992). Embora um estudo realizado na Jamaica não tenha mostrado maior freqüência de anticorpos contra o *S. stercoralis* em pacientes HTLV-1 positivos comparados com HTLV-1 negativos (NEVA et al., 1989), houve associação significativa entre estas duas condições em um outro estudo nesta mesma região (ROBINSON et al., 1994). Desta forma, embora a maioria dos estudos mostrem uma maior freqüência de infecção de HTLV-1 em pacientes com estrogiloidiase, existem dados que são contrários à existência significativa desta associação.

Embora estudos posteriores sejam necessários para melhor esclarecer a existência ou não, de uma associação maior que a esperada destas duas infecções, existem fortes dados que indicam que a presença destes dois agentes infecciosos em um mesmo indivíduo tem implicações clínicas e imunológicas. Relatos de caso de formas graves da doença com evidência de hiperinfecção têm sido documentados em pacientes portadores de HTLV-1 (GOTUZZO et al., 1999; NEWTON et al., 1992; PATEY et al., 1992; PHELPS, 1991). Há, também, relatos de estrogiloidiase recorrente em portador de HTLV-1 destacando-se a observação de um paciente que durante 7 anos apresentou 5 episódios de estrogiloidiase, grave (PATEY et al., 1992). Em 1982 foi reportado um caso de um paciente com estrogiloidiase apresentando forma grave e recorrente da doença que após 2 anos de acompanhamento apresentou ATL, e foi confirmada a sorologia para HTLV-1 (O'DOHERTY et al., 1984). Foi sugerido, então, que o *S. stercoralis* agiria como cofator no desenvolvimento de ATL nos carreadores de HTLV-1, desde que uma integração

monoclonal do vírus com anormalidades morfológicas dos linfócitos em sangue periférico conhecida como ATL forma “smoldering” foi demonstrada em 39% dos pacientes com estrogiloidíase coinfectados com HTLV-1 (NAKADA et al., 1987). Um outro estudo realizado onde indivíduos com HTLV-1 coinfectados com *S. stercoralis* desenvolveram ATL mais previamente do que indivíduos apenas com HTLV-1, reforçou esta hipótese (PLUMELLE et al., 1997).

Do ponto de vista imunológico, como a infecção pelo HTLV-1 se associa com uma predominante resposta Th1, com grande produção de IFN- $\gamma$ , é de se esperar a existência de uma alteração da resposta humoral nestes pacientes, principalmente no que diz referência à síntese de IgE. De fato, níveis de IgE total são significativamente mais baixos em pacientes coinfectados com *S. stercoralis* e HTLV-1 do que em pacientes com estrogiloidíase sem HTLV-1 (HAYASHI et al., 1997; NEWTON et al., 1992). Além da redução total da IgE, redução de IgE, IgA e IgG1 específicos contra *S. stercoralis* foi observado em 14 pacientes coinfectados por HTLV-1 e *S. stercoralis*, quando comparados com controles, pareados por idade e que apresentavam infecção isolada pelo *S. stercoralis* (ATKINS et al., 1998). Mais recentemente, foi documentado diminuição dos níveis de IL-4 em culturas estimuladas com forbol ester (PMA) mais ionomicina em pacientes coinfectados por HTLV-1 e *S. stercoralis* (NEVA et al., 1998). Neste mesmo estudo foi mostrado a existência de uma correlação inversa entre a produção IFN- $\gamma$  e IgE total. Estes dados indicam que a ativação de células Th1 e conseqüente produção exarcebada de IFN- $\gamma$  se associa negativamente com produção de IgE total.

Outro aspecto importante em relação à associação entre estas infecções é a aparente maior falha terapêutica no tratamento de estrogiloidíase em pacientes portadores de

HTLV-1. Enquanto que em 31 (94%) de 33 pacientes com estrogiloidíase sem HTLV-1 foi observada a cura da parasitose após tratamento com thiabendazol, nos pacientes coinfectados, a cura foi documentada em somente 39 (70%) de 55 pacientes tratados com esta mesma droga (SATO et al., 1994). Neste mesmo estudo, a cura da estrogiloidíase foi também significativamente maior em pacientes com estrogiloidíase sem HTLV-1 do que em pacientes coinfectados, quando o tratamento da parasitose foi feito por Albendazol ou Pamoato de pirvínio.

A maioria dos estudos previamente relatados apontam para a existência de uma associação entre *S. stercoralis* e HTLV-1. Há, também, evidências preliminares de que este vírus pode alterar a resposta imunológica do hospedeiro, tornando-se um ponto crítico no controle da estrogiloidíase. Devido a Salvador apresentar uma maior soroprevalência para HTLV-1 nos seus doadores de sangue em comparação com outras cidades do país, o presente estudo tem como finalidade investigar a existência desta associação, como também fatores imunológicos a ela relacionados.



## 2 OBJETIVOS

### Geral

Avaliar a existência de associação entre estrogiloidíase e infecção pelo HTLV-1 e determinar o perfil de citocinas e níveis de IgE anti *S. stercoralis* nestes pacientes.

### Específicos

- Comparar a prevalência da estrogiloidíase em doadores de sangue HTLV-1 positivos e negativos e descrever as formas clínicas apresentadas na presença ou ausência de coinfeção.
- Avaliar a eficácia do teste sorológico através da detecção de IgG e IgE específicos contra *S. stercoralis* e do teste de hipersensibilidade imediata no diagnóstico de estrogiloidíase em pacientes com estrogiloidíase coinfectados ou não pelo HTLV-1.
- Determinar o perfil de citocinas em indivíduos com *S. stercoralis* coinfectados ou não pelo HTLV-1.
- Determinar o perfil de citocinas em indivíduos com infecção pelo HTLV-1.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 SELEÇÃO DE PACIENTES E DEFINIÇÃO DE GRUPOS

##### 3.1.1 Voluntários participantes do estudo da prevalência da infecção pelo *S. stercoralis*

Participaram do estudo de prevalência de *S. stercoralis* indivíduos maiores de 18 anos de ambos os sexos que foram recrutados no Hemocentro da Bahia (HEMOBA) e no Serviço de Transfusão de Sangue (STS), ambos localizados em Salvador-Bahia. A seleção dos indivíduos HTLV-1 positivos (n=100) e HTLV1 negativos (n=100) foi realizada após conhecimento da sorologia para HTLV-1. Os critérios de exclusão foram: uso de corticosteróides e/ou outros imunossupressores. O N da amostra foi calculado estimando uma diferença quatro vezes maior da frequência de estrogiloidiase do grupo de doadores de sangue infectados pelo vírus HTLV-1 quando comparados com os doadores de sangue sem infecção pelo HTLV-1. O poder do estudo com este N é de 81%.

Os indivíduos com sorologia positiva para HTLV-1 foram contactados pessoalmente e/ou por carta e, após a confirmação da positividade sorológica pelo teste de Western blot, entraram no estudo após assinatura do termo de consentimento. Mensalmente foram contactados nestes dois serviços de transfusão de sangue em média 20 indivíduos com sorologia positiva para HTLV-1 dos quais cerca de 80% tiveram o resultado da sorologia confirmado pela técnica de Western blot. Os indivíduos que tiveram sorologia positiva começaram a ser contactados em dezembro de 1997 e até agosto de 1998 já tinham sido cadastrados 140 doadores de sangue HTLV-1 positivos. Os 100 primeiros indivíduos

que compareceram ao Serviço de Imunologia foram selecionados para participação do estudo da prevalência de *S. stercoralis*. Paralelamente, 100 doadores com sorologia negativa para HTLV-1 (ELISA ou Western blot), os quais constituíram o grupo controle para a avaliação da prevalência de infecção pelo *S. stercoralis* foram incluídos no estudo. Os 200 pacientes realizaram três exames parasitológicos de fezes pela técnica de Baermann e pelo método de Hoffman. Para efeito de análise comparativa, foram, também, incluídos neste material, os dados de parasitológico de fezes realizados pelos métodos de Baermann e Hoffman, de 100 pacientes acompanhados no ambulatório do Hospital Universitário Prof. Edgard Santos (HUPES). Não foi realizada sorologia para HTLV-1 nestes 100 pacientes do HUPES.

### 3.1.2 Voluntários participantes dos estudos sorológicos e do teste de hipersensibilidade imediata

Para os estudos imunológicos, especialmente determinação de IgG, IgE e teste cutâneo de hipersensibilidade imediata, dois grupos de indivíduos foram formados sendo o grupo hum constituído de pacientes coinfectados com *S. stercoralis* e HTLV-1 e o grupo dois constituído de pacientes com infecção pelo *S. stercoralis* sem HTLV-1. Constituíram o primeiro grupo além de 16 doadores de sangue que participaram do estudo da prevalência de estrogiloidiase, mais 11 indivíduos que apresentavam esta coinfeção, perfazendo um total de 27 indivíduos. Estes 11 indivíduos foram selecionados entre doadores de sangue e pacientes acompanhados pelo Núcleo de Neurologia do Hospital Universitário Prof. Edgard Santos que foram encaminhados ao serviço de Imunologia por apresentarem parasitológico de fezes positivo para *S. stercoralis*. O grupo controle foi

constituído de 40 indivíduos que apresentavam estrogiloidíase e sorologia negativa para HTLV-1. Quatro destes indivíduos foram recrutados do estudo de prevalência de infecção pelo *S. stercoralis* e 36 indivíduos eram residentes em uma vila no interior do estado (Corte de Pedra), área endêmica de leishmaniose tegumentar, localidade onde pesquisadores do serviço de Imunologia realizam trabalho de campo. Estes 36 indivíduos não apresentavam história clínica de leishmaniose cutânea ou mucosa. Foram excluídos do estudo pacientes em uso de corticosteróides e ou outros imunossupressores, ou com doenças consumptivas que levam a um estado de imunodepressão.

### 3.1.3 Voluntários participantes dos estudos de resposta imune celular

Os participantes dos estudos in vitro da resposta imune (determinação de citocinas) foram divididos em três grupos: o primeiro grupo foi constituído de pacientes coinfectados pelo HTLV-1 e *S. stercoralis* (n=20); o segundo grupo foi formado por pacientes com *S. stercoralis* sem infecção pelo HTLV-1 (n=20) e o terceiro grupo foi constituído de pacientes com HTLV-1 sem estrogiloidíase (n=26). Todos estes indivíduos fizeram parte do estudo da prevalência de infecção pelo *S. stercoralis* ou do estudo do teste sorológico e do teste de hipersensibilidade imediata.

Todos os participantes do estudo foram informados sobre a natureza da pesquisa a voluntariedade na participação do estudos e os prejuízos e benefícios oriundos deste trabalho. O presente trabalho foi aprovado e seguiu as normas do comitê de ética da Fundação Oswaldo Cruz e do Hospital Universitário Prof. Edgard Santos. A medicação para o tratamento de estrogiloidíase foi fornecida gratuitamente, como também o tratamento para outras parasitoses intestinais que foram documentadas. Estes pacientes

foram aconselhados com referência à infecção pelo HTLV-1 e informados que serão contactados caso venha a aparecer um tratamento para esta infecção, como também encaminhados para uma avaliação neurológica. Foram também informados da importância de repetir o exame parasitológico de fezes periodicamente e de que caso viessem a apresentar diarreia em qualquer período da vida deveriam procurar um médico devido a importância da associação entre estrogiloidiase e a infecção pelo HTLV-1.

### 3.2 DIAGNÓSTICO DE ESTRONGILOIDÍASE

O diagnóstico de estrogiloidiase foi feito através da documentação de larvas de *S. stercoralis* nas fezes. Um total de três exames parasitológicos de fezes através da técnica de Baermann foi realizado por cada paciente. Estes exames foram realizados no laboratório de parasitologia da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia (UFBA). Concomitantemente foram feitos três exames de sedimentação através da técnica de Hoffman para detecção de ovos de outros helmintos ou cistos e trofozoítos de protozoários.

### 3.3 AVALIAÇÃO DA IMUNIDADE HUMORAL

A avaliação da imunidade humoral foi realizada através da determinação de IgG e IgE contra antígeno de *S. stercoralis* e do teste cutâneo de hipersensibilidade imediata.

#### 3.3.1 Antígeno de *S. stercoralis*

Os títulos séricos de IgE e de IgG específicos contra antígeno de *S. stercoralis* foram determinados através da técnica ELISA como previamente descrito (BRASIL et al., 1988; NEVA et al., 1998), utilizando antígeno somático de *S. stercoralis*. O teste cutâneo

foi realizado, usando o antígeno metabólico (excreção e secreção) de *S. stercoralis*. Estes antígenos foram preparados da mesma forma, a partir de larvas filarióides de *S. stercoralis* cultivadas em laboratório como previamente descrito (BRASIL et al., 1988; NEVA, 1986). Resumidamente, larvas foram colhidas do meio de cultura através do método de Baerman e concentradas por centrifugação (600g por 15 min. a 4°C). Após centrifugação, foram expostas por três a cinco min. a hipoclorito de sódio a 0,25% para esterilização da superfície e centrifugadas por várias vezes em meio RPMI, contendo gentamicina (100µg/ml) e rompidas por sonificação (quatro períodos de 20 segundos com intervalos de 4min. em banho de gelo). As larvas lisadas foram centrifugadas a 160g por 30 min. a 4°C e o sobrenadante colhido constituiu o antígeno somático usado no teste de ELISA. O antígeno metabólico para o teste cutâneo foi preparado incubando larvas tratadas com hipoclorito de sódio em meio RPMI a 33°C. Após separação das larvas por centrifugação e filtração em Millipore, o fluido foi liofilizado, reconstituído em água destilada e dializado em tampão fosfato pH 7,2 (PBS). Tanto o antígeno somático como o antígeno metabólico foram tratados com formalina (1:4000) a 37°C por um período de 14 dias e após comprovação da esterilização e da ausência de endotoxinas, o conteúdo foi estocado a 4°C até o uso, na presença de fenol a 0,4%. A concentração proteica do antígeno foi medida pelo método de Lowry's (LOWRY, 1951). Os antígenos foram gentilmente cedidos por Dr. Franklin Neva do Laboratory of Parasitic Diseases, National Institutes of Allergy and Infectious Diseases, National Institute of Health, Bethesda, Maryland, U.S.A.

### 3.3.2 Teste cutâneo de hipersensibilidade imediata com antígeno de *S. stercoralis*

O teste foi realizado através de uma injeção intradérmica contendo 0,1ml do antígeno metabólico (3,5 µg/ml) como previamente descrito (NEVA, 1986), diluído em salina na superfície do antebraço usando uma agulha de calibre 27mm e uma seringa para testes alérgicos de 1,0ml. Uma quantidade igual de salina foi injetada como controle. Quinze minutos após a injeção, a reação foi medida por um decalque com tinta em papel de filtro do contorno da reação urticariforme. Após secagem do papel de filtro a região contornada foi pesada e convertida de peso para área através de um normograma. O valor final deste teste consiste na diferença da área da reação com antígeno da área da reação controle. Uma diferença igual ou maior que 35 mm<sup>2</sup> foi considerada como positiva.

### 3.3.3 Determinação de IgE específico contra antígeno de *S. stercoralis*

Como previamente descrito (NEVA et al., 1998), placas de microtitulação (Immulon 2; Dynatech Laboratories, Chantilly, VA) com fundo redondo foram sensibilizadas com o antígeno somático de *S. stercoralis* na concentração de 40 µg/ml em tampão carbonato-bicarbonato pH 7,4 durante 24 horas a 4°C. Após cinco lavagens com tampão fosfato a 0,05% Tween 20 (PBS-T), foi realizado o bloqueio com PBS contendo 5% de soro albumina bovino. Após depleção de IgG pelo uso da proteína G (Pharmacia Biotechnology, Uppsala, Sweden), o soro foi adicionado às placas por 24 horas a 37°C. As placas foram lavadas cinco vezes com PBS-T e em seguida incubadas por duas horas com um anti IgE humana conjugada à fosfatase alcalina (Sigma, St Louis, MO, U.S.A). Após

lavagem com PBS-T, a reação foi revelada com o substrato p-nitrofenilfosfato (Sigma, St Louis, MO, U.S.A), diluído em tampão carbonato-bicarbonato, 1mM MgCL<sub>2</sub> por 30 min. a temperatura ambiente. A reação foi bloqueada por adição de hidróxido de sódio 3M e o resultado lido através de espectrofotômetro a 405 nm. Um pool contendo 10 soros de pacientes com estrogiloidiase depletados de IgG através do uso de proteína G foi estabelecido e a determinação de IgE total foi feita antes e após a passagem em colunas com pérolas de sefarose 4B recobertas com antígeno de *S. stercoralis* ligado à brometo de cianogênio ativado. Este pool foi designado como curva padrão e calibrado com padrões de um kit comercial com concentrações conhecidas de IgE, para que os resultados pudessem ser expressos em Unidades Internacionais (UI).

#### 3.3.4 Determinação de IgG específico contra antígeno de *S. stercoralis*

Placas de microtitulação (Linbro, Flow Laboratories Inc., Virgínia, U.S.A) com fundo chato foram sensibilizadas com o antígeno somático de *S. stercoralis* na concentração de 2,5 µg/ml em tampão carbonato-bicarbonato pH 7,2 durante 24 horas a 4°C. Posteriormente, foram realizadas cinco lavagens com PBS-T. Após bloqueio com PBS contendo 0,25% de soro albumina bovino por uma hora e cinco lavagens com PBS-T, o soro (100 µl/poço) foi adicionado na diluição 1:32 e incubado por 30 minutos a 37°C. Os poços foram lavados por 5 vezes com PBS-T e incubados com 100 µl de anti IgG humana conjugada à fosfatase alcalina por 45 min.(Sigma, St Louis, MO, USA). Os poços foram lavados novamente por cinco vezes e a coloração desenvolvida pela adição do substrato p-nitrofenilfosfato após 30 min. A absorvância foi medida através de espectrofotômetro a 405 nm e os resultados expressos em densidade óptica (DO). O cut off considerado foi obtido



através da média + 3 desvios padrões dos controles negativos. Valores  $\geq$  cutoff foram considerados positivos. Este teste foi padronizado no laboratório de Imunologia do HUPES e apresenta sensibilidade de 92% e especificidade de 82% (BRASIL et al., 1988).

### 3.4 AVALIAÇÃO DA IMUNIDADE CELULAR

A avaliação da resposta imune celular foi feita com sangue heparinizado colhido em veia periférica na face ventral do antebraço após assepsia. Esta avaliação constou da avaliação de produção de citocinas em células não estimuladas ou estimuladas com mitógenos e antígenos de *S. stercoralis*. Foram determinadas a produção das seguintes citocinas: IFN- $\gamma$ , IL-5, IL-10 e TNF- $\alpha$ .

#### 3.4.1 Separação de células mononucleares do sangue periférico

Células mononucleares de sangue periférico foram isoladas a partir de sangue heparinizado, através de gradiente de centrifugação com Ficoll-Hypaque (LSM; Organon Teknika corporation, Durham, NC). Após separação, as células foram coletadas da interface e lavadas por três vezes em salina estéril. Depois de lavadas, as células foram ressuspendidas em meio RPMI (GIBCOBRL, Grand Island, NY) suplementado com 10% de soro AB+, glutamina e gentamicina, e ajustadas a uma concentração de  $3 \times 10^6$ /ml. A viabilidade celular determinada através da coloração de azul de tripano foi superior a 98%.

#### 3.4.2 Dosagem de IFN- $\gamma$ , IL-5, IL-10, TNF- $\alpha$

Células mononucleares ( $3 \times 10^6$ /ml) foram cultivadas em meio RPMI, suplementadas com 10% de soro AB+ na presença de antígeno de *S. stercoralis* (01  $\mu$ g/ml)

(apenas nos pacientes com estrogiloidíase), mitógeno PHA (diluição final 1:10) ou na ausência de estímulo, a 37°C 5% CO<sup>2</sup>. Após incubação por 72 horas o sobrenadante destas culturas foram colhidas e os níveis de Interferon- $\gamma$ , IL-5, IL-10 e TNF- $\alpha$  foram dosados através da técnica de ELISA (técnica sanduiche), utilizando-se reagentes comercialmente fabricados (Genzyme Corp., Cambridge, MA, USA). Uma curva padrão foi utilizada para expressar os resultados em pg/ml.

### 3.5 TESTES SOROLÓGICOS PARA HTLV-1

Títulos séricos de anticorpos anti-HTLV-1 foram determinados através da técnica de ELISA (Cambridge Biotech Corp., Worcester, MA, U.S.A). Amostras positivas foram então, submetidas à confirmação sorológica e a discriminação entre HTLV-I e HTLV-II que foi feita através da técnica Western blot (HTLV Blot 2.4, Genelabs, Science Park Drive, Singapore). Os resultados do Western blot foram interpretados de acordo com as instruções do fabricante: a) HTLV-I positivo: reatividade para o GAG p24 com ou sem p19 e 2 proteínas do envelope (ENV) (gd21 e rgp 46-I); b) HTLV-II positivo: reatividade para o GAG p24 com ou sem p19 e 2 ENV (gd21 e rgp 46-II); c) HTLV positivo: reatividade para o GAG p19, p24 e ENV gd21; d) Indeterminado: detecção de bandas específicas para HTLV, porém não preenchendo os critérios de positividade para HTLV-I, HTLV-II ou HTLV; e) HTLV negativo: nenhuma reatividade para bandas específicas para o HTLV. As células de pacientes sorologicamente positivos e indeterminados foram avaliadas através da técnica de reação de polimerase em cadeia (PCR) para diferenciação dos tipos e para determinação da positividade respectivamente. Estes exames foram realizados no Laboratório Avançado de Saúde Pública (LASP) na Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ).

### 3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A frequência de infecção pelo *S. stercoralis* e por outros parasitos intestinais entre dois grupos foram comparadas usando o teste Qui Quadrado. Para comparar a positividade do teste sorológico (IgG) e do teste cutâneo entre dois grupos foi utilizado o teste exato de Fisher. A comparação dos dados imunológicos foi realizada usando o teste não paramétrico Mann Whitney. Estes testes foram realizados, utilizando o programa de estatística PRIMER. As correlações foram avaliadas, utilizando o teste não paramétrico de Spearman e o programa de estatística usado foi o "In Stat" para computador Macintosh.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Dados epidemiológicos e frequência de estrogiloidíase e outras parasitoses intestinais em doadores de sangue com sorologia positiva e negativa para HTLV-1

Os dados de sexo, idade dos 200 doadores de sangue com sorologia positiva (n=100) e negativa (n=100) para HTLV-1 são apresentados na tabela 1(A), enquanto que os dados sobre o grau de instrução e os fatores de risco dos 100 doadores de sangue com sorologia positiva para HTLV-1 são apresentados na tabela 1(B). No grupo com sorologia positiva para HTLV-1 a relação sexo masculino/sexo feminino foi de 2,4/1. A idade dos indivíduos variou de 18 a 58 anos, com média e desvio padrão de  $38 \pm 10$ . O grau de instrução foi dividido em quatro níveis: analfabeto (nível 0), 1º grau incompleto (nível 1), 1º grau (nível 2), 2º grau (nível 3) e nível superior (nível 4). A maioria dos doadores HTLV-1 positivos tinham até o 1º grau (57%) e 43% tinham o 2º grau ou nível superior. Os fatores de risco avaliados com relação às possíveis fontes de transmissão do vírus foram uso de drogas, transfusão prévia, história de homossexualismo e promiscuidade (mais de quatro parceiros sexuais por ano). Estes dados foram colhidos em uma nova entrevista, vide ficha de avaliação no anexo 1, visto que estas informações foram negadas pelos doadores na triagem prévia à transfusão. Nenhum doador relatou uso de drogas e somente uma minoria apresentava história de transfusão sanguínea prévia (12%), promiscuidade (13%). Adicionalmente, quando questionamos a respeito do aleitamento materno, 93 doadores com sorologia positiva para HTLV-1 sabiam esta informação. Destes 93 doadores, 87 (93,5%) tinham história de aleitamento materno. Em relação ao tempo de amamentação 33 (38%) destes 87 doadores não sabiam esta

informação, enquanto que sete doadores dos que sabiam esta informação tinham história de aleitamento materno  $\leq$  seis meses e 47 (54%) tinham história de aleitamento materno  $\geq$  seis meses. No grupo de 100 doadores com sorologia negativa para HTLV-1 a idade variou de 18 a 58 anos com média e desvio padrão de  $34 \pm 10$  e a relação sexo masculino/feminino foi de 2,2/1. Foram analisados, também, os resultados de testes sorológicos para outras doenças tais como: sífilis, hepatite B e hepatite C (tabela 2) nestes dois grupos. Aqueles com sorologia positiva para HIV não fizeram parte do estudo. Houve diferença estatisticamente significativa em relação à sorologia para sífilis (VDRL), quando comparamos os dois grupos. Dos 10 doadores com infecção pelo HTLV-1 e sorologia positiva para sífilis apenas três tinham história de promiscuidade associada.

**TABELA 1**

**A. Idade e sexo de doadores de sangue com sorologia positiva e negativa para HTLV-1**

Variáveis	HTLV-1 positivo (n=100)	HTLV-1 negativo (n=100)
Idade	$38 \pm 10$	$34 \pm 10$
Sexo ( M/F)	2,4/1	2,2/1

**B. Aspectos epidemiológicos de doadores de sangue com sorologia positiva para HTLV-1**

Variáveis	HTLV-1 positivo (n=100)
Estado civil (C/S)	2,2/1
Grau de instrução :	0
	1
	2
	3
	4
Fatores de risco:	
1. Uso de drogas	0
2. Transfusão prévia	12
3. Promiscuidade (mais de 04 parceiros por ano)	13

**Tabela 2**

Aspectos sorológicos (sífilis, hepatite B, hepatite C) de 100 doadores de sangue HTLV-1 positivos e 100 doadores de sangue HTLV-1 negativos

Sorologias associadas	Número de indivíduos com teste sorológico positivo		valor de p
	HTLV-1 positivo	HTLV-1 negativo	
Sífilis	10	01	0,01
Hepatite B	05	08	0,56
Hepatite C	02	02	0,61

Teste Qui-quadrado

A frequência de infecção causada pelo *S. stercoralis* determinada pelo encontro de larvas no exame de Baermann em doadores de sangue HTLV-1 positivos e HTLV-1 negativos é mostrada na tabela 3. Nos indivíduos HTLV-1 positivos a frequência de infecção pelo *S. stercoralis* foi maior (16%) do que nos indivíduos HTLV-1 negativos, nos quais a frequência foi de 8%, porém esta diferença não foi estatisticamente significativa ( $p = 0,128$ ). A frequência de positividade do exame de Baermann e da sorologia (IgG anti *S. stercoralis*) em 100 doadores com sorologia positiva para HTLV-1 está mostrado na tabela 4. Dos 16 indivíduos com Baermann positivo, 14 apresentavam sorologia positiva para *S. stercoralis*. Em 9 casos o exame de Baermann foi negativo e a sorologia para IgG foi positiva. Nestes casos foi negada a história prévia de infecção pelo *S. stercoralis* assim como uso de anti helmínticos nos últimos 12 meses. A sensibilidade do teste sorológico (IgG anti *S. stercoralis*) em pacientes com HTLV-1 foi de 87% e a especificidade neste mesmo grupo foi de 90%. A frequência de outras parasitoses intestinais em pacientes HTLV-1 positivos e HTLV-1 negativos é mostrada na tabela 5. A frequência de parasitos detectados no exame parasitológico de fezes foi

sempre maior no grupo HTLV-1 positivo exceto com relação ao parasito *Enterobius vermicularis* e ao parasito *Giardia lamblia* cuja positividade foi igual nos dois grupos.

Em virtude da não existência de um estudo recente com relação a frequência de infecção pelo *S. stercoralis* e por outras parasitoses intestinais na população de Salvador, e considerando a possibilidade da existência de um viés na amostra do grupo controle HTLV-1 negativo, os resultados acima obtidos foram comparados com o observado em pacientes do ambulatório do HUPES. A frequência de infecção causada pelo *S. stercoralis* determinada pelo encontro de larvas no exame de Baermann em doadores de sangue HTLV-1 positivos e pacientes do ambulatório do HUPES é mostrada na tabela 6. Nos indivíduos HTLV-1 positivos a frequência de infecção pelo *S. stercoralis* foi maior (16%) do que nos pacientes do ambulatório do HUPES, nos quais a frequência foi de 4% ( $p = 0,01$ ). A frequência de outras parasitoses intestinais em pacientes HTLV-1 positivos e em pacientes do ambulatório do HUPES é mostrada na tabela 7. A frequência de parasitos detectados no exame parasitológico de fezes foi sempre maior no grupo HTLV-1 positivo.

**Tabela 3**

Frequência de infecção pelo *S. stercoralis* em 100 doadores de sangue com sorologia positiva e 100 doadores de sangue com sorologia negativa para HTLV-1

<b>Grupos</b>	<b>Número de pacientes com Baermann positivo</b>	<b>%</b>
HTLV-1 positivo	16/100	16%
HTLV-1 negativo	8/100	8%

Teste Qui-quadrado  
 $p = 0,128$

**Tabela 4**

Frequência de positividade do exame de Baermann e da sorologia (IgG) para *S. stercoralis* em 100 doadores de sangue com sorologia positiva para HTLV-1

Teste diagnóstico	Frequência	%
Exame de Baermann +	16/100	16%
IgG anti <i>S. stercoralis</i> +	23/100	23%
Baermann + e IgG +	14/100	14%
Baermann + e IgG -	2/100	2%
Baermann - e IgG +	9/100	9%

**Tabela 5**

Frequência de parasitoses intestinais em 100 doadores de sangue HTLV-1 positivos e 100 doadores de sangue HTLV-1 negativos

Parasitose intestinal	HTLV-1 positivo (%)	HTLV-1 negativo (%)	valor de p
<i>Trichocephalus trichiurus</i>	17/100 (17%)	14/100 (14%)	0,69
<i>Ascaris lumbricoides</i>	15/100 (15%)	9/100 (9%)	0,27
<i>Schistosoma mansoni</i>	10/100 (10%)	4/100 (4%)	0,16
<i>Ancilóstomo duodenalis</i>	6/100 (6%)	4/100 (4%)	0,74
<i>Enterobius vermicularis</i>	1/100 (1%)	1/100 (1%)	0,47
<i>Entamoeba histolytica</i>	6/100 (6%)	4/100 (4%)	0,74
<i>Giardia lamblia</i>	2/100 (2%)	3/100 (3%)	1,00

Teste Qui-quadrado



**Tabela 6**

Frequência de infecção pelo *S. stercoralis* em 100 doadores de sangue com sorologia positiva para HTLV-1 e 100 pacientes do ambulatório do HUPES

<b>Grupos</b>	<b>Número de pacientes com %</b>	
	<b>Baermann positivo</b>	
HTLV-1 positivo	16/100	16%
Pacientes do HUPES	4/100	4%

Teste Qui-quadrado  
p = 0,01

**Tabela 7**

Frequência de parasitoses intestinais em 100 doadores de sangue HTLV-1 positivos e 100 pacientes do ambulatório do HUPES

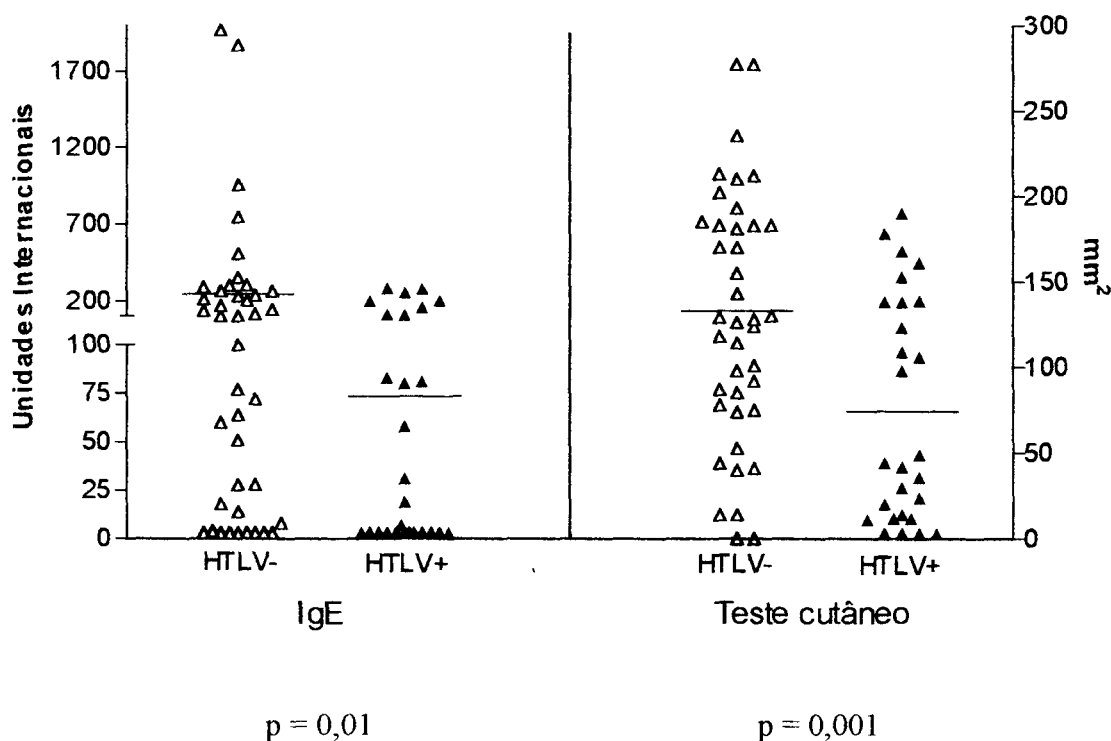
<b>Parasitose intestinal</b>	<b>HTLV-1 positivo (%)</b>	<b>Pacientes do HUPES</b>	<b>valor de p</b>
<i>Trichocephalus trichiurus</i>	17/100 (17%)	3/100 (3%)	0,002
<i>Ascaris lumbricóides</i>	15/100 (15%)	2/100 (2%)	0,002
<i>Schistosoma mansoni</i>	10/100 (10%)	0/100 (0%)	0,004
<i>Ancilóstomo duodenalis</i>	6/100 (6%)	0/100 (0%)	0,03
<i>Enterobius vermicularis</i>	1/100 (1%)	0/100 (0%)	1,0
<i>Entamoeba histolytica</i>	6/100 (6%)	3/100 (4%)	0,49
<i>Giardia lamblia</i>	2/100 (2%)	2/100 (2%)	0,61

Teste Qui-quadrado

## 4.2 Influência da infecção pelo HTLV-1 nos títulos e na frequência de anticorpos da classe IgG e IgE e na resposta ao teste cutâneo para *S. stercoralis*

Com a finalidade de determinar se a infecção pelo HTLV-1 interfere na positividade de testes sorológicos e no teste de hipersensibilidade imediata com antígeno de *S. stercoralis*, os níveis de IgG e IgE específicos contra antígenos parasitários realizados pela técnica de ELISA e os testes cutâneos com antígeno metabólico de *S. stercoralis* foram avaliados em 27 pacientes coinfectados com HTLV-1 e *S. stercoralis* e em 40 pacientes com estrogiloidíase, mas sem infecção pelo HTLV-1. No grupo com coinfecção pelo HTLV-1 e *S. stercoralis* e no grupo com infecção pelo *S. stercoralis* sem coinfecção pelo HTLV-1 as relações sexo masculino/feminino foi de 1,7/1 e de 1,8/1 respectivamente. A idade variou de 20 a 53 anos com média e desvio padrão  $39 \pm 9$  no grupo com coinfecção pelo HTLV-1 e *S. stercoralis* e no grupo com infecção pelo *S. stercoralis* sem coinfecção pelo HTLV-1 a idade variou de 8 a 49 anos com média e desvio padrão de  $26 \pm 14$ . A distribuição dos níveis de IgE expressos em UI e os resultados do teste cutâneo expressos em  $\text{mm}^2$  em pacientes com estrogiloidíase sem infecção por HTLV-1 e coinfectados com HTLV-1 são mostrados na figura 1. A média dos títulos de IgE em pacientes sem infecção pelo HTLV-1 ( $251 \pm 437$  UI) foi maior ( $p = 0,01$ ) que a observada em pacientes com estrogiloidíase coinfectados com HTLV-1 ( $74 \pm 94$  UI). De modo semelhante, a média dos resultados do teste cutâneo expressos em  $\text{mm}^2$  em pacientes com *S. stercoralis* sem HTLV-1 ( $136 \pm 75\text{mm}^2$ ) foi mais alta ( $p = 0,001$ ) do que a média deste teste em pacientes coinfectados com *S. stercoralis* e HTLV-1 ( $74 \pm 65\text{mm}^2$ ). Em contraste com os resultados de IgE e do teste de hipersensibilidade imediata, ambos os grupos tiveram densidades ópticas similares nos testes de ELISA

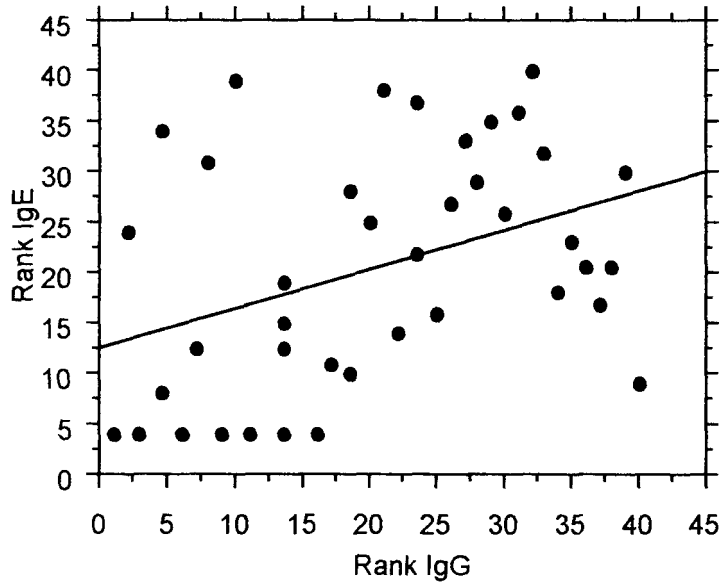
para IgG:  $0,194 \pm 0,086$  nos pacientes coinfectados por HTLV-1 e *S. stercoralis* e  $0,187 \pm 0,094$  no grupo com estrogiloidiase sem infecção pelo HTLV-1 ( $p = 0,54$ ). As análises estatísticas foram realizadas, usando o teste não paramétrico Mann Whitney.



**Figura 1.** Comparação dos níveis de IgE específico contra antígeno de *S. stercoralis* e do teste cutâneo de 27 pacientes com estrogiloidiases coinfectados pelo HTLV-1 e 40 pacientes com estrogiloidiase sem coinfeção pelo HTLV-1; Mann Whitney.

Enquanto houve uma correlação direta entre as absorvâncias de IgG e IgE específicos contra antígeno de *S. stercoralis* em pacientes com estrogiloidiase sem HTLV-1 ( $p = 0,01$ ;  $r_s = 0,39$ , Correlação de Spearman), (figura2) nenhuma correlação entre estes isotipos foi observada no grupo que apresentava infecção concomitante por *S. stercoralis* e HTLV-1 ( $p = 0,59$ ;  $r_s = 0,19$ ).

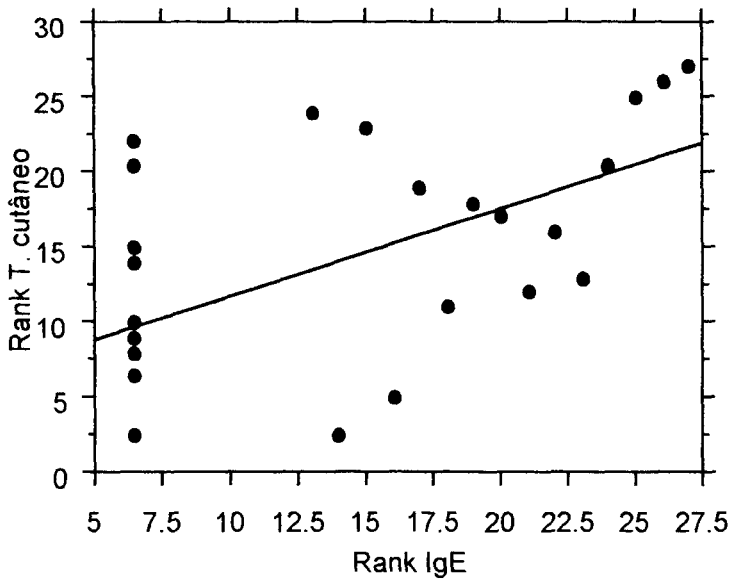
Em ambos os grupos uma correlação direta entre a área do teste cutâneo e os níveis de IgE específico contra antígeno de *S. stercoralis* foi observada (Correlação de Spearman) (figura 3).



**FIGURA 2.** Correlação entre os níveis de IgG (DO) e IgE (UI) específicos contra antígeno de *S. stercoralis* em 40 pacientes com estrogiloidíase sem HTLV-1.  $p = 0,01$ ;  $r_s = 0,39$ ; Correlação de Spearman.

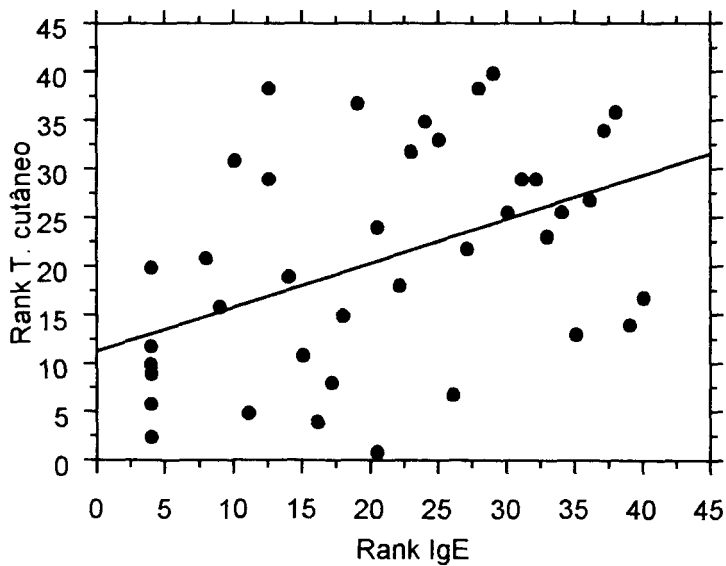
A

$p=0,002$   
 $r_s=0,56$



B

$p=0,003$   
 $r_s=0,45$



**FIGURA 3.** Correlação entre os níveis de IgE (UI) e o tamanho do teste cutâneo ( $\text{mm}^2$ ) em 27 pacientes com estrogiloidíase com coinfeção pelo HTLV-1 (A) e 40 pacientes sem (B) coinfeção pelo HTLV-1; Correlação de Spearman.

Em adição a uma diminuição dos níveis de IgE específico contra antígenos de *S. stercoralis* e do teste cutâneo no grupo com estrogiloidíase associado com infecção pelo HTLV-1, o número de pacientes com testes positivos foi também mais baixo neste grupo (tabela 8). Enquanto 32 (80%) dos pacientes com estrogiloidíase sem infecção por HTLV-1 tiveram anticorpos da classe IgE específicos contra *S. stercoralis*, somente 12 (44%) dos 27 pacientes coinfetados pelo *S. stercoralis* e pelo HTLV-1 tiveram anticorpos da classe IgE específicos contra *S. stercoralis* detectáveis através do método ELISA ( $p = 0,004$ ). A presença de infecção pelo HTLV-1 também reduziu a sensibilidade do teste cutâneo com antígeno de *S. stercoralis*. Enquanto no grupo de pacientes com estrogiloidíase sem HTLV-1, o número de indivíduos com teste cutâneo positivo foi 37/40 (92.5%), no grupo com coinfecção por HTLV-1 a positividade do teste cutâneo foi 16/27 (59%) ( $p = 0,002$ ).

**Tabela 8**

Influência da infecção por HTLV-1 na frequência de anticorpos IgE específica e na positividade do Teste Cutâneo com antígeno de *S. stercoralis*

Testes	Estrongiloidíase (+)	Estrongiloidíase (+)	Valor de P
	HTLV-1 (+) N=27	HTLV-1 (-) N=40	
<b>IgE</b>	12 (44%)	32 (80%)	0,004
<b>Teste cutâneo</b>	16 (59%)	37 (92,5%)	0,002

Teste exato de Fisher

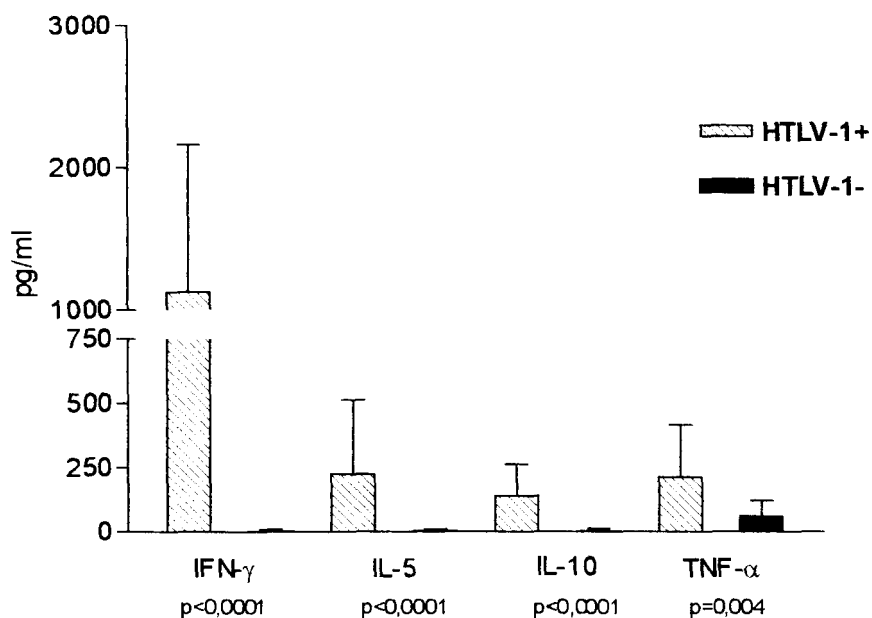
Todos os pacientes destes grupos tinham larvas de *S. stercoralis* documentadas nas fezes e a grande maioria deles era assintomática em relação à infecção por *S. stercoralis*. Em três pacientes foi documentada estrogiloidíase grave (caracterizada por

diarréia intensa, hipoalbuminemia, perda de peso e desidratação) e todos estes pacientes faziam parte do grupo com coinfeção pelo HTLV-1. Embora estes pacientes com estrogiloidiase grave tivessem níveis de anticorpos da classe IgG específicos contra *S. stercoralis*, eles não apresentavam níveis de IgE específicos contra *S. stercoralis* detectáveis no soro, e os testes cutâneos foram negativos.

### 4.3 Produção de citocinas em culturas não estimuladas de indivíduos infectados ou não pelo HTLV-1

Com a finalidade de determinar se a produção aumentada de IFN- $\gamma$  previamente observada em pacientes portadores de HTLV-1 está restrita a esta citocina, determinação de IFN- $\gamma$ , IL-5, IL-10 e TNF- $\alpha$  foi realizada em culturas não estimuladas de 26 indivíduos portadores de HTLV-1 não infectados por *S. stercoralis* e em 15 controles saudáveis. A distribuição dos valores obtidos, expressos em pg/ml são mostrados na figura 4. A média dos níveis de IFN- $\gamma$  em pacientes infectados com HTLV-1 foi de  $1128 \pm 1037$  pg/ml com variação de 0 a 2966 pg/ml, enquanto nos indivíduos saudáveis a média foi de  $1 \pm 4$  pg/ml ( $p < 0,0001$ ) e os níveis variaram de 0 a 15 pg/ml. A média dos níveis de IL-5 no grupo infectado pelo HTLV-1 ( $220 \pm 287$  pg/ml) com variação de 0 a 1126 pg/ml foi mais alta ( $p < 0,0001$ ) do que a média dos níveis de IL-5 ( $2 \pm 2$  pg/ml) com variação de 2 a 4 pg/ml em indivíduos saudáveis. Houve diferença estatisticamente significativa não só com relação aos níveis destas duas citocinas nos grupos HTLV-1 positivos e controles, como também quanto às citocinas IL-10 e TNF- $\alpha$ . A média dos níveis de IL-10 em indivíduos com infecção pelo HTLV-1 foi de  $139 \pm 124$  pg/ml e variaram de 0 a 390 pg/ml, enquanto que nos indivíduos controles a média foi de  $2,6 \pm 10$  pg/ml com uma variação de 0 a 39 pg/ml ( $p < 0,0001$ ). A média dos níveis de TNF- $\alpha$

em indivíduos com infecção pelo HTLV-1 e controles foi de  $213 \pm 202$  pg/ml com variação de 0 a 726 pg/ml e  $60 \pm 63$  pg/ml com variação de 0 a 159 pg/ml respectivamente ( $p = 0,004$ ). As análises estatísticas foram realizadas usando o teste não paramétrico Mann Whitney.



**Figura 4.** Produção de citocinas em culturas não estimuladas de 26 doadores de sangue com sorologia positiva para HTLV-1 e 15 controles; Mann Whitney.

Embora os níveis de IFN- $\gamma$  fossem em todos os casos de infecção pelo HTLV-1 mais elevados do que no grupo controle, houve uma grande variabilidade nos níveis desta citocina nos indivíduos HTLV-1 positivos. Com a finalidade de determinar se os níveis de IFN- $\gamma$  poderiam interferir na produção de outras citocinas, estes indivíduos foram arbitrariamente subdivididos em dois grupos: os altos produtores apresentavam uma variação de IFN- $\gamma$  de 712 a 2966 pg/ml, enquanto que os baixos produtores de IFN- $\gamma$  tinham níveis abaixo de 366 pg/ml. Foi observado que, quando os níveis de IFN- $\gamma$  eram altos, os níveis de TNF- $\alpha$ , IL-5 e IL-10 também eram mais elevados. Na tabela 9 estão



ilustradas as médias dos níveis de IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-5 e IL-10 nos dois grupos (altos respondedores e baixos respondedores), como também os valores de p, revelando haver diferenças estatisticamente significantes, quando comparamos os níveis destas citocinas nestes dois grupos. As variáveis idade, sexo, outras sorologias associadas (sífilis, hepatite B e hepatite C) e parasitoses intestinais foram avaliadas com a finalidade de saber se outro fator estaria influenciando nestes resultados, não sendo documentada associação entre os níveis de IFN- $\gamma$  e estas variáveis.

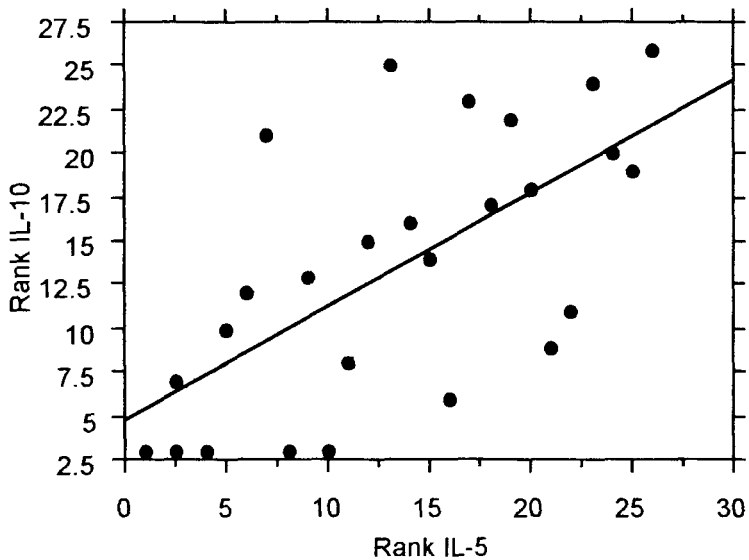
**Tabela 9**

Níveis de citocinas de culturas não estimuladas de indivíduos infectados pelo HTLV-1 com alta ou baixa produção de IFN- $\gamma$

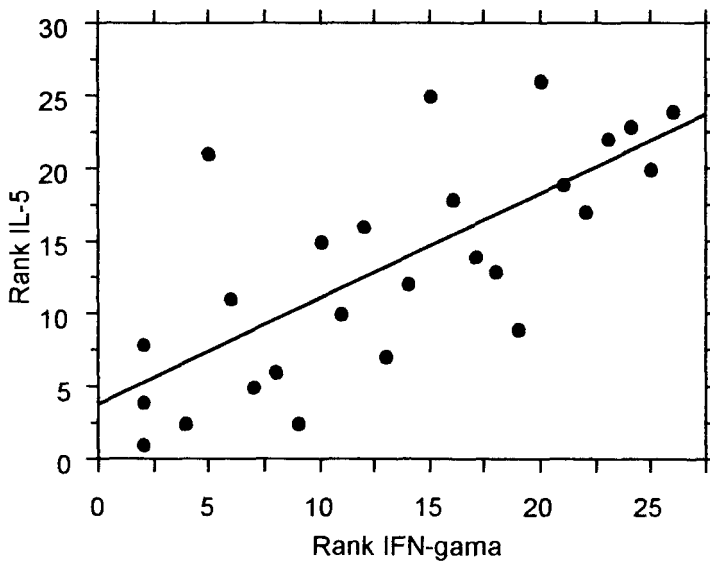
Citocinas	Indivíduos infectados com HTLV-1 (n=26)		valor de p
	Altos respondedores (n=15)	Baixos respondedores (n=11)	
IFN- $\gamma$	1900 $\pm$ 635	75 $\pm$ 107	<0,0001
TNF- $\alpha$	291 $\pm$ 191	107 $\pm$ 171	0,005
IL-5	332 $\pm$ 333	69 $\pm$ 86	0,001
IL-10	216 $\pm$ 105	32 $\pm$ 39	<0,0001

Teste Mann Whitney

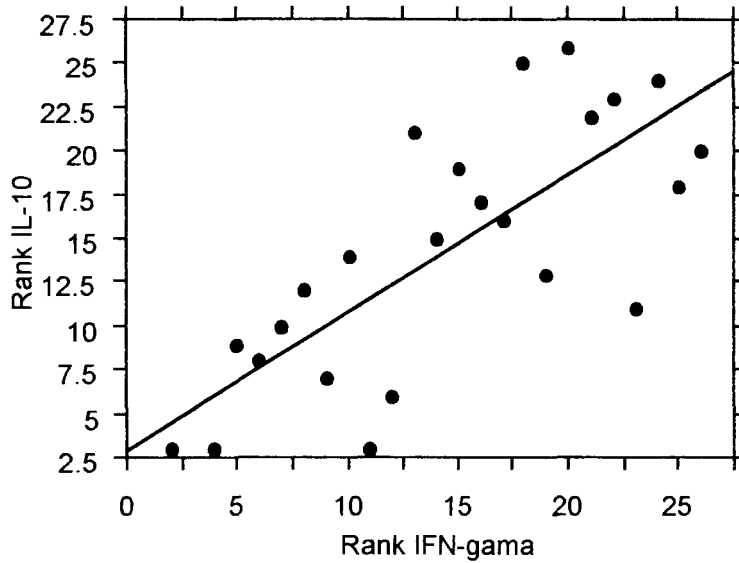
Como é sabido que uma resposta do tipo Th2 pode diminuir a produção de IFN- $\gamma$ , correlações entre os níveis de IFN- $\gamma$ , IL-5 e IL-10 foram analisadas em 26 pacientes, apenas, com infecção pelo HTLV-1. Foi observada uma correlação direta entre os níveis de IL-5 e IL-10 ( $p = 0,0003$ ,  $r_s = 0,65$ , Correlação de Spearman) (figura 5), como também houve uma correlação direta entre os níveis de IFN- $\gamma$  e de IL-5 ( $p < 0,0001$ ,  $r_s = 0,73$ , Correlação de Spearman) (figura 6) e entre os níveis de IFN- $\gamma$  e de IL-10 ( $p < 0,0001$ ,  $r_s = 0,79$ , Correlação de Spearman) (figura 7).



**Figura 5.** Correlação entre os níveis de IL-5 (pg/ml) e de IL-10 (pg/ml) em 26 doadores de sangue com infecção pelo HTLV-1.  $p=0,0003$ ;  $r_s=0,65$ ; Correlação de Spearman.



**Figura 6.** Correlação entre os níveis de IFN- $\gamma$  (pg/ml) e de IL-5 (pg/ml) de 26 doadores de sangue com infecção pelo HTLV-1.  $p<0,0001$ ;  $r_s=0,73$ ; Correlação de Spearman.

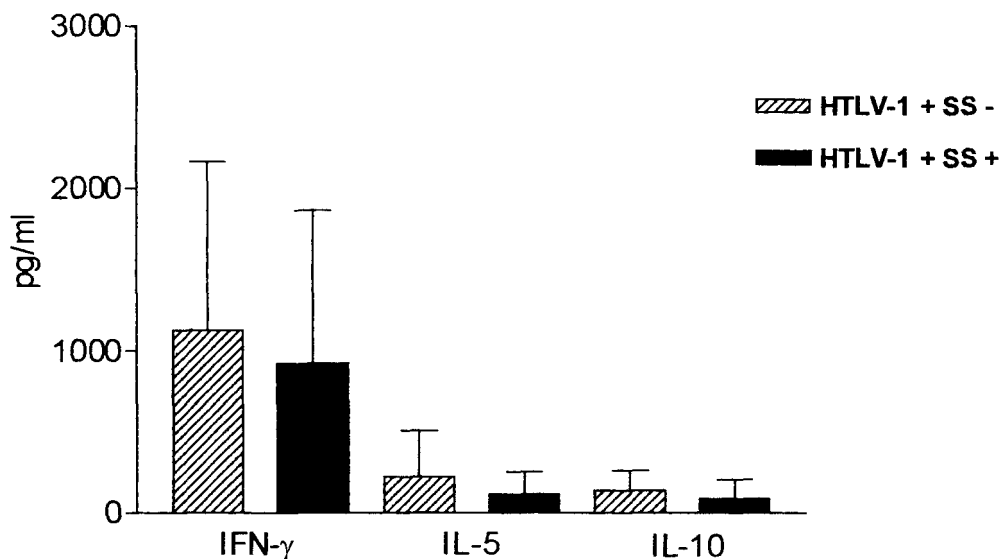


**Figura 7.** Correlação entre os níveis de IFN- $\gamma$  (pg/ml) e de IL-10 (pg/ml) de 26 doadores de sangue com infecção pelo HTLV-1.  $p < 0,0001$ ;  $r_s = 0,79$ ; Correlação de Spearman.

#### 4.4 Interferência da infecção pelo *S. stercoralis* na produção de citocinas em culturas não estimuladas de pacientes HTLV-1 positivos

Com a finalidade de saber se a coinfeção pelo *S. stercoralis* poderia alterar a resposta imune nos pacientes infectados pelo HTLV-1, os níveis de citocinas (IFN- $\gamma$ , IL-5 e IL-10) de culturas não estimuladas de 26 pacientes com HTLV-1 sem coinfeção pelo *S. stercoralis* e de 20 pacientes com coinfeção pelo *S. stercoralis* foram comparados. A média dos níveis de IFN- $\gamma$ , IL-5 e IL-10 no grupo apenas com infecção pelo HTLV-1 foi de  $1128 \pm 1037$  pg/ml com variação de 0 a 2966 pg/ml,  $220 \pm 287$  pg/ml com variação de 0 a 1126 pg/ml e  $139 \pm 124$  pg/ml com variação de 0 a 390 pg/ml respectivamente. Não houve diferença estatisticamente significativa, quando estes níveis foram comparados com os níveis de IFN- $\gamma$  ( $919 \pm 944$  com variação de 0 a 3470 pg/ml) ( $p = 0,69$ ), com os níveis de IL-5 ( $115 \pm 139$  pg/ml com variação de 0 a 571 pg/ml) ( $p =$

0,20) e com os níveis de IL-10 ( $88 \pm 116$  pg/ml com variação de 0 a 334) ( $p = 0,28$ ) do grupo com HTLV-1 com coinfeção pelo *S. stercoralis* (figura 8). As análises estatísticas foram realizadas usando o teste não paramétrico Mann Whitney.

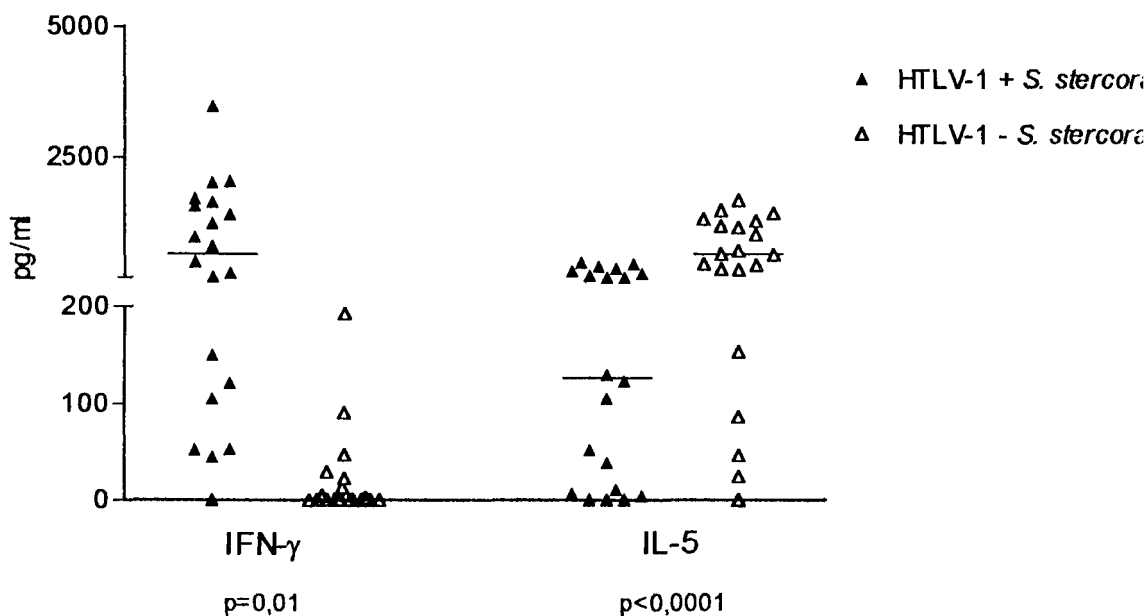


**Figura 8.** Produção de citocinas (pg/ml) em culturas não estimuladas de pacientes com HTLV-1 coinfectados (n=20) ou não coinfectados (n=26) pelo *S. stercoralis*. Não houve diferença estatisticamente significante entre os grupos; Mann Whitney.

#### 4.5 Produção de citocinas em pacientes com estrogiloidíase com e sem coinfecção pelo HTLV-1

Os níveis de citocinas (IFN- $\gamma$  e IL-5) em culturas estimuladas com Ag. de *S. stercoralis* (1 $\mu$ g/ml) de 20 pacientes com estrogiloidíase sem HTLV-1 e de 20 pacientes com estrogiloidíase coinfecados com HTLV-1 foram determinados com a finalidade de observar se a infecção pelo *S. stercoralis* está relacionada com uma resposta tipo Th1 ou tipo Th2, como também se o vírus HTLV-1 compromete esta resposta. Enquanto o IFN- $\gamma$  representa uma resposta do tipo Th1, a IL-5 está relacionada com uma resposta do tipo Th2. A distribuição dos valores obtidos, expressos em pg/ml estão representados na figura 9. No grupo com coinfecção pelo HTLV-1 e *S. stercoralis* e no grupo com infecção pelo *S. stercoralis* sem coinfecção pelo HTLV-1 as relações sexo masculino/feminino foi de 2,3/1 e de 4/1 respectivamente. A idade variou de 20 a 53 anos com média e desvio padrão  $39 \pm 9$  no grupo com coinfecção pelo HTLV-1 e *S. stercoralis* e no grupo com infecção pelo *S. stercoralis* sem coinfecção pelo HTLV-1 a idade variou de 8 a 49 anos com média e desvio padrão de  $26 \pm 16$ . A média dos níveis de IFN- $\gamma$  em pacientes, apenas, com infecção pelo *S. stercoralis* foi de  $20 \pm 46$  pg/ml com variação de 0 a 192 pg/ml. Estes valores foram inferiores ( $p = 0,01$ ) aos observados em pacientes coinfecados pelo *S. stercoralis* e pelo HTLV-1 nos quais a média foi  $919 \pm 944$  pg/ml com variação de 0 a 3470 pg/ml. Em contraste, a média dos níveis de IL-5 ( $727 \pm 554$  pg/ml) dos pacientes que apresentavam apenas infecção pelo *S. stercoralis* com uma variação de 0 a 1683 pg/ml, foi bem mais alta ( $p < 0,0001$ ) quando comparadas com a média dos níveis de IL-5 dos pacientes com infecção pelo *S. stercoralis* e coinfecados pelo HTLV-1. Neste último grupo houve uma variação de 0 a

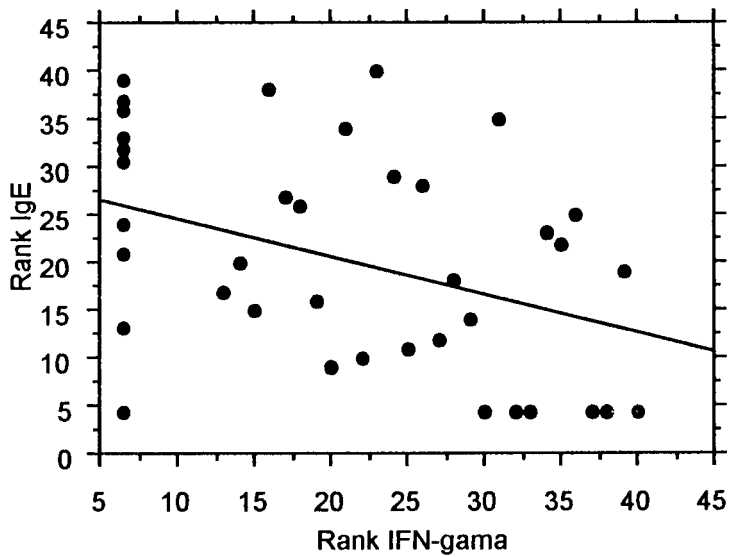
488 pg/ml e uma média de  $173 \pm 168$  pg/ml. As análises estatísticas foram realizadas usando o teste não paramétrico Mann Whitney.



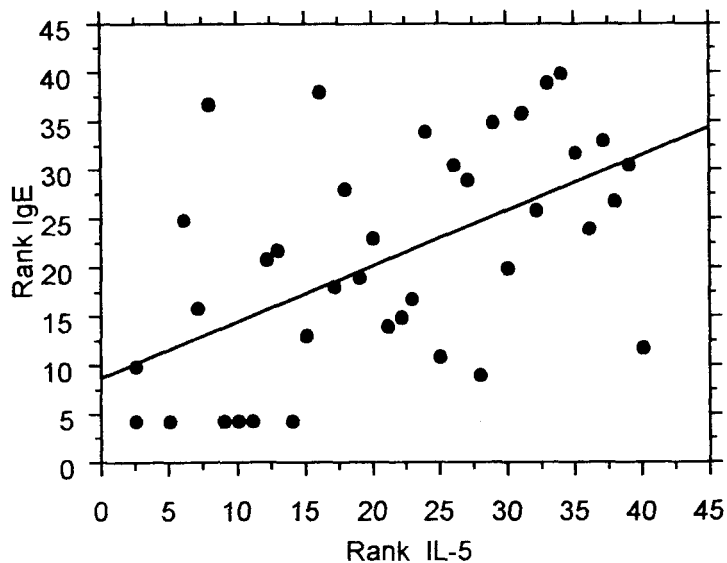
**Figura 9.** Produção de IFN- $\gamma$  e IL-5 em culturas estimuladas com Ag. de *S. stercoralis* em pacientes com estrogiloidiase coinfectados (n=20) ou não coinfectados (n=20) pelo HTLV-1; Mann Whitney. Os níveis de IFN- $\gamma$  nos pacientes coinfectados pelo HTLV-1 representam dados obtidos em culturas contendo somente meio.

Com a finalidade de determinar se a produção de citocinas como IFN- $\gamma$  e IL-5 poderiam influenciar na produção de anticorpos da classe IgE, correlações foram realizadas com os níveis de IFN- $\gamma$ , IL-5 e IgE específica para *S. stercoralis* em 40 pacientes com estrogiloidiases coinfectados ou não com HTLV-1. Como foi demonstrado, anteriormente, os pacientes com infecção pelo *S. stercoralis* coinfectados pelo HTLV-1 apresentam níveis mais altos de IFN- $\gamma$ , quando comparados com os pacientes com estrogiloidiase sem infecção pelo HTLV-1. Já com relação à IL-5, os

níveis foram superiores no grupo com estrogiloidiase sem coinfeccção pelo HTLV-1. A figura 10 mostra a existência de uma correlação inversa entre os níveis de IFN- $\gamma$  e IgE específica para *S. stercoralis* ( $p = 0,01,rs = -0,39$ ,Correlação de Spearman). Neste mesmo grupo de pacientes, observamos uma correlação direta entre IL-5 e IgE específica para *S. stercoralis* ( $p = 0,0001,rs = 0,57$ ,Correlação de Spearman) (figura 11).



**Figura 10.** Correlação entre os níveis de IFN- $\gamma$  (pg/ml) e de IgE (UI) de 40 pacientes com estrogiloidiase coinfectados ( $n=20$ ) ou não coinfectados ( $n=20$ ) pelo HTLV-1.  $p=0,01$ ;  $rs= -0,39$ ; Correlação de Spearman.

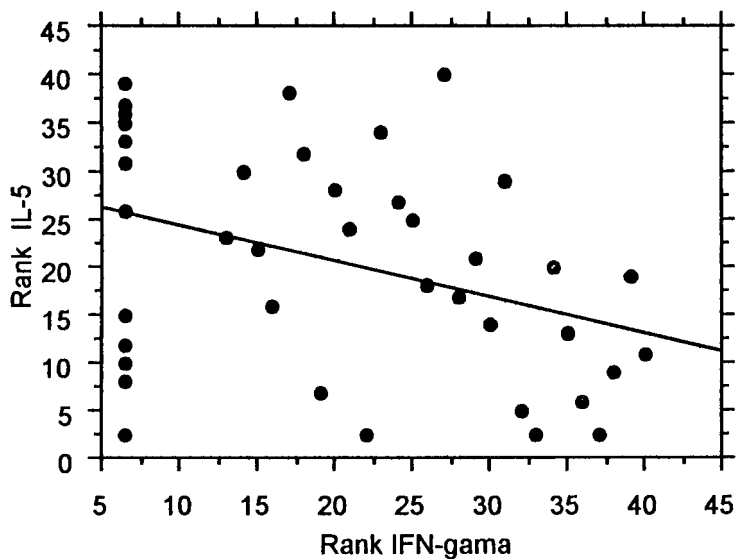


**Figura 11.** Correlação entre os níveis de IL-5 (pg/ml) e de IgE (UI) em 40 pacientes com estrogiloidíase coinfectados (n=20) ou não coinfectados (n=20) pelo HTLV-1.  $p=0,0001$ ;  $r_s=0,57$ ; Correlação de Spearman.

Estes achados não foram observados, quando os níveis de IFN- $\gamma$  e de IgE da população de indivíduos coinfectados pelo *S. stercoralis* e pelo HTLV-1 e do grupo com estrogiloidíase sem HTLV-1 foram analisados separadamente. Apesar dos títulos de IFN- $\gamma$  mais elevados do que os observados nos pacientes sem HTLV-1, a correlação com IgE específica não foi documentada quando somente o grupo coinfectado com estrogiloidíase e HTLV-1 foi avaliado.



A correlação entre os níveis de IFN- $\gamma$  e de IL-5 em 40 pacientes com estrogiloidíase coinfectados ou não pelo HTLV-1 é mostrada na figura 12 ( $p=0,01,rs= -0,37$ ,Correlação de Spearman).



**Figura 12.** Correlação entre os níveis de IFN- $\gamma$  e IL-5 em 40 pacientes com estrogiloidíase coinfectados ( $n=20$ ) ou não coinfectados ( $n=20$ ) pelo HTLV-1.  $p=0,01$ ;  $rs= -0,37$ ; Correlação de Spearman.

## 5 DISCUSSÃO

### Aspectos epidemiológicos

O presente estudo representa a primeira contribuição na qual a frequência de estrombiloidíase e outras parasitoses intestinais foi avaliada em doadores de sangue portadores ou não da infecção pelo HTLV-1. Os dois grupos foram comparáveis com relação à idade e sexo. Apesar de terem negados fatores de risco reconhecidamente associados com infecção pelo HTLV-1 por ocasião da seleção como doadores de sangue, em entrevista posterior, 25% dos indivíduos HTLV-1 positivos relataram história de transfusão prévia ou promiscuidade sexual. Estes dados não apoiam que a via sexual e a transfusão sanguínea são as principais vias de transmissão do HTLV-1. Estas observações estão de acordo com a literatura que indica que o aleitamento materno representa a principal via de transmissão para o HTLV-1 (KAJIYAMA et al., 1986; STUVER et al., 1992), porém seria necessário o conhecimento de dados sobre o parceiro sexual do doador como também uma comparação com doadores de sangue HTLV-1 negativos, para podermos concluir qual a principal via de transmissão no presente estudo. Com referência à sorologia para outras doenças infecciosas tais como hepatite B, hepatite C e sífilis, houve documentação de uma sorologia para sífilis 10 vezes superior nos doadores de sangue HTLV-1 positivos, quando comparados com os doadores de sangue HTLV-1 negativos. Este dado mostra a elevada infecção pelo *Treponema pallidum* em doadores de sangue. A razão pela qual a evidência de sífilis foi maior no grupo HTLV-1 positivo do que no grupo HTLV-1 negativo, poderia ser relacionada com história de promiscuidade sexual, porém apenas três destes indivíduos tinham história de promiscuidade associada. No caso seria importante o conhecimento sobre história de promiscuidade do parceiro sexual do doador.

Associação da coinfeção pelo HTLV-1 e *S. stercoralis* tem sido realizada, comparando a frequência de sorologia positiva para HTLV-1 em indivíduos com evidência ou não de estrogiloidíase. Embora no presente estudo a frequência de infecção pelo *S. stercoralis* tenha sido duas vezes maior nos indivíduos com sorologia positiva para HTLV-1 do que nos indivíduos com sorologia negativa para HTLV-1, esta diferença não foi estatisticamente significativa. Vale-se frisar que a frequência de infecção por outros helmintos intestinais foi também superior no grupo com infecção pelo HTLV-1, principalmente com referência ao *S. mansoni*, embora essa diferença não tenha atingido significância estatística. Pode-se argumentar que em virtude do N da referida amostra, o poder do estudo para esta associação foi somente de 41%. Neste caso, a amostra não foi suficiente para detectar uma diferença. Desta forma, não pode ser afastada a hipótese de que em uma amostra maior esta significância fosse atingida.

Outra hipótese a ser considerada, seria a presença de um viés de seguimento dos pacientes, visto que foram contactados 220 indivíduos com sorologia negativa para HTLV-1 e apenas 100 realizaram os parasitológicos de fezes. Estes 100 indivíduos que realizaram os exames poderiam estar mais preocupados com o fato de serem portadores de alguma parasitose e, conseqüentemente, aderiram ao estudo. Uma menor prevalência de *S. stercoralis* e de outras parasitoses intestinais encontrada nos pacientes do ambulatório do HUPES, quando comparados com o grupo de doadores de sangue com sorologia negativa para HTLV-1 reforça esta hipótese. Quando o grupo de indivíduos com sorologia positiva para HTLV-1 foi comparado com o grupo de pacientes do ambulatório do HUPES houve diferença estatisticamente significativa não só em relação à frequência da documentação de *S. stercoralis*, como também em relação a quatro outros parasitos (*T. trichiurus*, *A. lumbricóides*, *S. mansoni* e *A. duodenalis*). Foi importante o fato de que somente

helminthíases foram mais freqüentes nos indivíduos infectados pelo HTLV-1, não sendo observada diferença entre a freqüência de infecção pela *G. lamblia* e *E. histolytica*. Este dado é importante considerando estudos prévios que têm documentado o papel de IgE como um mecanismo de defesa contra helmintos (DUNNE et al., 1992; RIHET et al., 1991), enquanto que a defesa contra estes protozoários, embora não totalmente esclarecida, parece depender tanto da resposta imune celular como da humoral. Um relato recente mostra uma forte associação entre estrogiloidíase grave e infecção pelo HTLV-1 (GOTUZZO et al., 1999). Nos doadores de sangue do presente estudo, a estrogiloidíase apresentava-se sob forma assintomática. Considerando relatos da ocorrência de estrogiloidíase grave em portadores de HTLV-1, existe a hipótese de que nos indivíduos infectados por este vírus deva haver uma maior eliminação de parasitos. No entanto não se pode ser afastada a possibilidade de que nestes indivíduos, a eliminação do parasito nas fezes seja menor quando há coinfeção pelo HTLV-1 e *S. stercoralis*. Neste caso, o HTLV-1 facilitaria a auto-endo-infeção, por impedir que a eliminação do parasito acontecesse naturalmente nas fezes. A eliminação de parasitos depende do trânsito intestinal e da quantidade de fluido intestinal, fatores que recentemente tem sido mostrado relacionados com a resposta imune do tipo Th2 com participação de IL-4, IgE e mastócitos (AHMAD et al., 1991; FINKELMAN et al., 1997; KING & NUTMAN, 1992; NAWA et al., 1994).

## Aspectos imunológicos

Anticorpos da classe IgG têm sido utilizados no diagnóstico da estrogiloidíase em inquéritos epidemiológicos têm também, contribuído na prática clínica para o diagnóstico das formas agudas desta parasitose e para elucidar situações clínicas onde a despeito da existência de uma forte suspeita de infecção pelo *S. stercoralis* o exame parasitológico persiste negativo (BIRCK et al., 1996; SATO et al., 1995). Anticorpos da classe IgE específico contra antígeno de *S. stercoralis* são também documentados em casos de estrogiloidíase (GENTA et al., 1989; MCRURY et al., 1986). No caso deste isotipo, a importância na sua detecção se relaciona mais com o papel da IgE no mecanismo de defesa contra o *S. stercoralis* do que propriamente como um método de diagnóstico. Um teste alternativo para o diagnóstico da estrogiloidíase com base na produção de IgE poderia ser um teste de hipersensibilidade imediata. A existência de um teste cutâneo com alta sensibilidade e especificidade pode contribuir de modo relevante para o diagnóstico da estrogiloidíase devido a sua simplicidade e a rapidez dos resultados.

Estudos prévios têm demonstrado que a sensibilidade e a especificidade dos testes que detectam anticorpos das classes IgG e IgE e do teste cutâneo para estrogiloidíase são elevados (BRASIL et al., 1988; GAM et al., 1987; GENTA, 1988; MCRURY et al., 1986; SATO et al., 1986; TRIBOULEY-DURET et al., 1976). Considerando-se a importância deste aspecto no diagnóstico da estrogiloidíase foi avaliado no presente estudo se a existência de coinfeção pelo HTLV-1 poderia alterar a resposta a estes testes.

Estudos sorológicos feitos anteriormente em indivíduos portadores de HTLV-1 e estrogiloidíase revelaram que anticorpos da classe IgG são detectados nesses pacientes (ARAKAKI et al., 1992; NEVA et al., 1989; ROBINSON et al., 1994). Os dados do

presente estudo confirmam estes achados e trazem como informação adicional, que os títulos de IgG específico contra antígeno de *S. stercoralis* são semelhantes nos dois grupos (pacientes com estrogiloidíase coinfectados ou não pelo HTLV-1). Desta forma, a infecção pelo HTLV-1 não interfere na positividade nem na magnitude dos títulos de anticorpos IgG contra o *S. stercoralis*. Em um estudo realizado na Jamaica observou-se diminuição dos níveis de IgG1 específica contra antígeno de *S. stercoralis* em pacientes com estrogiloidíase coinfectados pelo HTLV-1, quando comparados com aqueles com estrogiloidíase apenas, enquanto que não houve diferença da subclasse IgG4 específica contra antígeno de *S. stercoralis* entre os dois grupos (ATKINS et al., 1998). Este dado poderia justificar o fato de não ter sido encontrado no presente estudo diferenças entre os níveis de IgG específica contra antígeno de *S. stercoralis*. Dando suporte a esta hipótese, Genta em 1989 observou um predomínio da subclasse IgG4 específica contra antígeno de *S. stercoralis* nos pacientes com estrogiloidíase em relação aos outros isotipos de IgG. Por outro lado, desde que há na infecção pelo HTLV-1 um grande predomínio de atividade Th1 e como IgG4 se relaciona com uma ativação de células Th2, é possível que outras subclasses de IgG possam estar elevadas contribuindo para a não existência da diferença nos níveis de IgG. Estudos posteriores serão necessários no sentido de avaliar se a infecção pelo HTLV-1 interfere nos níveis totais e antígeno específico das subclasses de Imunoglobulinas G. Estes dados poderiam contribuir para determinar que subclasses de IgG estão relacionadas com uma produção exacerbada de IL-2 e de IFN- $\gamma$ .

Em relação aos anticorpos da classe IgE e o teste cutâneo, foi mostrado no presente estudo que a coinfeção pelo *S. stercoralis* e HTLV-1 leva a uma diminuição dos níveis de anticorpos da classe IgE específico contra antígeno de *S. stercoralis* e uma negatividade do

teste de hipersensibilidade imediata para antígeno de *S. stercoralis*. A maioria dos pacientes neste estudo tinham estrogiloidíase assintomática ou leve. Em três pacientes todavia, estrogiloidíase grave foi documentada. Como todos estes três pacientes não tinham anticorpos da classe IgE específicos detectáveis e os testes cutâneos contra antígeno de *S. stercoralis* foram negativos, é possível que a coinfeção com HTLV-1 possa mudar o curso clínico da estrogiloidíase. Desde que a resposta aos testes de hipersensibilidade imediata dependem de IgE, houve, como de se esperar, uma correlação direta entre o teste cutâneo e os níveis de IgE nos dois grupos estudados. Enquanto a negatividade dos testes intradérmicos em pacientes com estrogiloidíase e HTLV-1 comprometem a utilização deste exame complementar no diagnóstico de estrogiloidíase, a diminuição dos níveis de IgE em pacientes coinfectados pode ter conseqüências importantes para a doença, devido ao papel desempenhado por este isotipo na defesa contra helmintos.

Como esperado houve uma correlação direta entre os níveis de IgG e de IgE específicos contra antígenos de *S. stercoralis* em pacientes apenas com estrogiloidíase. A ausência de significância desta correlação em pacientes coinfectados com *S. stercoralis* e HTLV-1 indica que nos pacientes com HTLV-1 a diferenciação de célula B para célula secretora de IgE não é feita de modo adequado. Sabe-se que os níveis de imunoglobulinas variam de acordo com a idade e os níveis de IgE são mais elevados nos adultos do que nas crianças. Como a faixa etária dos dois grupos aqui comparados são diferentes, poderia ser argumentado que o fator idade estivesse interferindo nestes resultados. Considerando, entretanto, que crianças participaram no grupo com estrogiloidíase sem HTLV-1, que, conseqüentemente tinha uma média de idade inferior ao grupo de HTLV-1 coinfectado com *S. stercoralis*, este viés era contrário aos achados observados. Na realidade, a IgE específica foi mais elevada no grupo com faixa etária menor.

Os padrões Th1 e Th2 têm contribuído para a compreensão da patogênese de várias doenças infecciosas e de doenças alérgicas. Uma resposta com perfil Th2 é observada na leishmaniose visceral (CARVALHO, 1995; CARVALHO et al., 1994) lepra virchowiana (MACHADO et al., 1998) e atopia (BRADDING et al., 1994). No caso da leishmaniose visceral e da lepra virchowiana, doenças causadas por agentes intracelulares, há necessidade para o controle da infecção, da produção de IFN- $\gamma$  que ativará macrófagos a destruir estes agentes (BACELLAR et al., 1996; MACHADO et al., 1998). Incapacidade de produzir esta citocina se associa, portanto, com formas mais graves destas doenças. Nas doenças atópicas a predominante ativação de células Th2 é responsável pelo aumento de IgE, imunoglobulina envolvida com os eventos iniciais de hipersensibilidade imediata. Estudos prévios têm mostrado em cultura de células de sangue periférico de portadores do vírus HTLV-1 um aumento da produção de IL-2 e de IFN- $\gamma$  (BIDDISON et al., 1997; KUBOTA et al., 1998). Desde que a infecção por helmintos está associada com uma resposta do tipo Th2, a presença no mesmo indivíduo de *S. stercoralis* e HTLV-1 pode determinar como uma predominante resposta do tipo Th1 altera a resposta imune contra helmintos. No presente estudo, ficou evidente a existência de uma diferença de produção de IFN- $\gamma$  e de IL-5 nas culturas estimuladas com antígeno de *S. stercoralis*, quando comparamos os grupos de pacientes com estrongiloidíase com e sem coinfeção pelo HTLV-1. Os níveis de IL-5 nos pacientes com estrongiloidíase não infectados pelo HTLV-1 foram significativamente mais altos do que os níveis no grupo sem coinfeção pelo HTLV-1. Como a citocina IL-5 está relacionada com a produção, diferenciação e maturação de eosinófilos e estas células são importantes na defesa contra o *S. stercoralis*, estes dados dão suporte à idéia de que a infecção pelo HTLV-1 pode levar a uma



dificuldade na eliminação do parasita. Desta forma, haveria a persistência de larvas no trato gastrointestinal, favorecendo o processo de disseminação da infecção pelo *S. stercoralis*. Esta diminuição da IL-5 parece estar diretamente relacionada com uma alta produção de IFN- $\gamma$ . Na realidade, uma correlação inversa foi observada entre os níveis de IL-5 e IFN- $\gamma$  nos pacientes com estrogiloidiase com e sem infecção pelo HTLV-1. Quando os grupos foram analisados separadamente esta correlação não teve significância estatística, o que provavelmente se deve ao pequeno tamanho da amostra quando os grupos foram analisados separadamente.

Tem sido demonstrado *in vitro* que IFN- $\gamma$  pode reduzir a produção espontânea de IgE (KING et al., 1989), podendo este fato ser consequência dos baixos níveis de IL-4. Neste estudo níveis de IL-4 não foram determinados em sobrenadante de culturas devido a dificuldade de dosar esta citocina pelo método de ELISA neste tipo de espécime, porém uma correlação inversa foi encontrada entre os níveis de IFN- $\gamma$  e IGE nos pacientes com estrogiloidiase. Quando os grupos foram analisados separadamente com relação à existência ou não de infecção pelo HTLV-1, também não houve uma correlação significativa. Como já mencionado anteriormente, acreditamos que o tamanho pequeno da amostra pode ter interferido neste resultado, quando a análise foi feita separadamente. Foi demonstrado em um estudo recente que os níveis de IL-4 em sobrenadante de culturas de linfócitos estimuladas com ionomicina e PMA eram significativamente mais baixos em pacientes com estrogiloidiase coinfectados com HTLV-1, quando comparados com os níveis de IL-4 em pacientes apenas com estrogiloidiase (NEVA et al., 1999). Devido a dificuldade na determinação de IL-4, a dosagem de IL-5 se constituiu no presente estudo como o marcador de atividade de células Th2. Embora a produção de IL-4 e não a produção de IL-5

esteja relacionada com a síntese de IgE, quando os dados de IL-5 (representando uma resposta Th2) e este isotipo foram analisados, documentamos a existência de uma correlação direta entre IL-5 e IgE.

### Perfil de citocinas no curso da infecção pelo HTLV-1

A despeito do conhecimento de que uma intensa e não regulada proliferação linfocitária é a principal característica resultante da infecção da célula T pelo HTLV-1 (HOLLSBERG et al., 1992; MACCHI et al., 1998; WUCHERPFENNIG et al., 1992) pouco se conhece sobre o funcionamento destas células. Enquanto as observações indicando a existência de uma redução da apoptose em culturas de células de indivíduos infectados pelo HTLV-1 sejam concordantes (COPELAND & HEENEY, 1996), as observações com referência a dependência ou não de IL-2 na proliferação celular têm mostrado resultados contraditórios. Sabe-se que a IL-2 é produzida em grande quantidade nestes pacientes (COPELAND & HEENEY, 1996; HOLLSBERG & HAFLER, 1993; KUBOTA et al., 1997) e o papel desta citocina na manutenção da apoptose celular em pacientes infectados com HTLV-1 já foi demonstrado (TSUDA et al., 1993). Mais recentemente, foi documentado que em culturas de linfócitos nas quais a inibição da proliferação destas células não foi conseguida apenas com a adição de anti-IL-2, quando foi realizada a inibição da proliferação através da neutralização de IL-2 (com anti IL-2) e de interleucina-15 (IL-15) com anti IL-15, houve supressão da proliferação linfocitária (WALDMANN et al., 1999), sugerindo a participação de IL-15 na proliferação destas células.

Considerando que a principal célula infectada pelo vírus é a célula CD4 + (RICHARDSON et al., 1990; RICHARDSON et al., 1997; WUCHERPFENNIG et al., 1992) e sendo esta célula através das citocinas que secreta, uma das principais responsáveis pela cooperação celular e modulação da resposta imune, é relevante o conhecimento sobre o perfil de citocinas secretadas pela células mononucleares de indivíduos infectados pelo HTLV-1. Previamente já tinha sido chamada a atenção da grande produção de IFN- $\gamma$  que é observada no sobrenadante de células de indivíduos infectados pelo HTLV-1 (NEVA et al., 1998). Esta produção ocorre na ausência de qualquer estímulo e tem repercussão na função de células B desde que existe uma correlação inversa entre a produção de IFN- $\gamma$  e a síntese de IgE total (NEVA et al., 1998). No presente estudo, além da determinação da produção de IFN- $\gamma$ , os níveis de TNF- $\alpha$ , IL-5 e IL-10 foram determinados no sobrenadante de células de indivíduos infectados com HTLV-1 sem estrogiloidíase e em indivíduos controles.

Neste estudo, foi documentado, pela primeira vez, que não só IFN- $\gamma$ , mas outras citocinas como TNF- $\alpha$ , IL-5 e IL-10 são significativamente mais elevadas em sobrenadante de células não estimuladas de pacientes com HTLV-1 do que em indivíduos controles sadios. Como os linfócitos e monócitos representam as células mononucleares do sangue periférico, neste sistema a produção exacerbada de TNF- $\alpha$  pode estar sendo feita por qualquer uma destas células. Desde que além das células CD4+ terem capacidade de secretar TNF- $\alpha$ , estas células, através da produção de IFN- $\gamma$  ativam macrófagos, levando-os a secretar TNF- $\alpha$ , estudos subsequentes serão necessários no sentido de determinar qual destas células é responsável pelo aumento de produção desta citocina.

Considerando que os níveis de TNF- $\alpha$  encontram-se elevados em situações nos quais ocorre uma predominante ativação de células Th1, era de se esperar o aumento da produção desta citocina em pacientes infectados pelo HTLV-1. Foi entretanto, inesperada a observação da produção mais elevada de IL-5 e de IL-10 nas culturas de indivíduos infectados pelo HTLV-1. Os macrófagos são fonte importante de IL-10 e tanto a IL-5 como a IL-10 são produzidas por células Th2. Considerando-se que as citocinas secretadas pelas células Th1 e Th2 têm várias funções antagônicas e que em várias situações onde ocorre uma exacerbação de atividades das células Th2 ocorre uma supressão da produção de citocinas do tipo Th1 (CARVALHO et al., 1994), era de se esperar que em indivíduos infectados pelo HTLV-1 devesse haver uma produção diminuída de citocinas de perfil Th2. Previamente, em estudos realizados no nosso meio, foi encontrada uma produção diminuída de IL-4 em culturas de células estimuladas com PMA e ionomicina em indivíduos coinfectados com HTLV-1 e *S. stercoralis* (NEVA et al., 1998). Não foi, entretanto, determinado no estudo citado a produção de IL-4 em culturas não estimuladas. A documentação de que os níveis basais de IL-5 estão elevados em indivíduos infectados pelo HTLV-1 sugere que, tanto células de perfil Th1, como de perfil Th2, estão ativadas na infecção pelo HTLV-1, e, que, embora a produção de IFN- $\gamma$  fosse muito mais elevada que qualquer outra citocina, não houve bloqueio da secreção de IL-5.

A IL-10 é uma das principais citocinas moduladoras da resposta imune. Tem capacidade de suprimir a síntese de citocinas por macrófagos e por células T, inibir a proliferação de células T e suprimir a ativação de macrófagos mediada por IFN- $\gamma$  (CARVALHO, 1995). A IL-10 suprime de modo importante a síntese de TNF- $\alpha$  (FIORENTINO et al., 1991), e por esta razão, é considerada uma importante citocina na

modulação do processo inflamatório. No homem, o papel de IL-10 na desregulação da resposta imune a agentes infectantes tem sido documentada. Por exemplo, em pacientes com leishmaniose visceral existe uma supressão da proliferação linfocitária e da produção de IFN- $\gamma$ , funções que podem ser restauradas *in vitro* por adição de anticorpos monoclonais anti-IL-10 e a conseqüente neutralização desta citocina (CARVALHO et al., 1994). Como em pacientes com HTLV-1 existe uma produção elevada de IFN- $\gamma$ , era relevante se determinar a produção de IL-10 nestes indivíduos. Foi observado que os níveis de IL-10 eram também significativamente mais elevados em portadores do vírus HTLV-1 do que em controles sadios.

A despeito da exacerbada produção de IFN- $\gamma$  observada no curso da infecção pelo HTLV-1, esta produção não está tão elevada em todos os indivíduos infectados. Na verdade, existe uma grande variabilidade na produção desta citocina. Como foi citado anteriormente, uma das principais citocinas que modula a produção de IFN- $\gamma$  é a IL-10. Desta forma, é possível que esta variabilidade na produção de IFN- $\gamma$  estivesse por conta da maior ou menor secreção de IL-10. Neste caso, deveria se esperar uma correlação inversa entre os níveis destas citocinas. Diferente do esperado o resultado aqui apresentado foi da existência de uma correlação direta entre estas citocinas. Aliás, esta foi a tendência, quando foi feita a correlação dos níveis de IFN- $\gamma$  com todas as citocinas determinadas. Ou seja, os níveis de IL-5 e de TNF- $\alpha$  foram mais elevados nos altos produtores de IFN- $\gamma$  do que nos baixos produtores. Desta forma, é possível que esta produção aumentada de IL-10 nestes indivíduos seja conseqüência direta da estimulação da síntese de citocinas Th2 causada pela infecção viral. Alternativamente, poder-se-ia argumentar que a elevação de IL-10 observada nos altos produtores de IFN- $\gamma$  reflete uma tentativa do organismo em suprimir

esta grande produção de IFN- $\gamma$ . Neste caso haveria elevação de IL-10 a qual, entretanto, não seria capaz ou teria a capacidade reduzida de modular a produção de IFN- $\gamma$ .

## 6 CONCLUSÕES

- A prevalência da infecção pelo *S. stercoralis* em doadores de sangue foi duas vezes maior no grupo com infecção pelo HTLV-1, quando comparado com o grupo sem infecção pelo HTLV-1 ( $p=0,128$ ). Em relação aos pacientes ambulatoriais do HUPES esta diferença foi quatro vezes maior ( $p=0,01$ ).
- A infecção pelo HTLV-1 não interfere nos níveis de IgG específico contra antígeno de *S. stercoralis*, podendo este teste ser usado no diagnóstico da estrogiloidíase mesmo em pacientes coinfectados com este vírus.
- O grupo de pacientes coinfectados pelo *S. stercoralis* e HTLV-1 apresentou uma diminuição dos níveis de IgE específica contra antígeno de *S. stercoralis* ( $p = 0,01$ ) e do tamanho do teste de hipersensibilidade imediata ( $p = 0,001$ ), quando comparados com o grupo com estrogiloidíase sem coinfeção pelo HTLV-1.
- Enquanto a positividade do teste sorológico para IgE e do teste cutâneo foi de 80% e de 92,5% respectivamente nos pacientes com estrogiloidíase, nos pacientes coinfectados com *S.stercoralis* e HTLV-1 a positividade destes testes foi de 44% e 59% respectivamente ( $p = 0,004$  e  $p = 0,002$ ).
- Em indivíduos somente infectados pelo HTLV-1 ocorre uma produção espontânea de citocinas IFN-  $\gamma$  , IL-5, IL-10, TNF- $\alpha$  e existe uma correlação direta entre produção de IFN- $\gamma$  e destas citocinas.

- Pacientes coinfectados por HTLV-1 e *S.stercoralis* apresentam uma diminuição dos níveis de IL-5 ( $p=0,001$ ) e um aumento de produção de IFN- $\gamma$  em culturas estimuladas com antígeno de *S. stercoralis*, quando comparados com pacientes com estrogiloidíase sem infecção pelo HTLV-1.



## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABE, T. & NAWA, Y. Worm expulsion and mucosal mast cell response induced by repetitive IL-3 administration in *Strongyloides ratti*-infected nude mice. **Immunology**, **63**: 181-5, 1988.
- ABE, T.; SUGAYA, H.; YOSHIMURA, K. Induction of the expulsion of *Strongyloides ratti* and retention of *Nippostrongylus brasiliensis* in athymic nude mice by repetitive administration of recombinant interleukin-3. **Immunology**, **76**: 10-4, 1992.
- AHMAD, A.; WANG, C.H.; BELL, R.G. A role for IgE in intestinal immunity. Expression of rapid expulsion of *Trichinella spiralis* in rats transfused with IgE and thoracic duct lymphocytes. **J. Immunol.**, **146**: 3563-70, 1991.
- ANDRADE, T.M.; DOURADO, I.; GALVÃO-CASTRO, B. Associations Among HTLV-I, HTLV-II, and HIV in Injecting Drug Users in Salvador, Brasil. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Hum. Retrovirol.**, **18**: 186-91, 1998.
- ANDRADE, Z. A. & GOMES, M.C. Pathology of Fatal Strongyloidiasis. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, **6**: 28-34, 1964.
- ARAKAKI, T.; ASATO, R.; IKESHIRO, T. Is the prevalence of HTLV-1 infection higher in *Strongyloides* carriers than in non-carriers? **Trop. Med. Parasitol.**, **43**: 199-200, 1992.
- ARIMA, N. Autonomous and Interleukin-2-Responsive Growth of Leukemic Cells in Adult T-Cell Leukemia (ATL): A Review of the Clinical Significance and Molecular Basis of ATL Cell Growth. **Leuk. Lymph.**, **26**: 479-87, 1997.
- ATKINS, N. S.; LINDO, J. F.; LEE, M. G. Immunomodulatory Effects of Concurrent HTLV-I Infection in Strongyloidiasis. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Hum. Retrovirol.**, **18**: 188-190, 1998.
- AZIMI, N.; TAGAYA, Y.; JACOBSON, S; WALDMANN, T. Human T-cell lymphotropic virus-I tax protein transactivates IL-2 and IL-15 gene transcription: pathogenic implications and rationale for immunotherapy. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Hum. Retrovirol.**, **20**: A6, 1999.
- BACELLAR, O.; BRODSKYN, C.; GUERREIRO, J.; BARRAL-NETTO, M.; COSTA, C. H.; COFFMAN, R. L.; JOHNSON, W. D.; CARVALHO, E. M. Interleukin-12 restores Interferon- $\gamma$  production and cytotoxic responses in Visceral Leishmaniasis. **J. Infect. Dis.**, **173**: 1515-18, 1996.

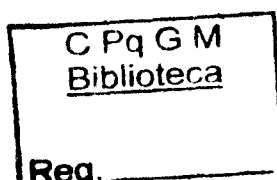
- BARBOSA, H. S.; BITTENCOURT, A. L.; ARAÚJO, I. B.; PEREIRA FILHO, T.S.; FURLAN, R.; PEDROSA, C.; LESSA, H.; HARRINGTON JUNIOR, W.; GALVÃO-CASTRO, B. Adult T-cell Leukemia/Lymphoma in Northeastern Brasil: a Clinical, Histopathological and Molecular Study. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Hum. Retrovirol.**, **21**: 65-71, 1999.
- BARNER, M.; MOHRS, M.; BROMBACHER, F. and KOPF, M. Differences between IL-4R $\alpha$ -deficient and IL-4-deficient mice reveal a role for IL-13 in the regulation of Th2 responses. **Curr. Biol.**, **8**: 669-72, 1998.
- BEZJAK, B. Immunoglobulin Studies in Strongyloidiasis with Special Reference to Raised Serum IgE Levels. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, **24**: 945-7, 1975.
- BIDDISON, W.E.; KUBOTA, R.; KAWANISHI, T. Human T Cell Leukemia Virus Type 1 (HTLV-I)-Specific CD8<sup>+</sup>CTL Clones from Patients with HTLV-I-Associated Neurologic Disease Secrete Proinflammatory Cytokines, Chemokines, and Matrix Metalloproteinase. **J. Immunol.**, **159**: 2018-25, 1997.
- BIRCK, R.; BRAUN, C.; BACK, W.; GOTTSTEIN, T.; ROHMEISS, P. Chronic recurrent subileus due to Strongyloides stercoralis infection under immunosuppressive therapy. **Dtsch. Med. Wochenschr.**, **121**: 723-26, 1996.
- BLANK, A.; YAMAGUCHI, K.; BLANK, M. Six Colombian Patients with Adult T-Cell Leukemia/Lymphoma. **Leuk. Lymphoma**, **9**: 407-12, 1993.
- BRADDING J. A. P.; BRITTEN, K. M.; MONTEFORT, S.; DJUKANOVIC, R.; MUELLER, C. H.; HEUSSER, C. H.; HOWARTH, P. H.; HOLGATE, S. T. Interleukin-4, -5, and -6 and Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  in Normal and Asthmatic Airways: Evidence for the Human Mast Cell as a Source of These Cytokins. **Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.**, **10** : 471-80, 1994.
- BRASIL, R.; BADARÓ, R.; ANDRADE, J. A. F. Diagnóstico Sorológico da Estrongiloidiase Humana através do método Imunoenzimático. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, **21**: 139-43, 1988.
- BUTTERWORTH, A.E.; STURROCK, R.F.; HOUBA, V. Antibody-dependent cell-mediated damage to schistosomula *in vitro*. **Nature**, **252**: 503-05, 1974.
- CAPRON, M.; ROUSSEAUX, J.; MAZINGUE, C. Rat Mast Cell-Eosinophil Interaction in Antibody-Dependent Eosinophil Cytotoxicity to *Schistosoma Mansoni* Schistosomula. **J. Immunol.**, **121**: 2518-24, 1978.
- CARVALHO, E. & QUEIROZ, A.C. Histopatologia do Baço em Portadores de Estrongiloidiase Grave. **Rev. Méd. Bahia**, **22**: 80-5, 1976.
- CARVALHO, E. M. Helminthic enteropathies. **Baillière's Clin. Trop. Med. Commun. Dis.**, **3**: 537-65, 1988.

- CARVALHO, E. M. IL-10 in Human Leishmaniasis. In: VRIES, J. E. & MALEFYT, R. W. *Interleukin-10*. Austin-Texas, USA: Landes Company (MBIU), 1995. cap. 10, p. 91-100.
- CARVALHO, E. M. Strongyloidiasis. **Clin. Gastroenterol.**, **7**: 179-200, 1978.
- CARVALHO, E. M.; BACELLAR, O.; BROWNELL, C.; REGIS, T.; COFFMAN, R. L.; REED, S. G. Restoration of IFN- $\gamma$  production and lymphocyte proliferation in Visceral Leishmaniasis. **J. Immunol.**, **152** : 5949-56, 1994.
- CARVALHO, E.M.; ANDRADE, T.M.; ANDRADE, J.A. Immunological features in different clinical forms of strongyloidiasis. **Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.**, **77**: 346-49, 1983.
- CARVALHO, E.M.; GOMES, M.C.; ROCHA, H. Septicemia por gram negativos em portadores de Estrongiloidíase grave. **Rev. Méd. Bahia**, **26**: 15-9, 1980.
- COPELAND, K. F. T. & HEENEY, J. L. T Helper Cell Activation and Human Retroviral Pathogenesis. **Microbiol. Rev.**, **60** : 722-42, 1996.
- COPELAND, K. F. T.; HAAKSMA, A. G. M.; GOUDSMIT, J.; HEENEY, J.L. Calcium-mediated inhibition of phorbol ester and tax trans-activation of the human T-cell leukaemia virus-1. **J. Gen. Virol**, **75** : 1623-31, 1994.
- COPELAND, K. F. T.; HENDRIKX, P. J.; HAAKSMA, A. G. M.; FIERING, S.; VAN LIER, R.; GOUDSMIT, J.; HEENEY, J. L. Comparison of the response to T-cell by integrated HIV-1 and HTLV-1 LTR-lac Z vectors. **Virology**, **209** : 633-36, 1995.
- CRUZ, T.; REBOUÇAS, G.; ROCHA, H. Fatal Strongyloidiasis in Patients Receiving Corticosteroids. **N. Engl. J. Med.**, **275**: 1093-96, 1966.
- DAVID, J.R.; VADAS, M.A.; BUTTERWORTH, A.E. Enhanced Helminthotoxic Capacity of Eosinophils from Patients with Eosinophilia. **N. Engl. J. Med.**, **303**: 1147-52, 1980.
- DE PAOLA, D. Patologia da estrongiloidíase. **Bol. Centro Est. Hosp. Serv. Estado**, **14**: 93-98, 1962.
- DE REVEL, T.; MABONDZO, A.; GRAS, G.; DELORD, B.; ROQUES, P.; BOUSSIN, F.; NEVEUX, Y.; BAHUAU, M.; FLEURY, H. J. A.; DORMONT, D. In vitro infection of human macrophages with human T-cell leukemia virus type I. **Blood**, **81**: 1598-606, 1993.
- DEMEURE, C.E. Resistance to *Schistosoma mansoni* in humans: influence of the IgE/IgG4 balance and IgG2 in immunity to reinfection after chemotherapy. **J. Infect. Dis.**, **168**: 1000-08, 1993.
- DREYER, G.; FERNANDES-SILVA, E.; ALVES, S. Patterns of Detection of *Strongyloides stercoralis* in Stool Specimens: Implications for Diagnosis and Clinical Trials. **J. Clin. Microbiol.**, **34**: 2569-71, 1996.

- DUNNE, D.W.; BUTTERWORTH, A.E.; FULFORD, A.J.; OUMA, J.H.; STURROCK, R.F. Human IgE responses to *Schistosoma mansoni* and resistance to reinfection. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, **87**: 99-103, 1992.
- FINKELMAN, F.D. Effects of interleukin 12 on immune responses and host protection in mice infected with intestinal nematode parasites. **J. Exp. Med.**, **179**: 1563-72, 1994.
- FINKELMAN, F.D.; SHEA-DONOHUE, T.; GOLDHILL, J. Cytokine regulation of host defense against parasitic gastrointestinal nematodes: Lessons from Studies with Rodent Models. **Annu. Rev. Immunol**, **15**: 505-33, 1997.
- FIorentino, D.; ZLOTNIK, F.; MOSMANN, T. R. IL-10 inhibits cytokine production by activated macrophages. **J. Immunol.**, **147**: 3815-3821, 1991.
- FUJITA, K.; TAJIMA, K.; TOMINAGA, S.; TSUKIDATE, S.; NAKADA, K.; IMAI, J.; HINUMA, Y. **Trop. Med.**, **27**: 203, 1985. Apud SATO, Y. & SHIROMA, Y. Concurrent Infections with *Strongyloides* and T-Cell Leukemia Virus and Their Possible Effect on Immune Responses of Host. **Clin. Immunol. Immunopathol.**, **52**: 214-24, 1989.
- GALVÃO-CASTRO, B.; LOURES, L.; RODRIGUES, L.G.M. Distribution of human T-lymphotropic virus type I among blood donors: a nationwide Brazilian study. **Transfusion**, **37**: 242, 1997.
- GAM, A. A.; NEVA, F. A.; KROTOSKI, W. A. Comparative Sensitivity and Specificity of ELISA and IHA for Serodiagnosis of Strongyloidiasis with Larval Antigens. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, **37**: 157-61, 1987.
- GENTA, R. M. Global Prevalence of Strongyloidiasis: Critical Review with Epidemiologic Insights into the Prevention of Disseminated Disease. **Rev. Infect. Dis.**, **11**: 755-67, 1989.
- GENTA, R. M. Predictive Value of an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) for the Serodiagnosis of Strongyloidiasis. **Brief Sci. Rep.**, **89**: 391-94, 1988.
- GENTA, R. M.; DOUCE, R. W.; WALZER, P. D. Diagnostic Implications of Parasite-Specific Immune Responses in Immunocompromised Patients with Strongyloidiasis. **J. Clin. Microbiol.**, **23**: 1099-103, 1986.
- GENTA, R. M. & LILLIBRIDGE, J. P. Prominence of IgG4 Antibodies in the Human Responses to *Strongyloides stercoralis* Infection. **J. Infect. Dis.**, **160**: 692-99, 1989.
- GENTA, R.M.; OTTESEN, E.A.; NEVA, F.A. Cellular Responses in Human Strongyloidiasis. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, **32**: 990-4, 1983.
- GERMAN, J. C.; FLORES, J. H.; CHIESURA, G. Estrongiloidiasis Fatal en Paciente Immunodeprimido Pos-Transplante Renal. **Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. São Paulo**, **47**: 31-3, 1992.

- GESSAIN, A.; BARIN, F.; VERNANT, J. C.; GOUT, O.; MAURS, L.; CALENDER, <sup>a</sup> AND Thé G. Antibodies to human T-lymphotropic virus type-I in patients with tropical spastic paraparesis. **Lancet**, ii: 407-09, 1985.
- GOMES, M. C. Mecanismos patológicos relacionados a auto-endoinfecção na estrogiloidíase humana fatal. **Rev. Patol. Trop.**, 9: 165-261, 1980.
- GOTUZZO, E.; TERASHIMA, A.; ALVAREZ, H. *Strongyloides Stercoralis* Hyperinfection Associated with Human T Cell Lymphotropic Virus Type-1 Infection in Peru. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, 60: 146-49, 1999.
- GROVE, D.I. Treatment of strongyloidiasis with thiabendazole: na analysis of toxicity and effectiveness. **Trans. Roy. Trop. Med. Hyg.**, 76: 114-8, 1982.
- HAGELSKJAER, L. H. A Fatal Case of Systemic Strongyloidiasis and Review of the Literature. **Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.**, 13: 1069-74, 1994.
- HAYASHI, J.; KISHIHARA, Y.; YOSHIMURA, E. Correlation between Human T Cell Lymphotropic Virus Type-1 and *Strongyloides Stercoralis* Infections and Serum Immunoglobulin e Responses in Residents of Okinawa, Japan. **Am. Soc. Trop. Med. Hyg.**, 56: 71-5, 1997.
- HISADA, M.; OKAYAMA, A.; TACHIBANA, N.; STUVER, S. O. Predictors of level of circulating abnormal lymphocytes among Human T-lymphotropic virus type I carriers in Japan. **Int. J. Cancer**, 77: 188-92, 1998.
- HÖLLSBERG, P. Pathogenesis of chronic progressive myelopathy associated with human T-cell lymphotropic virus type I. **Acta Neurol. Scand.**, 95: 86-93, 1997.
- HÖLLSBERG, P.; AUSUBEL, L. J.; HAFLER, D. A. Human T cell lymphotropic virus type I induced T cell activation . Resistance to TGF- $\beta$ 1- induced supression. **J. Immunol.**, 153: 566-73, 1994.
- HÖLLSBERG, P. & HAFLER, D.A. Pathogenesis of Diseases Induced by Human Lymphotropic Virus Type I Infection. **Semin. Med. Beth Israel Hosp. Boston**, 328: 1173-82, 1993.
- HÖLLSBERG, P.; WUCHERPFENNIG, K. W.; AUSUBEL, L. J.; CALVO, V.; BIERER, B. E.; HATLER, D. A. Characterization of HTLV-1 in vivo ninfected T cell clones. **J. Immunol**, 148 : 3256-63, 1992.
- HÖLLSBERG, P.; WUCHERPFENNING, W.; AUSUBEL, L. J.; CALVO, V.; BIERER, B. E.; HAFLER, D.A. Characterization of HTLV-1 in vivo infected T cell clones. IL-2-Independent growth of non transformed T cells. **J. Immunol.**, 148: 3256-63, 1992.
- GRA-SIEGMAN, Y.; KAPILA, R.; SEN, P. Syndrome of Hyperinfection with *Strongyloides stercoralis*. **Rev. Infect. Dis.**, 3: 397-407, 1981.

- JEANG, K. T.; WILDEN, S.; SEMMES, O.; WILSON, S. HTLV-1 transactivator protein, tax, is a trans-repressor of the human  $\beta$ -polymerase gene. **Science**, **247**: 1082-084, 1990.
- JEFFERY, K. J. M.; USUKU, K.; HALL, S. E.; MATSUMOTO, W. HLA alleles determine human T-lymphotropic virus-I (HTLV-I) proviral load and the risk of HTLV-I-associated myelopathy. **Proc. Natl. Acad. Sci**, **96**: 3848-53, 1999.
- KAJIYAMA, W.; KASHIWAGI, S.; IKEMATSU, H. Intrafamilial Transmission of Adult T Cell Leukemia Virus. **J. Infect. Dis.**, **154**: 851-57, 1986.
- KAMINSKY, R. G. Evaluation of Three Methods for Laboratory Diagnosis of *Strongyloides stercoralis* Infection. **J. Parasitol.**, **79**: 277-80, 1993.
- KAPLAN, J. E.; KHABBAZ, R.F.; MURPHY, E.L. Male-to-Female Transmission of Human T-Cell Lymphotropic Virus Types I and II: Association with Viral Load. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Hum. Retrovirol.**, **12**: 193-201, 1996.
- KAPLAN, M.H. Human Retroviruses and Neoplastic Disease. **Clin. Infect. Dis.**, **17**: 400-06, 1993.
- KHABBAZ, R.F.; ONORATO, I.M.; CANNON, R.O. Seroprevalence of HTLV-I and HTLV-II Among Intravenous Drug Users and Persons in Clinics for Sexually Transmitted Diseases. **N. Engl. J. Med.**, **326**: 375-80, 1992.
- KING, C. L.; GALLIN, J. I.; MALECH, H. L. Regulation of immunoglobulin production in hyperimmunoglobulin E recurrent-infection syndrome by interferon  $\gamma$ . **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, **86**: 10085-89, 1989.
- KING, C.L. & NUTMAN, T. B. Biological Role of Helper T-Cell Subsets in Helminth Infections. **Chem. Immunol.**, **54**: 136-65, 1992.
- KNIGHT, S.C.; MACATONIA, S.E.; CRUICKSHANK, K. Dendritic Cells in HIV-1 and HTLV-1 Infection. **Dendritic Cells Fundamental Clin. Immunol.**, : 545-49, 1993.
- KUBOTA, R.; KAWANISHI, T.; MATSUBARA, H. Demonstration of Human T Lymphotropic Virus Type I (HTLV-I) Tax-Specific CD8<sup>+</sup> Lymphocytes Directly in Peripheral Blood of HTLV-I-Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis Patients by Intracellular Cytokine Detection. **J. Immunol.**, **161**: 482-8, 1998.
- LEAO, R. C.; BARROS, M. M. T.; MENDES, E. Immunological study of human strongyloidiasis. I. Analysis of IgE levels. **Allergol. Immunopathol.**, **8**: 31-4, 1980.
- LIN, H.C.; DEZZUTTI, C.S.; LAL, R.B. Activation of Human T-Cell Leukemia Virus Type I tax Gene Expression in Chronically Infected T Cells. **J. Virol.**, **72**: 6264-70, 1998.
- LIU, L. X. & WELLER, P. F.; Strongyloidiasis and other intestinal nematode infections. **Infect. Dis. Clin. North Am.**, **7**: 655-82, 1993.



- LOWRY, O. H.; ROSENBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDAL, R.J. Protein measurement with the the folin phenol reagent. **J. Biol. Chem.**, **193**: 245, 1951.
- MACCHI, B.; GRELLI, S.; MATTEUCCI, C. Human Th1 and Th2 T-cell clones are equally susceptible to infection and immortalization by human T-lymphotropic virurs type I. **J. Gen. Virol.**, **79**: 2469-74, 1998.
- MACHADO, P.; ABRAMS, J.; SANTOS, S.; BRENNAN, P.; BARRAL, A.; BARRAL-NETO, M. Production of host-protective (IFN- $\gamma$ ) host-impairing (IL-10, IL-13) and inflammatory (TNF- $\alpha$ ) cytokines by PBMC from leprosy patients stimulated with mycobacterial antigens. **Eur. J. Dermatol.**, **8**: 98-103, 1998.
- MANNIS, A.; WILKS, R. J.; MURPHY, E.L. A Prospective Study of Transmission by Transfusion of HTLV-I and Risk Factors Associated with Seroconversion. **Int. J. Cancer**, **51**: 886-91, 1992.
- MARCIAL ROJAS, R. A. *Pathology of Protozoal and Helminthic Diseases*. Baltimore: Williams and Wilkins, 1971. p.711-33.
- MARINHO, S. D. Estrongiloidose fatal com verificação anátomo-patológica do parasita no cérebro. **O Hospital**, **64**: 95-103, 1963.
- MARUYAMA, M.; SHIBUYA, N.; HARADA, H.; HATAKEYAMA, M.; SEIKI, M. Evidence for aberrant activation of the interleukin-2 autocrine loop by HTLV-1-encoded p40x and T3/Ti complex triggering. **Cell**, **48**: 343, 1987.
- MATSUMOTO, T.; MIIKE, T.; MIZOGUCHI, K. Decreased serum levels of IgE and IgE-binding factors in individuals infected with HTLV-I. **Clin. Exp. Immunol.**, **81**: 207-11, 1990.
- MATTOS, K.; QUEIROZ, C.; PEÇANHA-MARTINS, A.C. Lymphocyte Alveolitis in HAM/TSP Patients. **Arq. Neuropsiquiatr.**, **51**: 134-36, 1993.
- MCRURY, J.; MESSIAS, I.T.; WALZER, P.D. Specific IgE responses in human strongyloidiasis. **Clin. Exp. Immunol.**, **65**: 631-38, 1986.
- MOREIRA, E.D.; RIBEIRO, T.T.; SWANSON, P. Seroepidemiology of Human T-Cell Lymphotropic Virus Type I/II in Northeastern Brazil. **J. Acquir. Immune Defic. Hum. Syndr. Retrovirol.**, **6**: 959-63, 1993.
- MUELLER, N. The Epidemiology of HTLV-1 infection. **Cancer causes and control**, **2**: 37-52, 1991.
- NAGASATO, K.; NAKAMURA T.; SHIRABE, S. Presence of serum anti-human T-lymphotropic virus type 1 (HTLV-I) IgM antibodies means persistent active replication of HTLV-1 in HTLV-1-associated myelopathy. **J. Neurol. Sci.**, **103**: 203-08, 1991.

- NAKADA, K.; KOHAKURA, M.; KOMODA, H.; HINUMA, Y. High incidence of HTLV antibody in carriers of *Strongyloides stercoralis*. **Lancet**, **1**: 633, 1984.
- NAKADA, K.; YAMAGUCHI, K.; FURUGEN, S. Monoclonal Integration of HTLV-I Proviral DNA in Patients with Strongyloidiasis. **Int. J. Cancer**, **40**: 145-48, 1987.
- NAVARRO-ROMÁN, L.; ROMÁN, G.C.; KATZ, D. Human T Lymphotropic Virus Type I. In: CONNOR, D. H. & CHANDLER, F. W. *Pathology of Infectious Diseases*. Stamford: Appleton & Lange, 1997. v.1, cap. 21, p. 209-19.
- NAWA, Y.; ISHIKAWA, N.; TSUCHIYA, K. Selective effector mechanisms for the expulsion of intestinal helminths. **Parasite Immunol.**, **16**: 333-38, 1994.
- NEEFE, L. Disseminated Strongyloidiasis with Cerebral Involvement. **Am. J. Med.**, **55**: 832-38, 1973.
- NEVA, F.A. Biology and Immunology of Human Strongyloidiasis. **J. Infect. Dis.**, **153**: 397-405, 1986.
- NEVA, F. A.; MURPHY, E. L.; HANCHARD, B. Antibodies to *Strongyloides Stercoralis* in Healthy Jamaican Carriers of HTLV-I. **N. Engl. J. Med.**, **320**: 252-53, 1989.
- NEVA, F.A.; OLIVEIRA, J.; GAM, A.A. Interferon- $\gamma$  and Interleukin-4 Responses in Relation to Serum IgE Levels in Persons Infected with Human T Lymphotropic Virus Type I and *Strongyloides stercoralis*. **J. Infect. Dis.**, **178**: 1856-9, 1998.
- NEWTON, R. C.; LIMPUANGTHIP, P.; GREENBERG, S. *Strongyloides stercoralis* Hiperinfection in a Carrier of HTLV-I Virus With Evidence of Selective Immunosuppression. **Am. J. Med.**, **92**: 202-07, 1992.
- NUCCI, M.; PORTUGAL, R.; PULCHERI, W. Strongyloidiasis in Patients with Hematologic Malignancies. **Clin. Infect. Dis.**, **21**: 675-77, 1995.
- O'DOHERTY, M.J.; VAN DE PETTE, J.E.; NUNAN, T.O. Recurrente *Strongyloides Stercoralis* Infection in a Patient with T-Cell Lymphoma-Leukemia (Letter). **Lancet**, **1**: 8381, 858, 1984.
- OKOCHI, K.; SATO, H.; HINUMA, Y. A Retrospective Study on Transmission of Adult T Cell Leukemia Virus by Blood Transfusion: Seroconversion in Recipients. **Vox Sang.**, **46**: 245-53, 1984.
- OLIVEIRA, R.B.; VOLTARELLI, J.C.; MENEGHELLI, U.G. Severe strongyloidiasis associated with hypogammaglobulinaemia. **Parasite Immunol.**, **3**: 165-69, 1981.
- OSAME, M.; USUAKI, K.; IZUMO, S. HTLV-1 associated myelopathy, a new clinical entity. **Lancet**, **i**: 1031-2, 1986.



- OTTESEN, E.A.; STANLEY, A.M.; GELFAND, J.A. Immunoglobulin and Complement Receptors on Human Eosinophils and Their Role in Cellular Adherence to Schistosomules. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, **26**: 134-41, 1977.
- PATEY, O.; BOUHALI, R.; BREUIL, J. Arthritis Associated with *Strongyloides stercoralis*. **Scand J. Infect. Dis.**, **22**: 233-36, 1990.
- PATEY, O.; GESSAIN, A.; BREUIL, J. Seven years of recurrent severe strongyloidiasis in an HTLV-I-infected man who developed adult T-cell leukaemia. **AIDS**, **6**: 575-79, 1992.
- PEARCE, E.J.; SCOTT, P. A.; SHER, A. Immune regulation in parasitic infection and disease. In: PAUL, W. E. *Fundamental Immunology*. In press.
- PEDRO, R. J.; RAMOS, M. C. BRANCHINI, M. L. M. Parasitoses intestinais I: Aspectos clínicos. In: AMATO NETO, V. & BALDY, J. L. S. (Eds.) *Doenças Transmissíveis* .3.ed. São Paulo: Sarvier, 1989. p. 663-80.
- PELLEGRINO, J.; CHAIA, G.; POMPEU, J. M. Observações sobre a reação intradérmica com antígeno de *Strongyloides Ratti* em pacientes com Estrongiloidíase. **Rev. Inst. Trop. São Paulo**, **3**: 181-85, 1961.
- PHELPS, K. R. *Strongyloides* Hyperinfection in Patients Coinfected with HTLV-I and *S. Stercoralis*. **Am. J. Med.**, **94**: 447-48, 1993.
- PHELPS, K. R.; GINSBERG, S. S.; CUNNINGHAM, A. W. Case Report: Adult T-Cell Leukemia/ Lymphoma Associated with Recurrent *Strongyloides* Hyperinfection. **Am. J. Med. Sci.**, **302**: 224-8, 1991.
- PIRES, M.L. & DREYER, G. Revendo a Importância do *Strongyloides Stercoralis*. **Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. São Paulo**, **48**: 175-82, 1993.
- PLUMELLE, Y. & ÉDOUARD, A. *Strongyloides stercoralis* dans la leucémie/lymphome T de l'adulte et le syndrome d'immunodéficience acquise. **Rev. Méd. Interne**, **17**: 125-9, 1996.
- PLUMELLE, Y.; GONIN, C.; EDOUARD, A. Effect of *Strongyloides stercoralis* Infection and Eosinophilia on Age at Onset and Prognosis of Adult T-Cell Leukemia. **Hematopathology**, **107**: 81-7, 1997.
- POIESZ, B. J.; RUSCETTI, F. W.; GAZDER, A. F. Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes with cutaneous T cell lymphoma. **Proc. Natl Acad. Sci.**, **77**: 7415-19, 1980.
- POLTERA, A. A. & KATSIMBURA, N. Granulomatous Hepatitis due to *Strongyloides Stercoralis*. **J. Pathol**, **113**: 241-45, 1974.
- POPOVIC, M.; FLOMENBERG, N.; VOLKMAN, D.J. Alteration of T-Cell Functions by Infection with HTLV-I or HTLV-II. **Science**, **226**: 459-62, 1984.

- PORTTERFIELD, J. S. Retroviridae. In: *Andrewes' Viruses of Vertebrates*. 5. ed. London, Bailliere Tindall, 1989. cap.12, p.167-213.
- QUEIROZ, A.C. & BARRETO, S.C. Histopatologia dos Linfonodos Mesentéricos na Estrongiloidiase. **Rev. Patol. Trop.**, 1: 17-24, 1975.
- RAMACHANDRAN, S.; GAM, A. A.; NEVA, F. A. Molecular differences between several species of *Strongyloides* and comparison of selected isolates of *S. Stercoralis* using a polymerase chain reaction-linked restriction fragment length polymorphism approach. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, 56: 61-5, 1997.
- RICHARDSON J.H.; EDWARDS A.J.; CRUICKSHANK J.K.; RUDGE P.; DALGLEISH A.G. In vivo cellular tropism of human T-cell leukemia virus type I. **J. Virol**, 64: 5682-7, 1990.
- RICHARDSON, J.H.; HÖLLSBERG, P.; WINDHAGEN, A. Variable Immortalizing Potential and Frequent Virus Latency in Blood-Derived T-Cell Clones Infected With Human T-Cell Leukemia Virus Type I. **Blood**, 89: 3303-14, 1997.
- RIHET, P.; DEMEURE, C.E.; BOURGOIS, A.; PRATA, A.; DESSEIN, A.J. Evidence for an association between human resistance to *Schistosoma mansoni* and high anti-larval IgE levels. **Eur J. Immunol**, 21: 2679-86, 1991.
- RIMA, F. & KHABBAZ, M.D. Guidelines for counseling persons infected with human T-lymphotropic virus type I (HTLV-I) and type II (HTLV-II). **Ann. Intern. Med.**, 118: 448-54, 1993.
- ROBINSON, R. D.; LINDO, J. F.; NEVA, F. A. Immunoepidemiologic Studies of *Strongyloides stercoralis* and Human T Lymphotropic Virus Type I Infections in Jamaica. **J. Infect. Dis.**, 169 : 692-6, 1994.
- ROGERS, W. A. & NELSON, B. Strongyloidiasis and Malignant Lymphoma. **JAMA**, 195: 685-87, 1966.
- ROSSI, C. L.; TAKAHASHI, E. E. H.; PARTEL, C. D. Total Serum IgE and Parasite-Specific IgG and IgA Antibodies in Human Strongyloidiasis. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, 35: 361-65, 1993.
- ROTMAN, H. L.; SCHNYDER-CANDRIAN, S.; SCOTT, P. IL-12 eliminates the Th-2 dependent protective immune response of mice to larval *Strongyloides stercoralis*. **Parasite Immunol.**, 19: 29-39, 1997.
- SATO, Y. & SHIROMA, Y. Concurrent Infections with *Strongyloides* and T-Cell Leukemia Virus and Their Possible Effect on Immune Responses of Host. **Clin. Immunol. Immunopathol.**, 52: 214-24, 1989.

- SATO, Y.; KOBAYASHI, J.; TOMA, H. Efficacy of Stool Examination for Detection of *Strongyloides* Infection. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, **53**: 248-50, 1995.
- SATO, Y.; OTSURU, M.; TAKARA, M. Intradermal Reactions in Strongyloidiasis. **Int. J. Parasitol.**, **16**: 87-91, 1986.
- SATO, Y.; SHIROMA, Y. ; KIYUNA, S. Reduced efficacy of chemotherapy might accumulate concurrent HTLV-1 infection among strongyloidiasis patients in Okinawa, Japan. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, **88**: 59, 1994.
- SATO, Y.; TAKARA, M.; OTSURU, M. Detection of antibodies in *strongyloidiasis* by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Trans. R. Soc. Trop. Hyg.**, **79**: 51-5, 1985.
- SONODA, S.; FUJIYOSHI, T.; YASHIKI, S. Immunogenetics of HTLV-I/II and Associated Diseases. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Human Retrovirol.**, **13**: 119-23, 1996.
- STUVER, S. O.; TACHIBANA, N.; OKAYAMA, A. Determinants of HTLV-I Seroprevalence in Miyazaki Prefecture, Japan: A Cross-Sectional Study. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Human Retrovirol.**, **5**: 12-8, 1992.
- SUSUKY, M.; UNO, H.; YAMASHITA, K.; TOYAMA, T.; KUBUKI, Y.; MAEDA, K.; MATSUOKA, H.; OHTAKI, S.; TSUBOUCHI, H. Clinical significance of CD45RO expression on peripheral blood mononuclear cells in HTLV-1 infected individuals. **Br. J. Haematol.**, **92**: 401-09, 1996.
- TACHIBANA, N.; OKAYAMA, A.; ISHIZAKI, J. Suppression of Tuberculin Skin Reaction in Healthy HTLV-I Carriers from Japan. **Int. J. Cancer**, **42**: 829-31, 1988.
- TAJIMA, K.; TOMINAGA, S.; SUCHI, T. Epidemiological Analysis of the Distribution of Antibody to Adult T-Cell Leukemia-Virus-Associated Antigen: Possible Horizontal Transmission of Adult T-Cell Leukemia Virus. **Gann**, **73**: 893-901, 1982.
- TAKAI, A. ; UESATO, H.; NAKAMA, T.; SATO, Y.; OTSURU, M. **Jpn. J. Parasitol.**, **33** :33, 1984. Apud SATO, Y. & SHIROMA, Y. Concurrent Infections with *Strongyloides* and T-Cell Leukemia Virus and Their Possible Effect on Immune Responses of Host. **Clin. Immunol. Immunopathol.**, **52**: 214-24, 1989.
- TENDLER, C. L.; GREENBERG, S. J.; BLATTNER, W. A.; MANN, A.; MURPHY, E.; FLEISHER, T.; HANCHARD, B.; MORGAN, O.; DE BURTON, J.; NELSON, D.L.; WALDMANN, T. Transactivation of interleukin 2 and its receptor induces immune activation of human T-cell lymphotropic virus type I associated myelopathy: pathogenic implications and a rationale for immunotherapy. **Proc. Natl. Acad. Sci., USA**, **87**: 5218-22, 1990.
- TRIBOULEY-DURET, J.; TRIBOULEY, J.; PAUTRIZEL, R. Intérêt des Tests D'Allergie Cutanée pour le Diagnostic de la *Strongyloidose*. **Bull. Soc. Pathol. Exot.**, **69**: 360-67, 1976.

- TSUDA, H.; HUANG, R.W., TAKATSUKI, K. Interleukin-2 Prevents Programmed Cell Death in Adult T-Cell Leukemia Cells. **Jpn. J. Cancer Res.**, **84**: 431-37, 1993.
- UCHIYAMA, T.; HORI, T.; TSUDO, M.; WANO, Y.; UMADOME, H.; TAMORI, S.; YODOI, J.; MAEDA, M.; SAWAMI, H.; UCHINO, H. Interleukin-2 receptor (Tac antigen) expressed on adult T-cell leukemia cells. **J. Clin. Invest.**, **76**: 446-53, 1985.
- VALENTIN, H.; LEMASSON, I.; HAMAIA, S. Transcriptional Activation of the Vascular Cell Adhesion Molecule-1 Gene in T Lymphocytes Expressing Human T-Cell Leukemia Virus Type 1 Tax Protein. **J. Virol.**, **71**: 8522-30, 1997.
- VERNANT, J.C.; BUISSON, G.G.; SOBESKY, G.; ARFI, S.; GERVAISE, G.; ROMAN, G.C. Can HTLV-1 Lead to Immunological Disease? (Letter). **Lancet**, **2**: 404, 1987.
- VERONESI, R. HTLV e Doenças associadas. In: VERONESI, R. & FOCACCIA, R. *Tratado de Infectologia*. São Paulo: Atheneu, 1997. cap. 108, p.1373-78.
- VIGANO, A.; PRINCIPI, N.; CRUPI, L.; OMORATO, J.; VINCENZO, Z. G.; SALVAGGIO, A. Elevation of IgE in HIV infected children and its correlation with the progression of disease. **J. Allergy Clin. Immunol.**, **95** : 627-32, 1995.
- WUCHERPFENNIG, K.; HOLLSBERG, P.; RICHARDSON, J. H.; BENJAMIN, D. and HAFNER, D. A. T cell activation by autologous human t cell leukemia virus type I infected T cell clones. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, **89**: 2110-14, 1992.

## Anexo 1

### FICHA EPIDEMIOLÓGICA DOS PACIENTES COM HTLV-1

#### IDENTIFICAÇÃO

Nome \_\_\_\_\_ Idade \_\_\_\_\_  
Estado civil \_\_\_\_\_  
Cor (B) (MC) (MM) (ME) (N) Profissão \_\_\_\_\_  
Endereço \_\_\_\_\_  
Telefone para contato \_\_\_\_\_  
Naturalidade \_\_\_\_\_ Até quando viveu lá \_\_\_\_\_ Outras localidades  
onde residiu \_\_\_\_\_ Desde quando reside na última  
localidade \_\_\_\_\_  
Local de atendimento \_\_\_\_\_ ( ) Ambulatório ( ) Enfermaria Leito \_\_\_\_\_  
Data de admissão \_\_\_\_\_

#### DADOS EPIDEMIOLÓGICOS

- 1- Nível de escolaridade ( ) nunca estudou ( ) 1º grau incompleto ( ) 1º grau ( ) 2º grau ( ) 3º grau
- 2- Cônjuge vivo? (S) (N) Número de filhos \_\_\_\_\_ Foram amamentados? Quantos? \_\_\_\_\_
- 3- Já viveu fora do Brasil? (S) (N) nº de vezes \_\_\_\_\_ locais \_\_\_\_\_
- 4- Já trabalhou na área de saúde? (S) (N) nº de vezes \_\_\_\_\_ locais \_\_\_\_\_
- 5- Foi amamentado(a) (S) (N) Durante quanto tempo \_\_\_\_\_
- 6- Mãe viva \_\_\_\_\_ Patologias da mãe relacionadas ao HTLV-1 \_\_\_\_\_
- 7- Já recebeu transfusão de sangue ou derivados (S) (N) nº de vezes \_\_\_\_\_
- 8- Já foi submetido a hemodiálise? (S) (N)
- 9- Já fez uso de drogas injetáveis (S) (N)
- 10- Atividade sexual
  - Número médio de parceiros: ( ) apenas 1; ( ) menos de 3 por ano ( ) 4 a 10 por ano; ( ) mais de 10 por ano
  - Faz uso de preservativos? ( ) sempre ( ) nunca ( ) esporadicamente
  - Já manteve alguma atividade homossexual? (S) (N)
  - Já pagou para manter atividade sexual? (S) (N)
  - Já recebeu dinheiro para manter atividade sexual? (S) (N)
  - Já teve alguma DST? (S) (N) qual? \_\_\_\_\_

Manifestações neurológicas \_\_\_\_\_  
Outras manifestações \_\_\_\_\_