

Diagnóstico laboratorial da mielopatia associada ao HTLV-I: métodos para análise do líquido cefalorraquidiano

Primeira submissão em 03/04/08
Última submissão em 16/09/08
Aceito para publicação em 20/04/09
Publicado em 20/04/09

Laboratorial diagnosis of HTLV-I associated myelopathy: methods for the cerebrospinal fluid analysis

Cássia Cristina Alves Gonçalves¹; Luiz Claudio Pereira Ribeiro²; Carlos Alberto Moraes de Sá³; Marzia Puccioni-Sohler⁴

unitermos	resumo
Líquido cefalorraquidiano	<p>O vírus linfotrópico de células T humanas do tipo I (HTLV-I) pode causar uma doença neurológica inflamatória, crônica e incapacitante, que acomete a medula espinhal, denominada mielopatia associada ao HTLV-I/paraparesia espástica tropical (PET/MAH). A verificação de anticorpos da classe G (IgG) anti-HTLV-I no soro e no líquido cefalorraquidiano (LCR) representa importante parâmetro para o diagnóstico laboratorial da PET/MAH. Objetivo: Avaliação crítica dos métodos utilizados para verificação da presença e da produção intratecal de anticorpos totais e anti-HTLV-I no LCR para o diagnóstico de PET/MAH. Método: Realizou-se uma revisão sistemática de artigos da literatura médica, usando-se palavras-chave da língua inglesa como <i>cerebrospinal fluid</i>, <i>intrathecal synthesis of antibodies</i>, HTLV-I, HAM/TSP. As bases de dados utilizadas incluíram Pubmed, Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (Lilacs), MEDlars onLINE (Medline) e Cochrane Library. Resultado: Foram selecionados 14 artigos: cinco relacionados com a presença do anticorpo IgG específico no LCR; nove sobre síntese intratecal de anticorpos totais (IgG ou IgG/IgA/IgM) e específicos anti-HTLV-I (IgG ou IgM). Discussão: O estudo isolado da presença de anticorpo IgG anti-HTLV-I no LCR não discrimina a fração produzida no sistema nervoso central (SNC), possui baixa especificidade (40%) para o diagnóstico de PET/MAH. A demonstração da síntese intratecal de anticorpos IgG anti-HTLV-I possui maior relevância por suas elevadas especificidade (89%) e sensibilidade (83%). Entre os métodos para a avaliação da síntese intratecal de anticorpo específico, destaca-se o índice de IgG anti-HTLV-I, segundo Reiber e Felgenhauer⁽¹⁸⁾, o qual se baseia no teste do ensaio imunossorvente ligado à enzima (ELISA), com análise simultânea do LCR e do soro. Outros estudos utilizam pequenas amostragens e não demonstram sensibilidade e especificidade no teste do LCR. Apenas um trabalho possui análise estatística. Conclusão: Existe a necessidade da padronização de métodos para o diagnóstico imunológico do LCR na PET/MAH, com base em testes de elevadas sensibilidade e especificidade.</p>
Síntese intratecal de anticorpos específicos	
HTLV-I	
Índice HTLV-I	
PET/MAH	

abstract

key words

The human T-cell lymphotropic virus type I (HTLV-I) may cause HTLV-I associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP), an incapacitating chronic inflammatory disease of the spinal cord. The detection of IgG anti-HTLV-I antibodies in the serum and cerebrospinal fluid (CSF) has been an important parameter for the laboratorial diagnosis of HAM/TSP. **Objective:** critical evaluation of the methods applied to detect the presence and intrathecal production of total antibodies and anti-HTLV-I in the CSF for the diagnosis of HAM/TSP. **Methods:** We performed a systematic review of medical articles by using the key words: "cerebrospinal fluid, intrathecal synthesis of antibodies, HTLV-I associated myelopathy, HTLV-I, HAM/TSP". The used databases included: PubMed, Lilacs, Medline and Cochrane Library. **Results:** A total of 14 articles were selected: five studies were related to the presence of specific IgG antibody in the CSF and nine studied the intrathecal synthesis of total antibodies (IgG or IgG/IgA/IgM) and specific anti-HTLV-I (IgG or IgM). **Discussion:** The isolated study of the presence of IgG antibody anti-HTLV-I in the CSF does not show the fraction produced in the central nervous system, which represents low specificity (40%) for the diagnosis of HAM/TSP. The demonstration of the intrathecal synthesis of IgG anti-HTLV-I antibodies is more relevant due to its high specificity (89%) and sensibility (83%). According to Reiber & Felgenhauer (1987), the index IgG anti-HTLV-I, which is based on ELISA test with simultaneous CSF and serum analysis, stands out from the other methods applied to evaluate the intrathecal synthesis of specific antibody. Other studies use small samples and do not demonstrate the sensibility and specificity of the test in the CSF. Only one study shows statistical analysis. **Conclusion:** The immunological diagnosis of the CSF in HAM/TSP requires the standardization of methods, which should be based on tests of high sensibility and specificity.

Cerebrospinal fluid
Intrathecal synthesis of antibodies
HTLV-I
HTLV-I index
HAM/TSP

1. Mestranda do curso de pós-graduação *strictu sensu* em Neurologia da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO); bióloga do Laboratório de Pesquisa em Imunologia e AIDS do Hospital Universitário Gaffrée e Guinle (HUGG).

2. Mestrando do curso de pós-graduação *strictu sensu* em Neurologia da UNIRIO; farmacêutico do Laboratório de Pesquisa em Imunologia e AIDS do HUGG.

3. Professor titular de Clínica Médica do departamento de Medicina Geral (DEMEG) do HUGG/UNIRIO.

4. Professora adjunta de Neurologia da UNIRIO; médica responsável pelo Laboratório de Líquido Cefalorraquidiano do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (HUCCF) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ).

Trabalho realizado no Ambulatório de Neuroinfecção do Hospital Universitário Gaffrée e Guinle da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO). Apoio FAPERJ.

Introdução

O diagnóstico laboratorial de mielopatia associada ao vírus linfotrópico de células T humanas do tipo I (HTLV-I)/paraparesia espástica tropical (PET/MAH) consiste na demonstração de seu agente causal, o vírus HTLV-I, por meio da pesquisa de anticorpos anti-HTLV-I e/ou antígenos virais nos pacientes acometidos por esta doença neurológica crônica incapacitante⁽¹³⁾.

O HTLV-I pertence à família *Retroviridae* e é um vírus envelopado. Seu genoma possui duas fitas simples de RNA com estrutura genética similar à dos demais retrovírus, possuindo os genes: *gag*, que codifica as proteínas do core dos retrovírus; *pol*, que codifica polimerases; *env*, que codifica proteínas do envelope; e *pX* (**Figura 1**). Este último possui os genes reguladores *tax* e *rex*^(1, 20). Inicialmente a partícula viral se liga à superfície da célula. Após essa interação, o vírus torna-se capaz de penetrar na célula, liberando todo seu conteúdo no citoplasma. Neste, a fita de RNA viral é transcrita ao DNA de fita dupla pela enzima transcriptase reversa. A fita dupla de DNA migra para o núcleo e integra-se ao genoma do hospedeiro, formando o DNA proviral⁽²⁰⁾.

A PET/MAH é uma doença inflamatória crônica do sistema nervoso central (SNC) que se caracteriza pelo acometimento da medula espinhal de predomínio torácico. Como consequências surgem fraqueza lentamente progressiva associada a dormência nos membros inferiores, dor lombar e retenção ou incontinência urinária^(8, 13).

A análise do LCR deve incluir, além do programa básico (contagem de células, dosagem de glicose e de proteínas), a determinação da concentração de albumina e imunoglobulinas totais e específicas, em paralelo ao soro⁽¹⁸⁾. O estudo da relação entre a concentração de albumina no LCR e no soro, ou seja, o quociente de albumina LCR/soro (Q Alb), permite a avaliação de função da barreira hemato-LCR (V.R. Q Alb < 8×10^{-3}). A síntese

intratecal de IgG total é avaliada quantitativamente pelo índice de IgG, pelo diagrama de quocientes (IgG totais), segundo Reiber e Felgenhauer⁽¹⁸⁾ (**Figura 2**), entre outros. Essas medidas baseiam-se na relação entre as concentrações de imunoglobulinas totais no LCR, no soro e na barreira hemato-LCR. Outro teste utilizado para a verificação da síntese intratecal de imunoglobulinas totais ou específicas consiste na pesquisa de bandas oligoclonais no LCR em paralelo ao soro pelo método qualitativo de focalização isoeétrica (FIE) (**Figura 3**), o qual apresenta sensibilidade superior à dos métodos quantitativos. As bandas representam frações oligoclonais das imunoglobulinas e migram até seu ponto isoeletrico na eletroforese^(15, 18).

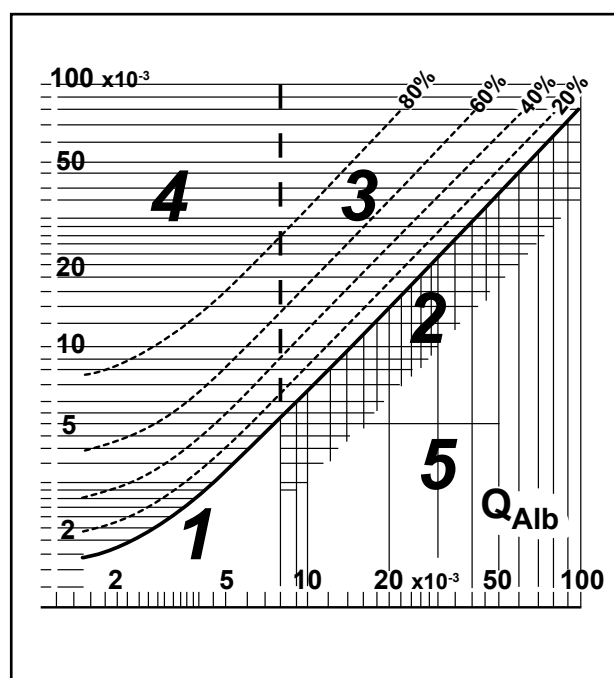


Figura 2 – Diagrama de quocientes, segundo Reiber e Felgenhauer, 1987. Quociente limite = 0 mg/l de síntese local de anticorpo. A síntese local para valores acima da linha limite é avaliada em mg/l. A linha pontilhada apresenta os valores IgG (log) em % da concentração de IgG no LCR. 1. normal; 2. disfunção da barreira hemato-LCR; 3. síntese intratecal de IgG + disfunção da barreira hemato-LCR; 4. síntese intratecal de IgG IgG: imunoglobulina da classe G; LCR: líquido cefalorraquidiano.

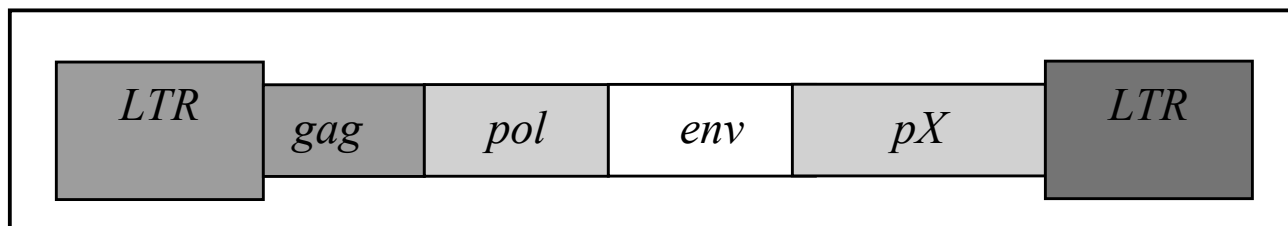


Figura 1 – Organização genética do vírus HTLV-I
HTLV-I: vírus T-linfotrópico humano tipo I.

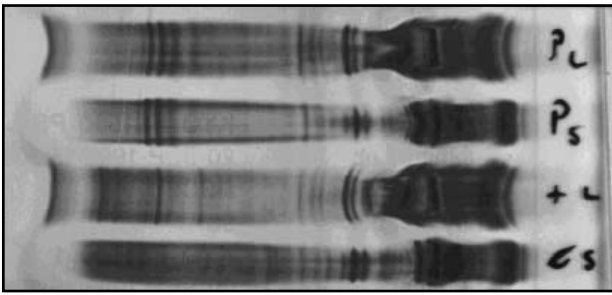


Figura 3 – Bandas IgG oligoclonais. Caso 1 – Bandas adicionais no LCR (P1 - LCR; P2 - soro); caso 2 – Bandas restritas ao LCR (+L - LCR; Cs - soro)

IgG: imunoglobulina da classe G; LCR: líquido cefalorraquidiano.

Índice de IgG = $Q \text{ IgG (LCR/soro)}$ $Q \text{ albumina (LCR/soro)}$

O exame do LCR na PET/MAH caracteriza-se pela presença de reação inflamatória com leve pleocitose (> 4 células/mm³), sendo que 1% dos linfócitos apresenta aspecto atípico semelhante ao encontrado na leucemia de células T do adulto denominado de *flowers cells*^(22,23); concentração de glicose normal (dois terços de glicemia); moderada hiperproteinorraquia (> 40 mg/dl); leve disfunção de barreira hemato-LCR ($Q \text{ Alb} \geq 8 \times 10^{-3}$); síntese intratecal de IgG total (índice de IgG $\geq 0,7$ e/ou presença de banda IgG oligoclonal no LCR não encontrada no soro)⁽¹⁷⁾.

Em relação à avaliação de anticorpos IgG anti-HTLV-I no soro, preconiza-se a realização de testes de triagem: aglutinação de partículas (AP) de látex ou de gelatina ou ensaio imunossorvente ligado à enzima (ELISA ou EIA). Os testes confirmatórios incluem imunofluorescência indireta (IFI), radioimunoprecipitação em gel de poliácridamida (RIPA/PAGE), Western blot (WB) ou imunoblot e reação de cadeia da polimerase (PCR).

No LCR, os anticorpos IgG anti-HTLV-I podem ser evidenciados pela demonstração de:

- presença de anticorpos específicos: método ELISA, AP, teste *Western blot*. Análise isolada do LCR;
- produção intratecal de anticorpo anti-HTLV-I: quociente LCR/soro IgG específica (método de ELISA) ou índice de anticorpo específico (AI), radioimunoprecipitação, focalização isoeétrica, *immunoblotting*. Análise em paralelo do LCR e do soro com a mesma metodologia.

A verificação de anticorpos totais ou específicos no LCR não permite demonstrar se estes são produzidos no SNC ou provêm do sangue pela passagem da barreira

hemato-LCR^(5, 10, 16). Para tal é necessário relacionar os valores do LCR com o soro, considerando a função da barreira hemato-LCR. Entre os métodos de avaliação da síntese intratecal de anticorpos específicos (sintetizados no SNC), o índice de anticorpo (AI) baseia-se na relação entre o quociente LCR/soro da concentração da IgG total, da albumina (pelo método de nefelometria) e IgG específica pelo método de ELISA no LCR e no soro⁽¹⁷⁾. O AI representa um método quantitativo, e valores maiores que 1,5 confirmam a síntese intratecal de anticorpo IgG específico, o qual representa uma medida de valor para a avaliação da síntese intratecal de IgG anti-HTLV-I^(16, 17). Radioimunoprecipitação, focalização isoeétrica e *immunoblotting* são métodos qualitativos utilizados para avaliação de síntese intratecal de anticorpos anti-HTLV-I e comparam a presença de bandas (antígeno-anticorpo) no LCR em relação ao soro. Bandas específicas presentes ou mais intensas no LCR não encontradas no soro são indicativas de síntese intratecal do anticorpo anti-HTLV-I⁽¹⁵⁾.

O objetivo desta revisão consiste em realizar uma análise minuciosa dos métodos e da frequência de uso da pesquisa de anticorpos IgG anti-HTLV-I no LCR e da produção intratecal de anticorpos IgG totais e específicos para o diagnóstico da PET/MAH.

Metodologia

Este estudo consistiu numa revisão sistemática de artigos publicados na literatura nacional e internacional nos últimos 18 anos. Foram utilizadas as seguintes palavras chaves da língua inglesa: *cerebrospinal fluid*, *intrathecal synthesis of antibodies*, *HTLV-I*, *immune response* e *HAM/TSP* através das fontes de dados Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (Lilacs), Pub Med, MEDlars onLINE (Medline) e Cochrane Library. Os dados foram tabulados.

Resultados

Da busca realizada, a seleção incluiu somente artigos que descreviam métodos utilizados para pesquisa de anticorpos anti HTLV-I no LCR para diagnóstico da PET/MAH, os quais totalizavam 14 publicações (**Tabela**). Em todos os artigos foram utilizadas amostras de LCR ou LCR/soro de pacientes diagnosticados com PET/MAH, conforme critério de Osame⁽¹³⁾.

Tabela Dados descritivos dos trabalhos selecionados pela metodologia

Autor/Ano	Desenho do estudo	Objetivo	Método	População	Resultados	Discussão
Osame, M. <i>et al.</i> , 1986	Retrospectivo observacional de corte transversal	Estudar a presença de anticorpos anti-HTLV-I no soro e no LCR	<ul style="list-style-type: none"> • Aglutinação de partículas de gelatina (AP) • ELISA – para amostras positivas em AP • WB – como exame confirmatório para amostras positivas em AP e ELISA 	<ul style="list-style-type: none"> • Seis pacientes com PET/MAH • 78 pacientes controle com outras desordens neurológicas 	<ul style="list-style-type: none"> • Os seis pacientes com PET/MAH mostraram títulos elevados de anticorpos anti-HTLV-I no soro e no LCR usando os métodos AP e ELISA • Dos 78 pacientes controle, 12 (15,4%) foram positivos no soro e um (1,3%) positivo no LCR pelo método de AP • WB confirmou presença de anticorpos IgG contra o HTLV-I no soro e no LCR de todos os pacientes com PET/MAH • Todos os pacientes mostraram bandas anti-HTLV-I características no LCR, contra p24 e p32 do vírus 	<ul style="list-style-type: none"> • Usando o método de aglutinação de partículas em gelatina (AP) e o ELISA, demonstraram-se títulos elevados de anticorpos anti-HTLV-I no soro e no LCR, confirmados com o WB em seis pacientes com PET/MAH • Este resultado confirma a associação entre este tipo de mielopatia e a infecção pelo HTLV-I
Ceroni, M. <i>et al.</i> , 1988	Retrospectivo observacional de corte transversal	Detectar bandas oligoclonais contra o HTLV-I no LCR de pacientes com PET/MAH	<ul style="list-style-type: none"> • Elisa – para pesquisa de anticorpos anti-HTLV-I no soro e no LCR • WB para confirmação no soro e no LCR • <i>Imunoblotting</i> para pesquisa específica de banda IgG contra o HTLV-I • FIE para separação de proteínas de LCR e soro 	<ul style="list-style-type: none"> • Onze pares de amostras de LCR e soro de pacientes com PET/MAH • Seis amostras de LCR de pacientes com PET/MAH 	<ul style="list-style-type: none"> • Onze pares de LCR e soro foram estudados para banda IgG oligoclonal total • 9/11 (81%) mostraram banda oligoclonal total exclusivamente no LCR • Das seis amostras de LCR não pareadas, cinco demonstraram banda oligoclonal total • Três pares de LCR e soro e dois outros LCRs não pareados foram estudados para banda IgG oligoclonal específica • Em cada par o padrão da banda IgG foi diferente no soro e no LCR, demonstrando síntese intratecal de anticorpo IgG contra HTLV-I • As outras duas amostras também mostraram banda IgG oligoclonal específica • Dois LCRs de um mesmo paciente obtidos em um intervalo de seis meses foram corridos em paralelo e mostraram o mesmo padrão específico de banda oligoclonal 	<ul style="list-style-type: none"> • O índice de IgG foi elevado em 65% dos pares de soro e LCR • Em 81% dos LCRs testados havia bandas IgG oligoclonais não observadas no soro de mesmo paciente • A determinação do índice de IgG específico baseado na análise de níveis de anticorpos contra HTLV-I no soro e no LCR e concentração de albumina no soro e LCR confirmaram a síntese intratecal de IgG específica contra o vírus em todas as amostras

Tabela **Dados descritivos dos trabalhos selecionados pela metodologia (cont.)**

Grimaldi, L. M. <i>et al.</i> , 1988	Retrospectivo observacional de corte transversal	Verificar bandas oligoclonais no LCR em pacientes com PET/MAH	<ul style="list-style-type: none"> • FIE usada para IgG específica no LCR e no soro, usando a proteína p24 como antígeno do HTLV-I 	<ul style="list-style-type: none"> • Cinco pacientes com PET/MAH • Nove pacientes com esclerose múltipla 	<ul style="list-style-type: none"> • Observaram bandas oligoclonais anti-p24 no LCR, mas não no soro dos pacientes com PET/MAH 	<ul style="list-style-type: none"> • Banda oligoclonal no LCR da PET/MAH correspondeu à distribuição de anticorpo anti-p24, sugerindo a presença de infecção no SNC
Gessain, A. <i>et al.</i> , 1988	Retrospectivo observacional de corte transversal	Investigar soro e LCR de pacientes com PET/MAH	<ul style="list-style-type: none"> • ELISA – para LCR e soro • WB – para confirmação foram usados LCR e soro diluídos com ELISA positivo • Imunoturbidimetria para estudo da barreira hemato-LCR – concentração de IgG e albumina no LCR e no soro • RIPA – para confirmação eventual • Eletroforese em gel de agarose para estudo de bandas oligoclonais 	<ul style="list-style-type: none"> • 19 pacientes com PET/MAH • 31 pacientes com outras desordens neurológicas como controle negativo • Oito pacientes com ATL como controle positivo 	<ul style="list-style-type: none"> • Foram encontrados anticorpos para HTLV-I no LCR e no soro de todos os pacientes com PET/MAH pelo ELISA e confirmados pelo WB e eventualmente pelo RIPA. Pelo WB no LCR, quatro pacientes tiveram títulos baixos demonstrados também pelo ELISA. Entretanto, esses quatro pacientes exibiam bandas mais fortes para o núcleo viral como p19 e p24 • RIPA – foi reativo para p19, p24 e gp61 no LCR 	<ul style="list-style-type: none"> • Soro e LCR de todos os pacientes com PET/MAH exibiram anticorpos anti-gag e env • A evidência de síntese de IgG em 14 (74%) dos 19 pacientes com PET/MAH e a presença de banda IgG oligoclonal no LCR de 13 destes 14 pacientes sugere uma ligação entre HTLV-I e PET/MAH
Link, H. <i>et al.</i> , 1989	Retrospectivo observacional de corte transversal	<ul style="list-style-type: none"> • Bandas de anticorpo IgG oligoclonal total no LCR e no soro • Bandas de anticorpos IgG anti-HTLV-I no LCR e no soro 	<ul style="list-style-type: none"> • Para a realização do estudo foi feita uma purificação do vírus HTLV-I e criada uma linha de células HUT-102 • ELISA • IFI – soro diluído 1/50 e LCR 1/10 • WB – soro diluído 1/200 e LCR 1/20 • Imunoprecipitação nefelometria para IgG total • FIE para pesquisa de banda IgG oligoclonal 	<ul style="list-style-type: none"> • 22 pacientes com PET/MAH • 15 controles com outras desordens neurológicas 	<ul style="list-style-type: none"> • ELISA – usando o HUT-102 como antígeno obtiveram títulos de anticorpo anti-HTLV-I com limites de variação de 1/1.280 a 1/10.240 no soro e 1/120 a 1/320 no LCR • Índice de IgG elevado em 17 pacientes com PET/MAH • Banda oligoclonal em 21 pacientes com PET/MAH • Banda IgG oligoclonal anti-HTLV-I em 19 dos 22 pacientes com PET/MAH 	<ul style="list-style-type: none"> • A maioria dos pacientes com PET/MAH apresenta banda IgG oligoclonal no LCR. E muitos destes também têm tais bandas no soro
McLean, B. N.; Rudge, P.; Thompson, E. J., 1989	Retrospectivo observacional de corte transversal	<ul style="list-style-type: none"> • Pesquisar no LCR anticorpos IgG e IgM contra HTLV-I 	<ul style="list-style-type: none"> • FIE para IgG total para, LCR e soro • <i>Imunoblot</i> para HTLV-I em LCR e soro 	<ul style="list-style-type: none"> • Sete pacientes com PET/MAH 	<ul style="list-style-type: none"> • Todos os pacientes com PET/MAH foram positivos para IgG oligoclonal total • Oito LCRs de cinco pacientes tinham IgG específico para HTLV-I pelo <i>imunoblot</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • Todos os pacientes tinham síntese local de IgG oligoclonal no LCR com algumas bandas no soro. Mas somente cinco pacientes tinham IgG específico do HTLV-I onde a proporção de IgG específico viral variou consideravelmente

Tabela **Dados descritivos dos trabalhos selecionados pela metodologia (cont.)**

Spina-França, A. <i>et al.</i> , 1990	Retrospectivo observacional de corte transversal	<ul style="list-style-type: none"> Investigar anticorpos anti-HTLV-I no soro e no LCR de pacientes com afecções do sistema nervoso 	<ul style="list-style-type: none"> Aglutinação de partículas para anticorpo anti-HTLV-I 	<p>Nove pacientes sem risco para PET/MAH (grupo controle)</p> <ul style="list-style-type: none"> 85 pacientes no grupo de risco ocasional (grupo 2) 56 pacientes no grupo de risco possível (grupo 3) 	<ul style="list-style-type: none"> No grupo controle todos foram negativos no soro e no LCR para pesquisa de anticorpos contra HTLV-I No grupo 2 foram detectados anticorpos anti-HTLV-I no soro e/ou no LCR em 16,5% (14/85) dos pacientes No grupo 3, 55,4% (31/56) dos pacientes apresentavam anticorpos anti-HTLV-I no soro e/ou LCR Nestes 45 casos acharam: soro e LCR positivos em 24; positivo no soro e negativo no LCR em 14; positivo somente no LCR em sete 	<ul style="list-style-type: none"> Os resultados da investigação confirmam a alta incidência da PET/MAH no Brasil e ilustram a necessidade da pesquisa desses anticorpos no LCR
Nagasato, K. <i>et al.</i> , 1991	Retrospectivo observacional de corte transversal	<ul style="list-style-type: none"> Investigar presença de IgM anti-HTLV-I no soro e no LCR de pacientes com PET/MAH 	<ul style="list-style-type: none"> WB – Pesquisa de IgM 	<ul style="list-style-type: none"> 36 pacientes com PET/MAH 23 pacientes assintomáticos 	<ul style="list-style-type: none"> Na análise do LCR dos pacientes com PET/MAH 24 das 36 amostras (66,7%) possuíam anticorpos IgM anti-HTLV-I, não observados nos assintomáticos 	<ul style="list-style-type: none"> Os resultados demonstraram alta incidência de IgM anti-HTLV-I em amostras de LCR de pacientes com PET/MAH, os quais foram contra a proteína <i>gag</i> do HTLV-I (p19 e p24) A IgM no LCR de pacientes com PET/MAH permanece presente durante longo tempo A persistência da infecção HTLV-I no SNC contribui para a patogênese da PET/MAH
Mckendall, R. R.; Oas, J.; Lairmore, M. D., 1991	Retrospectivo observacional de corte transversal	<ul style="list-style-type: none"> Examinar LCR e soro de pacientes com PET/MAH 	<ul style="list-style-type: none"> ELISA – LCR e soro IB – LCR e soro em igual quantidade de IgG 	<ul style="list-style-type: none"> Três pacientes com PET/MAH 	<ul style="list-style-type: none"> IB – estudos de LCR e soro revelaram reatividade para p19, p24, p53, gp46 e gp68 dos três pacientes 	<ul style="list-style-type: none"> ELISA positivo confirmado pelo IB em ambos, soro e LCR Esse estudo indicou resposta intratecal específica ao vírus

Tabela **Dados descritivos dos trabalhos selecionados pela metodologia (cont.)**

Puccioni-Sohler, M.; Kitz, B; Felgenhauer, K, 1995	Retrospectivo observacional de corte transversal	<ul style="list-style-type: none"> • Analisar LCR e correlacionar os parâmetros encontrados com a gravidade da doença 	<ul style="list-style-type: none"> • Método de nefelometria – dosagem da concentração de albumina e imunoglobulinas do LCR e do soro • Índice de IgG, IgA e IgM no LCR foi calculado de acordo com a fórmula de Riber e Lange • FIE para detecção de bandas oligoclonais • AI quantitativo – síntese intratecal de anticorpo IgG para HTLV-I pelo ELISA 	<ul style="list-style-type: none"> • 20 pacientes com PET/MAH • 16 pacientes soronegativos para HTLV-I com outras doenças neurológicas 	<ul style="list-style-type: none"> • Pacientes com PET/MAH: todos apresentaram reação inflamatória no SNC; 95% mostraram bandas oligoclonais refletindo síntese intratecal de IgG no SNC; 85% apresentaram síntese local de anticorpos para HTLV-I 	<ul style="list-style-type: none"> • Os parâmetros do LCR dos pacientes com PET/MAH foram comparados com os dados clínicos. Os dados apresentados indicaram a importância da análise do LCR para o diagnóstico de PET/MAH
Kitze, B. <i>et al.</i> , 1995	Retrospectivo observacional de corte transversal	<ul style="list-style-type: none"> • Investigar a significância dos anticorpos específicos do HTLV-I no LCR 	<ul style="list-style-type: none"> • EIA • RIPA 	<ul style="list-style-type: none"> • 20 pacientes com PET/MAH • 17 pacientes com outras doenças neurológicas 	<ul style="list-style-type: none"> • Avaliação quantitativa do EIA evidenciou a síntese de anticorpo IgG anti-HTLV-I no SNC • Radioimunoprecipitação demonstrou anticorpo IgG contra o HTLV-I de proteínas do <i>core</i> e de envelope em todas as amostras de LCR e soro 	<ul style="list-style-type: none"> • Demonstração de anticorpo específico no LCR contra HTLV-I depende do método usado • Com os dados não há concordância geral de como avaliar níveis de anticorpo anti-HTLV-I no LCR com atenção ao diagnóstico da PET/MAH
Kitze, B. <i>et al.</i> , 1996	Retrospectivo observacional de corte transversal	<ul style="list-style-type: none"> • Correlacionar HLA com a síntese intratecal específica de anticorpo IgG contra HTLV-I 	<ul style="list-style-type: none"> • Método de nefelometria – dosagem de albumina e IgG • Disfunção da barreira hemato-LCR dosada pelo quociente de albumina do LCR/ soro e/ou síntese intratecal de IgG • EIA • Cálculo de índice de anticorpo específico proposto por Reiber e Lange • Estudo de HLA 	<ul style="list-style-type: none"> • 46 pacientes com PET/MAH 	<ul style="list-style-type: none"> • Pacientes com alguns dos cindo haplótipos HLA estudados na PET/MAH apresentavam síntese intratecal, ao contrário daqueles que não apresentaram estes haplótipos • Pacientes com haplótipo HLA específico (por exemplo, A24Cw7B7DR1DQ5) mostraram frequentemente síntese intratecal de anticorpo contra peptídeo sintético do HTLV-I, especialmente contra o gp21 da região env. 	<ul style="list-style-type: none"> • A análise de 46 casos de PET/MAH mostrou que pacientes com alta resposta imune ao haplótipo HLA apresentavam início da doença durante a infância e a adolescência, entretanto aqueles com relato de transfusão sanguínea apresentavam início da doença na fase adulta

Tabela Dados descritivos dos trabalhos selecionados pela metodologia (cont.)

Kitze, B. <i>et al.</i> , 1996	Retrospectivo observacional de corte transversal	<ul style="list-style-type: none"> • Avaliar pares de amostras LCR e soro para síntese intratecal de anticorpo específico contra HTLV-I 	<ul style="list-style-type: none"> • EIA no LCR e no soro • Nefelometria para dosagem de albumina e IgG no LCR e no soro 	<ul style="list-style-type: none"> • Pacientes classificados em quatro grupos: 39 com PET/MAH; seis soropositivos para HTLV-I com possível PET/MAH, mas também com outras doenças da medula espinhal; 11 controles soronegativos para HTLV-I; 15 pacientes soropositivos para HTLV-I sem doença da medula espinhal 	<ul style="list-style-type: none"> • Síntese de anticorpo intratecal contra peptídeo específico do HTLV-I achados com PET/MAH e 20% dos soropositivos sem doença da medula espinhal 	<ul style="list-style-type: none"> • Encontraram diferença significativa entre os pacientes soropositivos para HTLV-I sem PET/MAH e os com PET/MAH. A síntese intratecal de anticorpo específico ao HTLV-I em alguns soropositivos sem PET/MAH pode ser interpretada como diferença quantitativa entre os dois grupos ou como uma anormalidade subclínica nos soropositivos sem PET/MAH, sugerindo o acompanhamento desses pacientes
Puccioni-Sohler, M. <i>et al.</i> , 2001	Retrospectivo observacional de corte transversal	<ul style="list-style-type: none"> • Avaliar síntese intratecal de anticorpo pelo método AI e sua contribuição diagnóstica 	<ul style="list-style-type: none"> • ELISA no soro e no LCR • WB no soro • FIE para pesquisa de IgG total seguida de coloração pela prata • AI para HTLV-I no LCR • Tratamento estatístico usando os testes χ^2, Mann-Whitney e Kruskal-Wallis 	<ul style="list-style-type: none"> • 138 pacientes divididos em três grupos: 81 pacientes com PET/MAH e sorologia positiva para HTLV-I; 44 pacientes portadores do HTLV-I com outras desordens neurológicas; 13 pacientes com esclerose múltipla soronegativos para HTLV-I 	<ul style="list-style-type: none"> • Para o diagnóstico da PET/MAH entre todas as amostras de LCR de pacientes estudados e divididos em três grupos obtiveram: teste de ELISA com sensibilidade de 99% e especificidade de 41%; AI com sensibilidade de 83% e especificidade de 89% 	<ul style="list-style-type: none"> • Algoritmo para diagnóstico da PET/MAH • AI usado sozinho apresenta sensibilidade de 83% e especificidade de 89% para diagnóstico da PET/MAH • Em pacientes com sintomas clínicos de PET o valor preditivo positivo de AI é de 95% e em contrapartida, é de 75% no ELISA

HTLV-I: vírus T-linfotrófico humano tipo I; LCR: líquido cefalorraquidiano; ELISA ou EIA: ensaio imunossorvente ligado à enzima; WB: Western blot; PET/MAH: paraparesia espástica tropical/mielopatia associada ao HTLV-I; AP: aglutinação de partículas; FIE: focalização isoeletrica; RIPA: radioimunoprecipitação em gel de poliacrilamida; ATL: leucemia de células T adulto; IB: imunoblot

Entre os artigos sobre imunologia geral, com base na relação LCR/soro^(4, 6-8, 16, 17):

- 6/14 (42,9%) avaliaram a barreira hemato-LCR;
- 4/14 (28,6%) analisaram síntese intratecal de IgG, com base no índice de IgG e 4/14 (28,6%), com base no diagrama de quocientes;
- 1/14 (7,1%) estudou a avaliação combinada da

síntese de IgA, IgG e IgM, com base no diagrama de quocientes;

- 2/14 (14,2%) avaliaram síntese intratecal de IgG, com base na demonstração de bandas IgG oligoclonais pelo método de focalização isoeletrica.

Em relação ao estudo imunológico específico para HTLV-I:

- análise isolada de IgG anti-HTLV-I no LCR – 2/14

(14,3%) dos artigos utilizaram o teste de aglutinação de partículas de látex^(14, 20) e 10/14 (71,4%), o teste de ELISA^(2, 3, 5-9, 17);

- avaliação da síntese intratecal de anticorpos anti-HTLV-I (LCR/soro) – o AI para IgG anti-HTLV-I foi aplicado em 5/14 (36%) dos artigos^(6, 16, 17); focalização isoeletrica para pesquisa de banda IgG oligoclonal anti-HTLV-I no LCR e no soro em 3/14 (21,4%)^(2, 10, 17); método de *immunoblot* em 2/14 (14,3%)^(2, 9); o método de radioimunoprecipitação em 2/14 (14,3%)^(3, 5); método de Western blot (WB) em 5/14 (35,7%) para pesquisa de banda monoclonal^(2, 3, 8, 14, 17), em que a resposta foi principalmente direcionada às proteínas p19 e p24. Em 1/14 (7,1%) o método de WB avaliou a presença de banda IgM anti-HTLV-I no soro e no LCR⁽¹²⁾.

Dos 14 artigos, somente 1 (7,1%) fez tratamento estatístico e descreveu sensibilidade e especificidade da metodologia citada utilizando uma amostragem de 138 pacientes divididos em três grupos: os com paraparesia espástica e sorologia para HTLV-I positiva; aqueles portadores de HTLV-I com outros distúrbios neurológicos; os com esclerose múltipla e sorologia negativa para HTLV-I. Os métodos utilizados na análise incluíram índice de IgG, pesquisa de banda IgG oligoclonal no LCR/soro pela FIE e índice de IgG anti-HTLV-I (AI)⁽¹⁷⁾.

Discussão

Na presente revisão realizou-se minuciosa análise dos métodos para pesquisa de anticorpos no LCR e no soro, da sua frequência de uso no diagnóstico da PET/MAH e dos métodos utilizados para determinação da produção intratecal de anticorpos totais e específicos^(4, 9, 10, 12, 21).

Osame *et al.*⁽¹⁴⁾ analisaram presença de anticorpos IgG totais no LCR e no soro de seis pacientes com PET/MAH. O teste de AP foi aplicado inicialmente para dosar títulos de anticorpos IgG contra o HTLV-I. Não houve citação sobre a diluição das amostras, porém todas foram positivas. Realizou-se o teste de ELISA em todas as amostras. O critério de positividade incluiu absorbância > 0,06 no soro e > 0,04 no LCR. Todas se encontravam positivas, variando de 0,046 a 0,388. A análise do WB usando células MT2 confirmou a presença dos anticorpos IgG para HTLV-I em soro e LCR. Todos os pacientes mostraram bandas IgG, p24 e p32 características no LCR. A hipótese sobre associação entre a infecção pelo HTLV-I e a mielopatia baseou-se nos seguintes achados: presença de altos títulos de anticorpos IgG anti-HTLV-I no soro e no

LCR, confirmados pelo WB, e padrões característicos de IgG específica no LCR no teste de WB nos seis pacientes com PET/MAH⁽¹⁴⁾.

Ceroni *et al.*⁽²⁾ analisaram soro e LCR de 11 pacientes com PET/MAH e LCR de seis pacientes:

- pela FIE para pesquisa de banda IgG oligoclonal total;
- para pesquisa de anticorpos IgG anti-HTLV-I pelo método ELISA, confirmados pelo WB;
- *immunoblotting* para pesquisa de banda IgG específica.

O estudo de banda IgG oligoclonal total em 11 pares de LCR e soro revelou que 81% mostravam banda oligoclonal total exclusivamente no LCR. Três pares de LCR e soro e dois outros LCRs foram estudados quanto à presença de banda IgG oligoclonal específica, revelando nos pares um padrão da banda IgG no LCR, não observado no soro, compatível com síntese intratecal de anticorpo IgG contra HTLV-I. As duas amostras de LCR também mostraram banda IgG oligoclonal específica. Dois LCRs de um mesmo paciente obtidos em um intervalo de seis meses foram corridos em paralelo e mostraram o mesmo padrão específico de banda oligoclonal⁽²⁾.

Grimaldi *et al.*⁽⁴⁾ demonstraram presença de bandas IgG oligoclonais específicas para a proteína p24 do HTLV-I no LCR (não evidenciadas no soro) de cinco pacientes com PET/MAH, usando o método de FIE com coloração pela prata. Após a FIE, houve a imunofixação em gel com anti-IgG humana específica para proteína p24 do HTLV-I. Esta proteína foi escolhida por ser considerada, segundo esses autores, o maior alvo da resposta imune na PET/MAH. Presença de bandas no LCR, com ausência nas amostras de soro, indicaram que foram produzidas dentro do SNC⁽⁴⁾.

Gessain *et al.*⁽³⁾ investigaram síntese intratecal de anticorpos IgG anti-HTLV-I em 19 pacientes com PET/MAH. Utilizou-se o método de ELISA, confirmado pelo WB e eventualmente pela RIPA, para a detecção de anticorpos específicos no LCR e no soro. No teste de ELISA, determinaram-se os títulos de anticorpos em diluições seriadas em duplicata. No soro, variou de 1:100 a 1:8000 e no LCR, de 1:2 a 1:320. As amostras foram positivas. Para confirmação com WB, o soro foi diluído em 1:200 e o LCR, 1:20. O WB foi usado para todas as amostras de ELISA positivas. Pelo WB, todos os soros foram reativos para p19, p24, p26, p28, p32, p36 e Pr53. No LCR a reatividade contra o HTLV-I foi principalmente direcionada para proteína p24, mas também em menor proporção para p19, p32, p36 e Pr53. Em todos os casos, se uma banda estava presente no LCR, também estava no soro correspondente. Quatro pacientes

que tiveram baixos títulos de anticorpos pelo ELISA no LCR, no WB claramente exibiram as bandas correspondentes às proteínas p19 e p24. A RIPA também demonstrou estas bandas no LCR, entretanto a reatividade maior foi direcionada para as glicoproteínas gp45 e gp61 em seis soros positivos e fraca em correspondência no LCR⁽³⁾.

Estudo realizado por Link *et al.*⁽⁸⁾ com soro e LCR de 22 pacientes com PET/MAH investigou bandas de anticorpos IgG total e específica por meio da FIE. Os anticorpos anti-HTLV-I foram detectados pelo ELISA e confirmados por IFI e WB. Demonstraram-se anticorpos IgG anti-HTLV-I pelo método de FIE, seguido pela transferência de proteínas virais na membrana de nitrocelulose. Dezenove dos 22 pacientes (86%) apresentaram bandas de anticorpo IgG oligoclonal anti-HTLV-I no LCR. No estudo qualitativo das imunoglobulinas totais, 95% dos pacientes apresentavam também bandas IgG oligoclonais totais por meio da FIE⁽⁸⁾.

Pares de LCR e soro de sete pacientes foram estudados por McLean *et al.*⁽¹⁰⁾. Realizou-se a FIE para IgG total nos pares de LCR e soro. Todos possuíam banda IgG oligoclonal total no LCR; dois apresentavam bandas semelhantes no soro. Oito amostras de LCR de cinco pacientes apresentaram IgG oligoclonal HTLV-I específico no *immunoblotting* antigênico. O número de bandas variou de poucas até mais de 30 e algumas eram correspondentes na eletroforese de IgG total. Três amostras de LCR de dois pacientes mostraram bandas IgM contra HTLV-I na ausência de resposta IgG oligoclonal específica.

Spina-França *et al.*⁽²¹⁾ utilizaram o método de aglutinação passiva de partículas para pesquisa de anticorpos IgG anti-HTLV-I no soro e no LCR. Os pacientes possuíam afecções do sistema nervoso, particularmente mielopatias, e foram divididos em três grupos:

- grupo controle (grupo 1 – sem risco de relação/paraplegia traumática);
- grupo de risco ocasional (grupo 2 – a presença de anticorpos não estaria diretamente ligada a doença/meningiomieloradiculite por *Schistosoma mansoni*, esclerose múltipla, AIDS e outras doenças neurológicas);
- grupo de risco possível (grupo 3 – a presença do anticorpo poderia estar relacionada com doença/mielopatia crônica progressiva de etiologia desconhecida).

O grupo 1 não possuía anticorpos IgG anti-HTLV-I no soro e no LCR (nove pacientes). O grupo 2 revelou anticorpos IgG anti-HTLV-I em 16,5% (14/85) dos casos; e o grupo 3, em 55,4% (31/56) dos casos. Desses 45 casos,

24 amostras foram positivas no soro e no LCR; 14 foram positivas no soro e negativas no LCR; e sete, positivas somente no LCR. Os autores relatam que os resultados da investigação confirmavam a elevada incidência da PET/MAH no Brasil⁽²¹⁾.

Nagasato *et al.*⁽¹²⁾ estudaram 36 amostras de pacientes com PET/MAH e 23 pacientes assintomáticos. A análise das 36 amostras de pacientes com PET/MAH, pelo método de WB, revelou que 31 (86,1%) apresentavam anticorpos IgM anti-HTLV-I no soro e 24 (66,7%) no LCR. Nos assintomáticos, nenhuma amostra de LCR e quatro das 23 (17,4%) amostras de soro possuíam anticorpos anti-IgM específicos. O estudo mostrou que a imunoreatividade era direcionada contra as proteínas do gene *gag* (p24 e p19) na maioria dos pacientes com PET/MAH e nos assintomáticos. O estudo indicou a presença de IgM específica no LCR em mais de 50% dos pacientes com PET/MAH, com duração da doença superior a 20 anos. Os resultados do estudo, segundo os autores, indicaram que a persistência da infecção HTLV-I no SNC contribui para patogênese da PET/MAH⁽¹²⁾.

McKendall *et al.*⁽⁹⁾ revelaram por meio de estudos de LCR e soro com a metodologia do *immunoblot*, reatividade para p19, p24, p53, gp46 e gp 68 do HTLV-I em três pacientes com PET/MAH. Além disso, amostras de soro e LCR de dois pacientes foram diluídas para igual concentração de IgG, revelando maior intensidade da banda p24 no LCR em relação ao soro. Este achado demonstrou a produção intratecal de IgG contra p24 do HTLV-I⁽⁹⁾.

Puccioni-Sohler *et al.*⁽¹⁷⁾ observaram que a demonstração da síntese intratecal de bandas IgG oligoclonais foi o parâmetro mais sensível para verificar a resposta inflamatória do SNC na PET/MAH. Estas ocorreram em 95% dos casos pelo método de focalização isoelétrica quando em comparação com os métodos quantitativos (índice de IgG total e índice de anticorpo específico). Observou-se a presença de síntese intratecal de anticorpo IgG anti-HTLV-I pelo método do AI específico em 85% dos pacientes com PET/MAH, utilizando como base um teste de ELISA para HTLV-I *in house*⁽¹⁶⁾.

Kitze *et al.*⁽⁵⁾ demonstraram síntese intratecal de anticorpos específicos pelo método qualitativo (RIPA). Neste estudo, discriminaram-se anticorpos anti-*gag* e anti-*env* do HTLV-I, confirmando que os antígenos alvos são derivados do HTLV-I. Para análise da RIPA, amostras de LCR e soro foram diluídas em iguais concentrações de IgG total. Bandas típicas de proteína do *env* (gp 68) e do *gag* (p24) do HTLV-I se apresentavam mais evidentes

no LCR do que no soro, indicando síntese intratecal de anticorpos específicos na PET/MAH⁽⁵⁾.

Moreno-Carvalho *et al.*⁽¹¹⁾ analisaram a resposta inflamatória no LCR, no curso da PET/MAH, em 128 amostras. Os resultados indicaram que alterações inflamatórias como moderada pleocitose e hiperproteinorraquia, presença de células plasmáticas e eventualmente eosinófilos persistiam por um período superior a 10 anos. Entretanto existia tendência a diminuição de sua intensidade ou mesmo de normalização após o segundo ano de evolução da doença. A síntese intratecal de IgG total e a pesquisa de anticorpos específicos não foram avaliadas⁽¹¹⁾.

Kitze *et al.*⁽⁶⁾ determinaram haplótipos de antígeno leucocitário (HLA) de pacientes com PET/MAH por sorotipagem e estudos familiares do HLA. Pacientes com PET/MAH com particulares haplótipos HLA (A24Cw7B7DR1DQ5, A2Cw7B7DR1DQ5, A24Cw-B52DR15DQ6, A11Cw1B54DR4DQ4 e A24Cw1B54DR4DQ4) mostraram síntese intratecal de anticorpo IgG de predomínio contra o peptídeo sintético de envelope gp21 do HTLV-I⁽⁷⁾.

Kitze *et al.*⁽⁷⁾ revelaram síntese intratecal de anticorpo IgG específico dos peptídeos pelo método de EIA (painel de 16 peptídeos). Inicialmente realizou-se a triagem pelo método do índice de anticorpo para HTLV-I (segundo Reiber e Felgenhauer). Síntese intratecal de anticorpo contra os peptídeos específicos ocorreu em 79% dos pacientes com PET/MAH, mas também em 20% dos pacientes sem PET/MAH. Destacou-se a reação dirigida contra proteínas do *gag* (p19) e do *env* (gp 21, gp 46)⁽⁶⁾.

Puccioni-Sohler *et al.*⁽¹⁷⁾ demonstraram a presença de anticorpos IgG anti-HTLV-I no LCR, pelo método de ELISA, em 99% dos pacientes com PET/MAH, mas também em 60% dos sem PET/MAH. Este método teve sensibilidade de 99% e especificidade de 41% para o diagnóstico da PET/MAH entre todos os pacientes estudados. O valor preditivo positivo da pesquisa de anticorpos anti-HTLV-I no LCR, pelo método de ELISA, foi 75%, e o preditivo negativo, 95% para o diagnóstico de PET/MAH. O método quantitativo do índice de anticorpo para HTLV-I (segundo Reiber e Feugenhauer), com base no teste de ELISA comercial para HTLV-I, demonstrou elevadas sensibilidade (83%) e especificidade (89%) para o diagnóstico de PET/MAH. Em pacientes com PET/MAH, o valor preditivo positivo do índice de anticorpo para HTLV-I foi de 95% e o negativo, 65%⁽¹⁷⁾.

Conclusão

Com base nas metodologias utilizadas no exame do LCR para o diagnóstico da PET/MAH, conclui-se que a avaliação da presença do anticorpo específico no LCR não diferencia se os anticorpos provêm do sangue pela passagem da barreira hemato-LCR ou se é produzido dentro do SNC. Pacientes assintomáticos infectados pelo HTLV-I podem apresentar anticorpos no LCR, porém, em títulos inferiores, quando em comparação com pacientes com PET/MAH, considerando que toda proteína do soro atinge o LCR pela barreira hemato-LCR.

Para análise de síntese intratecal de anticorpo específico, o teste de ELISA é utilizado no cálculo do índice de anticorpo para HTLV-I com base na relação dos valores do anticorpo anti-HTLV-I no soro e no LCR, em comparação com a síntese de IgG total e da função da barreira hemato-LCR. O teste de ELISA é baseado em uma metodologia sensível, acessível, de fácil aplicação e baixo custo. O índice de anticorpo para HTLV-I, com base no ELISA, apresenta bom resultado, com elevadas sensibilidade e especificidade e valor preditivo positivo, além de facilidade de execução⁽¹²⁾. O RIPA tem limitações por utilizar radioatividade e ter custo elevado, restringindo-se ao uso em pesquisa. A focalização isoeétrica para determinação de anticorpo específico é teste feito *in house* e precisa de validação e definição de sensibilidade e especificidade para ser usado como teste diagnóstico. Os testes qualitativos demonstraram resposta imunológica no LCR, principalmente contra as proteínas p19, p24 e gp46, e, em alguns estudos, ocorreu resposta contra as proteínas p32, gp21, gp68, gp46, gp61.

Concluimos que são poucas as metodologias propostas para estudo da síntese intratecal de anticorpos anti-HTLV-I, e a maioria dos estudos utilizou pequenas amostragens, não sendo possível, na maior parte das vezes, a determinação da sensibilidade e da especificidade, ou qualquer cálculo estatístico. Somente um estudo possuía análise estatística. Há necessidade de novas investigações que comprovem a sensibilidade e a especificidade dos testes usados e de pesquisa de novos métodos que possam ser aplicados na análise da síntese intratecal de anticorpos específicos, já que esta representa a reação imune dirigida contra o organismo⁽¹⁹⁾. A literatura demonstra que o método do índice de anticorpo para HTLV-I representa um dos melhores instrumentos para determinação da síntese intratecal de anticorpos específicos na PET/MAH.

Referências

- CATALAN-SOARES, B. C.; PROIETTI, F.A.; CARNEIRO-PROIETTI, A. B. F. Os vírus linfotrópicos de células T humanos (HTLV) na última década (1990-2000): aspectos epidemiológicos. *Rev Bras Epidemiol*, v. 4, n. 2, 2001.
- CERONI, M. *et al.* Intrathecal synthesis of IgG antibodies to HTLV-I supports an etiological role for HTLV-I in tropical spastic paraparesis. *Ann Neurol*, v. 23, n. S1, p. S188-91, 1988.
- GESSIAN, A. *et al.* Intrathecal synthesis of antibodies to human T lymphotropic virus type I and the presence of IgG oligoclonal bands in the cerebrospinal fluid of patients with endemic tropical spastic paraparesis. *J Infect Dis*, v. 157, n. 6, p. 1226-34, 1988.
- GRIMALDI, L. M. *et al.* HTLV-I-associated myelopathy: oligoclonal immunoglobulin bands contain anti-HTLV-I p 24 antibody. *Ann Neurol*, v. 24, n. 6, p. 727-31, 1988.
- KITZE, B. *et al.* Specificity of intrathecal IgG synthesis for HTLV-I core and envelope proteins in HAM/TSP. *Acta Neuro Scand*, v. 92, n. 3, p. 213-7, 1995.
- KITZE, B. *et al.* Diversity of intrathecal antibody synthesis against HTLV-I and its relation to HTLV-I associated myelopathy. *J Neurol*, v. 243, n. 5, p. 393-400, 1996.
- KITZE, B. *et al.* Intrathecal humoral immune response in HAM/TSP in relation to HLA haplotype analysis. *Acta Neuro Scand*, v. 94, n. 4, p. 287-93, 1996.
- LINK, H. *et al.* Chronic progressive myelopathy associated with HTLV-I: oligoclonal IgG and anti-HTLV-I IgG antibodies in cerebrospinal fluid and serum. *Neurology*, v. 39, n. 12, p. 1566-72, 1989.
- MCKENDALL, R. R.; OAS, J.; LAIRMORE, M. D. HTLV-I associated myelopathy endemic in Texas-born residents and isolation of virus from CSF cell. *Neurology*, v. 41, n. 6, p. 831-6, 1991.
- MCLEAN, B. N. RUDGE, P. THOMPSON, E. J. Viral specific IgG and IgM antibodies in the CSF of patients with tropical spastic paraparesis. *J Neurol*, v. 236, n. 6, p. 351-2, 1989.
- MORENO-CARVALHO, O. A. NASCIMENTO-CARVALHO, C. M. C. GALVÃO-CASTRO, B. HTLV-I associated tropical spastic paraparesis cerebral spinal fluid evolutive aspects in 128 cases. *Arq. Neuropsiquiatr*, v. 53, n. 3-B, p. 604-7, 1995.
- NAGASATO, K. *et al.* Active production of anti-human T-lymphotropic virus type I (HTLV-I) IgM antibody in HTLV-I-associated myelopathy. *J. Neuroimmunology*, v. 32, n. 2, p. 105-9, 1991.
- OSAME, M. Review of WHO Kagoshima Meeting and Diagnostic Guidelines for HAM/TSP. *Retroviral*, 1990.
- OSAME, M. *et al.* Chronic progressive myelopathy associated with elevated antibodies to human T-lymphotropic virus type I and adult T-cell leukemia-like cells. *Ann Neurol*, v. 21, n. 2, p. 117-22, 1987.
- PUCCIONI-SOHLER, M. *Diagnóstico de neuroinfecção com abordagem dos exames do líquido cefalorraquidiano e neuroimagem*. Rio de Janeiro: Editora Rubio, 2008.
- PUCCIONI-SOHLER, M.; KITZE, B.; FELGENHAUER, K. HTLV-I associated myelopathy in patients from Brazil and Iran: neurological manifestations and cerebrospinal fluid findings. *Arq Neuropsiquiatr*, v. 53, n. 2, p. 213-7, 1995.
- PUCCIONI-SOHLER, M. *et al.* Diagnosis of HAM/TSP based on CSF proviral HTLV-I DNA and HTLV-I antibody index. *Neurology*, v. 57, n. 4, p. 725-7, 2001.
- REIBER, H. FELGENHAUER, K. Protein transfer at the blood cerebrospinal fluid barrier and the quantitation of the humoral immune response within the central nervous system. *Clinica Chimica Acta*, n. 163, p. 319-28, 1987.
- RIBAS, J. G. R. MELO, G. C. N. Mielopatia associada ao vírus linfotrófico humano de células T do tipo 1 (HTLV-1). *Rev Soc Bras Med Trop*, v. 35, n. 4, p. 377-84, 2002.
- SANTOS, F. L. N., LIMA, F. W. M. Epidemiologia, fisiopatogenia e diagnóstico laboratorial da infecção pelo HTLV-I. *J Bras Patol Med Lab*, v. 41, n. 2, p. 105-16, 2005.
- SPINA-FRANÇA, A. *et al.* HTLV-I antibodies in serum and cerebrospinal fluid in tropical spastic paraparesis in Brazil. *Arq Neuropsiquiatr*, v. 48, n. 4, p. 441-7, 1990.
- UCHIYAMA T *et al.* Adult T-cell leukemia: clinical and hematological features of 16 cases. *Blood*, n. 50, p. 481-92, 1977.
- YODOI, J.; TAKATSUKI, K.; MASUDA T. Two cases of T-cell chronic lymphocytic leukemia in Japan. *New Engl J Méd*, n. 290, p. 572-3, 1974.

Endereço para correspondência

Marzia Puccioni-Sohler
Praia do Flamengo, 66B, conj. 219-220 - Flamengo
Rio de Janeiro-RJ
e-mail: m_puccioni@yahoo.com.br