

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO
MARIANA DIAS BATISTA

PREVALÊNCIA E CORRELAÇÕES CLÍNICAS DA INFECÇÃO PELO
HERPESVÍRUS HUMANO TIPO 8 EM INDIVÍDUOS RECÉM-INFECTADOS PELO
HIV

SÃO PAULO
2009

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

MARIANA DIAS BATISTA

PREVALÊNCIA E CORRELAÇÕES CLÍNICAS DA INFECÇÃO PELO
HERPESVÍRUS HUMANO TIPO 8 EM INDIVÍDUOS RECÉM-INFECTADOS PELO
HIV

Dissertação apresentada à Disciplina
de Infectologia do Departamento de
Medicina da Universidade Federal de
São Paulo para obtenção do título de
Mestre em Ciências

ORIENTADOR: ESPER GEORGES KALLAS

SÃO PAULO
2009

RESUMO

A infecção pelo herpesvírus humano tipo 8 (HHV-8) e suas correlações clínicas não foram até o presente bem caracterizadas em indivíduos recém-infectados pelo HIV. Esse estudo avalia a prevalência e correlações clínicas da infecção pelo HHV-8 em uma coorte de 228 indivíduos recém-infectados pelo HIV (vírus da imunodeficiência humana), além de estudar a incidência desta infecção após um ano de acompanhamento. As sorologias para HHV-8 foram realizadas através de imunofluorescência indireta para antígenos latentes e líticos. Encontrou-se prevalência de 25,9% (59/228) no início do acompanhamento. No modelo de análise univariada, foram encontradas associações estatisticamente significantes com sexo masculino ($p=0,05$), transmissão entre homens que fazem sexo com homens ($p=0,023$), hepatite B ($p=0,009$), sífilis (0,034) e etnia negra ($p=0,021$). No modelo multivariado permaneceram as associações com modo de transmissão, hepatite B e etnia negra. Não foram evidenciadas diferenças nas medianas da contagem de linfócitos T CD4+ e na carga viral do HIV de acordo com positividade para o HHV-8. Em termos de incidência, foram observadas 23/127 (18,1%) soroconversões na coorte após 1 ano de acompanhamento. A partir deste estudo pode-se concluir que o HHV-8 é altamente prevalente em indivíduos recém-infectados pelo HIV. Além disso, as correlações encontradas entre o HHV-8 e outras infecções sexualmente transmissíveis corroboram a teoria de que estas infecções compartilham modos de transmissão comuns.

Palavras-chave: HHV-8; HIV; fatores de risco; co-infecção; infecção aguda; doenças sexualmente transmissíveis.

ABSTRACT

Background: Human herpesvirus 8 (HHV-8) is the etiological agent for Kaposi's sarcoma, which occurs especially in HIV-infected subjects. HHV-8 infection and its clinical correlates have not been well characterized in recently HIV-1-infected individuals.

Methods: We assessed the HHV-8 seroprevalence, clinical correlates, and incidence after one year of follow-up in a cohort of 228 recently HIV-1-infected individuals using indirect immunofluorescence assay.

Results: The prevalence of HHV-8 infection at the time of cohort enrollment was 25.9% (59/228). In the univariate model, there were significant associations with male gender ($p=0.05$), black ethnicity ($p=0.021$), men who have sex with men (MSM) practice ($p=0.023$), and previous hepatitis B virus ($p=0.009$) and syphilis ($p=0.034$) infections. In the multivariate model we could still demonstrate association with MSM, hepatitis B, and black ethnicity. No differences in mean CD4⁺ cell counts or HIV viral load according to HHV-8 status were found. In terms of incidence, there were 23/127 (18.1%) seroconversions in the cohort after one year.

Conclusions: HHV-8 is highly prevalent among recently HIV-1-infected subjects. Correlations with other sexually transmitted infections suggest common transmission routes.

Key words: HIV-1; HHV-8; co-infection; risk factors, recent infection; sexually transmitted infections.

SUMÁRIO

Página

1. Introdução.....	1
1.1 Isolamento.....	2
1.2 Estrutura e subtipos.....	3
1.3 Transmissão.....	6
1.4 Ensaios Laboratoriais.....	9
1.5 Prevalência no Brasil.....	13
1.6 Interações HHV-8/HIV.....	18
2. Objetivos.....	20
2.1 Gerais.....	21
2.2 Específicos.....	21
3. Desenvolvimento.....	22
3.1 Abstract.....	25
3.2 Introduction.....	26
3.3 Methods.....	28
3.4 Results.....	31
3.5 Discussion.....	33
3.6 References.....	36
3.7 Table 1.....	39
3.8 Table 2.....	40
3.9 Table 3.....	41
3.10 Figure 1.....	42
4. Conclusões.....	43
5. Referências.....	45

1. INTRODUÇÃO

O herpesvírus humano tipo 8 (HHV-8) é um vírus da família *herpesviridae*, identificado como agente causador do sarcoma de Kaposi (SK). Está implicado na patogênese de todas as formas do SK, incluindo formas clássicas, descritas em homens do Mediterrâneo; formas epidêmicas relacionadas ao HIV-aids; formas iatrogênicas presentes em pacientes transplantados submetidos à imunossupressão; até formas endêmicas presentes em algumas regiões geográficas do mundo, como África sub-saariana. As formas de transmissão do HHV-8 incluem salivar, que ocorre principalmente na infância em populações nas quais o vírus é endêmico, e sexual, que é importante em populações de risco (homens que fazem sexo com homens). Outras formas de transmissão incluem vertical, por sangue ou transplante. A prevalência do HHV-8 na população brasileira é baixa, com exceção de alguns grupos populacionais, como pacientes portadores do HIV. As informações sobre a prevalência do HHV-8 em indivíduos recém-infectados pelo HIV são limitadas.

1.1 Isolamento

O agente etiológico do sarcoma de Kaposi foi primeiramente isolado por Chang *et al.* (1994), que detectaram, através de técnica de PCR (*polymerase chain reaction*) e análise representativa diferencial, seqüências de DNA viral a partir de lesões de sarcoma de Kaposi de pacientes com aids. Essas seqüências apresentavam homologia a vírus da subfamília *Gamaherpesvirinae*, herpesvírus saimiri e vírus Epstein Barr, porém constituíam uma forma viral distinta, que foi inicialmente denominada herpesvírus associado ao SK, e posteriormente denominada herpesvírus humano tipo 8. As mesmas seqüências de DNA do HHV-8 foram posteriormente encontradas em todas as outras formas de SK: clássico, iatrogênico e endêmico (MOORE; CHANG, 1995; HUANG *et al.*, 1995; DUPIN *et al.*, 1995; KEDDA *et al.*, 1996; ALUIGI *et al.*, 1996).

Além de causar o SK, o HHV-8 é também agente etiológico de outras doenças linfóides raras: linfoma de efusão primária, no qual está implicado em associação ao vírus Epstein-

Barr (CESARMAN *et al.*, 1995), e doença de Castleman multicêntrica (SOULIER *et al.*, 1995).

1.2 Estrutura e subtipos

O HHV-8 é vírus da família *Herpesviridae*, subfamília *Gamaherpesvirinae*, caracterizada por apresentar linfotropismo, sendo o único rhadinovírus (gama 2-herpesvírus) que infecta seres humanos (MOORE *et al.*, 1996). É formado por um capsídeo hexagonal que contém o core central com DNA viral, circundado por material amorfo rico em proteínas denominado tegumento, e um envelope com glicoproteínas de superfície (SAID *et al.*, 1997). No momento da infecção, glicoproteínas do envelope interagem com receptores da membrana celular da célula hospedeira, e promovem a liberação do conteúdo viral para o citoplasma da célula. O DNA viral é então movido para o núcleo da célula, onde assume forma epissomal circular fechada (ROIZMAN, 2001).

O vírus apresenta duas fases distintas: fase latente, na qual permanece dentro das células B, e fase lítica, na qual há replicação viral ativa (ROIZMAN, 2001; COHEN *et al.*, 2005; BROWN *et al.*, 2006). Durante a fase latente, o genoma do vírus permanece sob a forma epissomal no núcleo da célula do hospedeiro, com expressão de poucos genes e, portanto, sem grande estímulo à resposta imunológica (MOORE *et al.*, 1996). Nessa fase, são produzidos os antígenos nucleares associados à latência (*latency-associated nuclear antigens* - LANA), codificados a partir da região ORF 73 do genoma viral. A detecção de anticorpos dirigidos a esses antígenos é importante nos exames sorológicos para diagnóstico da infecção pelo HHV-8 (RAINBOW *et al.*, 1997). Durante a fase lítica, o genoma viral é ativado e inicia replicação, com expressão de múltiplos genes e produção de proteínas estruturais do vírus no citoplasma da célula do hospedeiro. Dentre os genes ativados nessa fase, o ORF 65, que codifica um antígeno do capsídeo viral (SIMPSON *et al.*, 1996), e o ORF K8.1, que codifica uma glicoproteína do envelope viral (RAAB *et al.*, 1998), são atualmente utilizados nos exames sorológicos. Os vírus produzidos na fase

replicativa podem sair do reservatório linfóide e atingir as células endoteliais, fase importante na patogênese do SK (LUKAK *et al.*, 1999).

O HHV-8 apresenta, portanto, comportamento compatível com os outros vírus da família herpes, que se caracteriza pela capacidade de permanecer em estado de latência e de apresentar reativação e atividade clínica em situações de imunossupressão (ROIZMAN, 2001).

Atualmente existem seis subtipos identificados do HHV-8, que variam principalmente no gene K1, na região *open reading frame* (ORF) K1. Inicialmente, Zong *et al.* (1997), analisando as regiões ORF 26 e ORF 75 do HHV-8 obtido de lesões de SK, agruparam as amostras seqüenciadas em três subtipos: A, que predominaria em regiões com alta prevalência de SK clássico, e foi encontrado nas amostras de pacientes com aids dos Estados Unidos; B e C, que seriam mais prevalentes na África. Posteriormente, analisaram uma região altamente variável do genoma do vírus denominada ORF K1 e, através das variações encontradas, por análise filogenética foi possível identificar quatro subtipos virais, denominados A, B, C e D, que puderam ser subclassificados em 13 variantes. Os subtipos A e C foram encontrados na Europa, Ásia e Estados Unidos, com exceção do subtipo A5, que foi encontrado em amostras africanas; o subtipo B foi isolado de amostras provenientes da África e o subtipo D foi identificado a partir de amostras da Nova Zelândia e Polinésia (ZONG *et al.*, 1999). Cook *et al.* (1999), ao estudar amostras dos subtipos A, B e C, sugeriram que o subtipo B seria mais antigo filogeneticamente que os demais. O subtipo E foi isolado por Biggar *et al.* (2000) entre índios da Amazônia, nos quais foi considerado endêmico, e posteriormente foi identificado em populações indígenas provenientes do Equador (WHITBY *et al.*, 2004). Finalmente, o subtipo N foi identificado a partir de amostras obtidas na África do Sul (ALAGIOZOGLOU *et al.*, 2000). Apesar de poder ser classificado em diversos subtipos, a variabilidade genética do HHV-8 dentro de um único indivíduo é infreqüente, e a recombinação do vírus é muito rara (ZONG *et al.*, 2002).

No Brasil, os subtipos A, B e C foram os mais freqüentemente encontrados, além do subtipo E isolado de amostras de ameríndios. Caterino-de-Araujo (1998) analisou os subtipos de HHV-8 presentes em sete amostras teciduais de SK de indivíduos com aids de São Paulo, e os subtipos B e C foram predominantemente encontrados. Em ampla análise genotípica do HHV-8 encontrado em diferentes regiões geográficas do mundo, Zong *et al.* (2002) incluíram amostras de 3 pacientes com SK provenientes do Brasil, tendo encontrado os subtipos A e C. Nascimento *et al.* (2005), a partir de 60 biópsias de lesões de SK de 46 pacientes com diagnóstico de HIV-aids de São Paulo, pesquisaram por *nested-PCR* a presença de DNA do HHV-8. Foram seqüenciadas 37 amostras de 33 pacientes, que posteriormente foram submetidas a estudo filogenético para determinação do subtipo. O subtipo A foi encontrado em 48% dos pacientes, o subtipo B em 21% e o subtipo C em 30%. Não encontraram associação estatisticamente significativa entre grupo étnico e subtipo de HHV-8, porém houve maior freqüência do subtipo A entre indivíduos homossexuais ou bissexuais, e do subtipo C entre pacientes heterossexuais. Posteriormente, Cunha *et al.* (2005a) também realizaram pesquisa dos subtipos de HHV-8 em diferentes populações brasileiras. Detectaram seqüências de HHV-8 em 13 de 384 amostras de ameríndios da Amazônia, seis de 148 amostras de indivíduos com HIV de Salvador e 45,5% das amostras de um grupo de pacientes com SK de Campinas. Procederam então à amplificação das seqüências encontradas e determinação dos subtipos de HHV-8. Em pacientes com SK, foram detectados os subtipos A, B e C, sendo o subtipo C mais freqüentemente encontrado. Entre as amostras de ameríndios, os subtipos A e E foram encontrados. Entre os pacientes soropositivos para HIV de Salvador, foi detectado o subtipo B e um subtipo não-classificado. Ishak *et al.* (2007) amplificaram a região ORF 26 de 7 amostras obtidas na região amazônica, sendo 4 provenientes de populações indígenas e três de pacientes soropositivos para HIV. Foram encontrados os subtipos C e E entre as amostras indígenas e o subtipo B entre os pacientes soropositivos para HIV.

1.3 Transmissão

As formas de transmissão descritas para o HHV-8 incluem salivar, sexual, vertical, sanguínea e por transplante de órgãos (PICA; VOLPI, 2007).

A transmissão salivar tem sido considerada progressivamente mais importante, não apenas em áreas endêmicas, mas também entre grupos de alto risco para a aquisição do vírus (PICA; VOLPI, 2007).

Em crianças, a via salivar seria responsável pela transmissão, principalmente em populações de baixo nível socioeconômico. A expressão do HHV-8 na saliva de crianças na população de Uganda foi estudada, e demonstrou-se uma frequência de 43% de crianças com expressão salivar entre aquelas que possuíam sorologia positiva para o HHV-8, enquanto nas mães a expressão salivar foi detectada em apenas 27%. A detecção do HHV-8 na saliva foi associada à densidade populacional no domicílio, o que sugere transmissão salivar intradomiciliar (MBULAITEYE *et al.*, 2004). Em crianças provenientes de áreas com baixa prevalência do HHV-8 a transmissão horizontal também ocorre, porém é menos frequente que em áreas endêmicas (MARTRO *et al.*, 2004).

Wojcicki (2003) alerta para a necessidade de se levar em conta práticas tradicionais presentes em algumas culturas que envolvem uso de saliva, o que poderia potencializar a transmissão salivar de vírus como o HHV-8. Nas populações estudadas na África Sub-Sahariana, o autor destaca o uso de saliva em práticas relacionadas a cura, rituais ou iniciações, e práticas relacionadas à alimentação.

Em estudo realizado com uma população da Guiana Francesa onde o HHV-8 é endêmico, Plancoulaine *et al.* (2000) encontraram prevalência geral de 13,3% de anticorpos dirigidos ao HHV-8. Os autores estudaram correlações intrafamiliares na soropositividade para o HHV-8 e encontraram associações significantes na soropositividade entre mãe e filho e entre irmãos. Concluíram que nessa área endêmica o HHV-8 é transmitido principalmente

antes dos 15 anos, da mãe para o filho ou entre irmãos, provavelmente por via salivar. Posteriormente, os autores sugeriram a presença de um gene recessivo que conferiria susceptibilidade à infecção pelo HHV-8 nessa população da Guiana Francesa (PLANCOULAIN *et al.*, 2003). Ao estudarem outra população endêmica da África Central, os autores não encontraram relação entre os títulos de anticorpos dirigidos ao HHV-8 e o risco de transmissão de mãe para filho e entre irmãos (PLANCOULAIN *et al.*, 2004). No entanto, outros autores encontraram associação positiva entre altos títulos de anticorpos maternos e a probabilidade de transmissão do HHV-8 para o filho (SITAS *et al.*, 1999). A transmissão de mãe para filho por contato salivar foi também sugerida em estudo da população sul-africana. Nesse estudo, a presença de anticorpos dirigidos a antígenos líticos (K 8.1) na mãe, que sugeriria replicação e expressão viral, foi associada a maior risco de soropositividade nas crianças do que a presença de anticorpos dirigidos a antígenos latentes (MALOPE *et al.*, 2007).

A transmissão salivar é também considerada importante em grupos de risco para aquisição de outras infecções por via sexual. Em estudo realizado em homens que fazem sexo com homens, Pauk *et al.* (2000) investigaram a presença de DNA do HHV-8 por PCR em secreções orofaríngeas, amostras anais e uretrais de 27 pacientes com sorologia positiva para o HHV-8. O DNA do HHV-8 foi mais freqüentemente encontrado nas secreções da orofaringe; além disso, o número de cópias encontrado foi maior em comparação com as outras localizações. A pesquisa do DNA do HHV-8 foi positiva em 34% das amostras da orofaringe, e em apenas 0,3% das amostras uretrais e 1% das amostras anais. Os autores concluíram que contato com saliva é uma importante via de transmissão nessa população, porém ressaltaram que não é a única via implicada, já que o DNA do HHV-8 foi também detectado em amostras anais e uretrais de forma intermitente.

A transmissão sexual parece ser a via mais freqüente em homens que fazem sexo com homens (DUKERS *et al.*, 2003). A prevalência é maior entre estes do que entre heterossexuais do sexo masculino, e há associação entre positividade de anticorpos dirigidos ao HHV-8 e alguns marcadores de atividade sexual, como número de parceiros e duração da atividade sexual (MARTIN *et al.*, 1998; ENGELS *et al.*, 2007). Além disso, foi

encontrada associação estatisticamente significativa entre infecção pelo HHV-8 e outros vírus de transmissão predominantemente sexual, como o vírus da hepatite B e os vírus herpes simples tipos 1 e 2 (MARTIN *et al.*, 1998; ENGELS *et al.*, 2007). Em mulheres não foi encontrada associação entre marcadores de atividade sexual e infecção pelo HHV-8. As formas de transmissão sexual do HHV-8 são, no entanto, incertas, podendo ser dependentes de contato salivar através de sexo oral (ENGELS *et al.*, 2007).

Há evidência também de transmissão vertical do HHV-8, no entanto esse tema permanece controverso. Embora a detecção do HHV-8 em secreção cérvico-vaginal pudesse favorecer a hipótese de transmissão vertical (CALABRO *et al.*, 1999), essa possibilidade foi considerada bastante improvável em estudo que incluiu um grupo de mulheres infectadas pelo HIV. Nos casos onde houve transmissão de anticorpos dirigidos ao HHV-8 da mãe para o filho, houve negatização dos mesmos após 24 meses, o que sugeriria transmissão passiva de anticorpos da mãe para o filho e não infecção das crianças (CALABRO *et al.*, 2000). Alta carga viral de HHV-8 foi detectada em um recém-nascido de mãe soropositiva para HIV que apresentava expressão do HHV-8 em células mononucleares periféricas e secreção cérvico-vaginal. O subtipo do HHV-8 identificado na mãe e na criança foi o mesmo (C3), o que fala a favor da transmissão perinatal do HHV-8 (LISCO *et al.*, 2006).

A transmissão do HHV-8 por transfusão sanguínea foi demonstrada através do acompanhamento de indivíduos que receberam transfusões sanguíneas em Uganda. Indivíduos que receberam sangue soronegativo e soropositivo para o HHV-8 foram acompanhados. O risco de soroconversão entre os indivíduos que receberam sangue soropositivo foi de 2,8%. A aquisição do HHV-8 foi conseqüente à transfusão sanguínea em 12 indivíduos incluídos no estudo. O risco de aquisição do HHV-8 por transfusão sanguínea diminui com o tempo de armazenamento do sangue, como ocorre com outros herpesvírus (HLADIK *et al.*, 2006). A transmissão através de contato com sangue pelo uso de drogas intravenosas foi demonstrada (CANNON *et al.*, 2001).

O HHV-8 também pode ser transmitido por transplante (REGAMEY *et al.*, 1998; LUPPI *et al.*, 2003). A prevalência de anticorpos dirigidos ao HHV-8 entre um grupo de indivíduos

submetidos a transplante renal subiu de 6,4% antes do procedimento para 17,7% após, e houve associação entre soropositividade do doador e posterior soroconversão do receptor em 5 casos (REGAMEY *et al.*, 1998).

Outros meios de transmissão do HHV-8 foram sugeridos. A hipótese de que outros fluidos corporais como urina, sêmen, ou fezes poderiam ser veículos de transmissão foi aventada (CATTANI *et al.*, 1999). No Brasil, Santos-Fortuna e Caterino-de-Araujo (2005) realizaram pesquisa de DNA do HHV-8 por PCR na urina de 55 pacientes com SK e 18 pacientes soropositivos para HIV sem SK. Apenas 11% dos pacientes com SK apresentaram positividade, o que, segundo as autoras, poderia decorrer do fato de estarem sob terapia antiretroviral. Entre os indivíduos soropositivos para HIV sem SK, encontrou-se 28% de positividade, que poderia representar infecções recentes em indivíduos que ainda não teriam desenvolvido SK. A presença de partículas virais na urina poderia ter papel na transmissão do vírus em situações de condições sanitárias precárias.

1.4 Ensaaios laboratoriais

Os ensaios laboratoriais existentes para diagnóstico do HHV-8 em geral conseguem detectar, com sensibilidade e especificidade razoáveis, anticorpos nos indivíduos com SK, porém em portadores assintomáticos do vírus a concordância entre os testes é menor, os índices de sensibilidade e especificidade decrescem e, portanto, o diagnóstico torna-se mais difícil (MARTIN *et al.*, 2000). Não há, até o presente, definição do melhor teste para diagnóstico.

O fato de que nem todos os indivíduos infectados pelo HHV-8 expressam o DNA viral no sangue periférico (WHITBY *et al.*, 1995), associado à dificuldade em se obterem populações de fato positivas e negativas para teste de antígenos, colabora para a dificuldade na padronização de testes diagnósticos (MARTIN *et al.*, 2000; LANEY *et al.*, 2006). Em

geral, doadores de sangue provenientes de áreas de baixa prevalência são considerados controles negativos, e indivíduos com SK são considerados controles positivos.

Os primeiros testes utilizados para detecção de anticorpos dirigidos ao HHV-8 foram a imunofluorescência indireta (IFI) (GAO *et al.*, 1996b; SIMPSON *et al.*, 1996; LENETTE *et al.*, 1996) e o *immunoblotting* (GAO *et al.*, 1996a). As linhagens celulares atualmente utilizadas como substrato incluem células BCP-1, infectadas pelo HHV-8 de forma latente e não infectadas pelo EBV (vírus Epstein-Barr) (BOSHOF *et al.*, 1998), ou células da linhagem BCBL-1 (*body cavity-based lymphoma*), também infectadas pelo HHV-8 de forma latente e não infectadas pelo EBV, mas após tratamento com acetato de tetradecanoil-forbol-éster, algumas delas passam a expressar antígenos citoplasmáticos da fase lítica viral, enquanto outras mantêm a expressão de antígenos nucleares da fase latente (RENNE *et al.*, 1996). A depender da linhagem celular utilizada como substrato e da realização da indução de fase replicativa do vírus, a IFI pode ser realizada visando pesquisar anticorpos dirigidos a antígenos da fase latente (GAO *et al.*, 1996b; SIMPSON *et al.*, 1996; EDELMAN *et al.*, 2000), ou antígenos das fases latente e lítica (LENETTE *et al.*, 1996).

No Brasil, foi padronizado ensaio de imunofluorescência indireta “in house” para pesquisa de antígenos latentes (IFI-latente) e antígenos líticos (IFI-lítica). Utilizaram-se como substrato células BCBL-1 infectadas pelo HHV-8 para pesquisa de antígenos latentes, e foi realizada estimulação com o mitógeno forbol-éster para pesquisa de antígenos líticos. As sensibilidades encontradas para IFI-latente e IFI-lítica foram de 75% e 90,9% respectivamente, e as especificidades encontradas foram de 95,2% e 100% (CARBONE, 2002).

A imunofluorescência para antígenos latentes (IFI-latente), apesar de específica, pode apresentar sensibilidade variável em indivíduos infectados pelo HIV. Em pacientes com SK relacionado à aids, a sensibilidade da IFI-latente pode variar de 52% a 93% (SOUZA *et al.*, 2007). Além disso, as contagens de linfócitos T CD4+ podem afetar a sensibilidade da técnica. Em indivíduos com SK relacionado à aids e contagem de linfócitos T CD4+

menores que 100 células/mm³ há grande queda da sensibilidade da técnica, tendo sido também demonstrada soroconversão naqueles pacientes inicialmente negativos para o HHV-8 que tiveram aumento das contagens de linfócitos T CD4⁺ durante o acompanhamento. A sensibilidade da IFI-latente foi de 100% nos indivíduos com contagens de linfócitos T CD4⁺ superiores a 300 células/mm³ (SOUZA *et al.*, 2007).

Outros testes para diagnóstico incluem o ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*), que foi padronizado utilizando diversas proteínas do HHV-8: uma proteína recombinante do capsídeo viral (ORF 65) (SIMPSON *et al.*, 1996; EDELMAN *et al.*, 2000), uma glicoproteína de classe I do vírus denominada ORF K8.1 (ENGELS *et al.*, 2000), ou até antígenos nucleares latentes (LANA) (LANEY *et al.*, 2006). Outra técnica é a de *whole-virus* ELISA, que detecta IgG a antígenos estruturais e não estruturais do vírus obtidos a partir de lisado de células da linhagem KS-1 (CHATLYNNE *et al.*, 1998) ou da linhagem BCBL-1 (MARTIN *et al.*, 2000).

A pesquisa da presença de DNA viral por PCR em células mononucleares periféricas ou outros tecidos não resulta positiva em grande número de indivíduos infectados pelo HHV-8 (WHITBY *et al.*, 1995). A positividade do PCR em células mononucleares periféricas de indivíduos com SK é de apenas 40-50%, ou seja, sua baixa sensibilidade praticamente o exclui como técnica a ser empregada em estudos epidemiológicos de prevalência (SPIRA *et al.*, 2000).

Diversos estudos foram realizados para comparar os diferentes testes e determinar o nível de concordância entre eles. Rabkin *et al.* (1998) compararam seis técnicas sorológicas diferentes para determinação de anticorpos dirigidos ao HHV-8, e encontraram variação significativa entre os testes. Os autores concluíram que em populações assintomáticas com baixa prevalência do vírus essa variação poderia causar estimativas maiores ou menores do que a prevalência real de anticorpos na população. Os testes seriam adequados para estudos epidemiológicos, e não para aferir a infecção em um determinado indivíduo. SPIRA *et al.* (2000) compararam diversas técnicas sorológicas para detecção de anticorpos dirigidos ao

HHV-8, e concluíram que a IFI dirigida a antígenos líticos foi a mais sensível (97% de sensibilidade).

A comparação do desempenho de diferentes testes foi também realizada utilizando soros provenientes do Brasil. Nesse estudo, encontraram-se baixas sensibilidades e altas especificidades nos ensaios de IFI-latente, e o melhor desempenho foi encontrado com técnica “in-house” de *whole-virus* ELISA, atingindo-se sensibilidade de 87% e especificidade de 100% (NASCIMENTO *et al.*, 2007).

Alguns autores sugerem associações de testes ou outros algoritmos para aumentar os índices de sensibilidade e especificidade obtidos. Engels *et al.* (2000) avaliaram o desempenho de um teste de IFI e quatro testes de EIA (*enzyme-linked immunoassays*) na identificação de anticorpos dirigidos ao HHV-8, e concluíram que nenhum teste tinha sensibilidade superior a 90% isoladamente. Após testar combinações possíveis de testes, concluíram que a melhor associação seria EIA dirigido à glicoproteína K8.1, que representa teste para proteínas da fase lítica, e IFI dirigida a antígenos latentes. Os indivíduos seriam considerados positivos se obtivessem resultado positivo no EIA dirigido à glicoproteína K8.1, representado por densidade óptica (OD) maior que 2,0, ou resultado indeterminado nesse teste (OD entre 0,51 e 2,00) seguido por resultado positivo na IFI.

Posteriormente, foi sugerida a associação de dois ensaios de EIA, dirigidos à glicoproteína K8.1 e à proteína ORF 65, para rastreamento da infecção, seguidos pela IFI dirigida a antígenos líticos em casos duvidosos (SPIRA *et al.*, 2000). Casper *et al.* (2002) sugerem realização de *whole-virus* EIA seguido por IFI nos casos duvidosos ou indeterminados, nos quais a densidade óptica (OD) do EIA esteve entre 0,15 e 0,35. A associação com a IFI permitiu aumento da sensibilidade do teste para 88% e da especificidade para 97%.

Mais recentemente, Laney *et al.* (2006) desenvolveram um algoritmo para diagnóstico da infecção pelo HHV-8. Utilizaram três técnicas diferentes de ELISA, sendo uma baseada no antígeno lítico ORF 65, outra baseada no antígeno lítico K8.1 e uma terceira desenvolvida pelos autores baseada no antígeno nuclear latente. A associação das três técnicas permitiu

aos autores a criação de dois algoritmos com diferentes pontos de corte para a definição de resultado positivo e negativo, um que visava alta sensibilidade e outro que visava alta especificidade. Com a associação das técnicas os autores obtiveram sensibilidade de 95,6% e especificidade de 94% para o algoritmo que visava alta sensibilidade, e 93,3% de sensibilidade e 98% de especificidade para o algoritmo que visava alta especificidade.

1.5 Prevalência no Brasil

Estudos de prevalência de anticorpos dirigidos ao HHV-8 foram realizados no Brasil e foram encontradas algumas particularidades regionais. Na região norte, os estudos indicaram altos índices de prevalência, com início da infecção na infância e aumento com a idade; comportamento compatível com endemicidade da infecção nessa região. Na região sudeste, os estudos realizados apontam maiores prevalências em grupos populacionais expostos a fatores de risco específicos, como indivíduos infectados pelo HIV, homens que fazem sexo com homens ou bissexuais masculinos.

No primeiro estudo de prevalência do HHV-8 no Brasil, Zhang *et al.* (1998) compararam as prevalências encontradas em amostras de 267 indivíduos do Rio de Janeiro e Salvador com aquelas encontradas em amostras de 30 indivíduos do Colorado. Utilizaram técnica de imunofluorescência para pesquisa de anticorpos a antígenos latentes em células HBL-6 coinfetadas pelo HHV-8 e pelo EBV. No grupo brasileiro, encontraram 64% de prevalência de anticorpos dirigidos ao HHV-8 entre os pacientes com aids que apresentavam SK, 16% entre pacientes homossexuais soropositivos para HIV e 12% entre homossexuais HIV-negativos. Concluíram que a imunofluorescência poderia subestimar as prevalências de anticorpos dirigidos ao HHV-8 entre indivíduos com SK.

Caterino-de-Araujo *et al.* (1999) realizaram pesquisa de anticorpos a antígenos nucleares latentes em células BCP-1 infectadas pelo HHV-8 por imunofluorescência (IFI-latente). Realizaram estudo piloto em 162 indivíduos de São Paulo, sendo 81 soropositivos para

HIV e 81 doadores de sangue. Encontraram frequência de 16% de anticorpos dirigidos ao HHV-8 entre os pacientes soropositivos para HIV, sendo que entre homens que fazem sexo com homens e bissexuais a frequência foi de 30,4%, entre homens heterossexuais a frequência foi de 23,1% e entre mulheres a frequência foi de 7,8%. No grupo de doadores de sangue, encontraram 7,4% de positividade.

Caterino-de-Araujo *et al.* (2000) avaliaram a prevalência de anticorpos dirigidos ao HHV-8 em 493 indivíduos infectados pelo HIV do Instituto de Infectologia Emílio Ribas, São Paulo. A técnica utilizada foi de *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) que continha HHV-8 obtido de células da linhagem KS-1. A prevalência observada foi de 17,2%, e variou de 34,1% a 0% de acordo com o fator de risco para adquirir a infecção pelo HIV; maior prevalência foi encontrada em homens que fazem sexo com homens ou bissexuais. Os autores observaram uma baixa porcentagem de casos de SK entre os pacientes estudados (2%) e atribuíram esse resultado ao fato de estes estarem sob terapia anti-retroviral, o que teria uma ação de controle sobre a replicação do HHV-8. A inibição da replicação do HIV-1 obtida pela terapia anti-retroviral traria uma diminuição da proteína Tat, que regula a replicação do HHV-8.

Zago *et al.* (2000) analisaram amostras de 1044 pacientes de cinco populações distintas, por IFI-latente. Entre 747 doadores de sangue, a prevalência foi de 4,6%; entre 73 pacientes de serviço de emergência, obteve-se prevalência de 9,6%; entre 136 pacientes de clínica de DST (doenças sexualmente transmissíveis) soronegativos para o HIV, a prevalência foi de 3,7%; entre 48 pacientes de clínica de DST soropositivos para o HIV encontrou-se prevalência de 14,6% e, finalmente, entre 40 pacientes soropositivos para o HIV que apresentavam SK a prevalência foi de 60%. Os autores encontraram associação da sorologia positiva para HHV-8 com sexo masculino, orientação sexual, infecção por HBV (vírus da hepatite B) e presença de SK nos pacientes infectados pelo HIV. Nos demais pacientes não foi encontrada associação entre sorologia positiva para HHV-8 e os fatores de risco aferidos.

Em estudo realizado em clínicas de DST em Vitória e São Paulo, Keller *et al.* (2001) avaliaram a presença de anticorpos dirigidos ao HHV-8 por IFI-latente e PCR em 39 pacientes com SK e 27 pacientes soropositivos para o HIV sem SK. Por PCR, as prevalências encontradas foram de 74,4% nos pacientes com SK e 3,7% nos pacientes infectados pelo HIV sem SK. Por IFI, 79,5% dos pacientes com SK e 18,5% dos pacientes sem SK apresentaram resultados positivos, e quando foi utilizada IFI a antígenos líticos e latentes, obteve-se positividade em 97,8% dos pacientes com SK. Os autores concluíram que a PCR produziu menos resultados positivos que os ensaios sorológicos, e que a associação de diferentes métodos produziria melhores resultados na detecção dos pacientes soropositivos para HHV-8.

Na população de Belém-PA, foram estudados 497 indivíduos de 81 famílias de baixa renda. A sorologia foi realizada por um *kit* comercial de ELISA que continha HHV-8 obtido de células da linhagem KS-1. Encontrou-se prevalência de 16,3% nessa população, variando de 12% a 33,3% nos diferentes grupos etários. A maior prevalência foi encontrada nos indivíduos com idade acima de 50 anos (66,7%). Em crianças menores de 10 anos foi encontrada prevalência de 13,3%, o que sugere que muitas infecções ocorreram na infância por transmissão horizontal entre irmãos ou transmissão da mãe para o filho. O aumento progressivo dos índices de prevalência com a idade sugere endemidade da infecção na população estudada (FREITAS *et al.*, 2002).

Em amostra de 497 pacientes infectados pelo HIV de Santos-SP, foi realizada pesquisa de anticorpos dirigidos ao HHV-8 por IFI-latente e lítica, associado ao ELISA para detecção do antígeno ORF 65. Associações entre positividade de anticorpos dirigidos ao HHV-8 e outras infecções de transmissão sexual ou sanguínea (hepatites B e C, HTLV (*human T lymphotropic virus*) e sífilis) foram investigadas, mas não foram encontradas. A prevalência geral encontrada foi de 13,9%, tendo sido maior entre homens (18,7%) do que entre mulheres (7,8%). Entre os homens, foi encontrada maior prevalência naqueles que fazem sexo com homens (32,4%), porém não foi evidenciada associação entre práticas sexuais específicas e positividade para o HHV-8 (PIERROTTI *et al.*, 2005).

Para aferir a prevalência de anticorpos dirigidos ao HHV-8 em crianças nascidas de mães soropositivas para HIV em São Paulo, Caterino-de-Araujo e Cibella (2003) realizaram IFI para antígenos latentes e líticos do HHV-8. Estudaram amostras de 108 crianças, das quais 57 eram soropositivas para HIV, 24 apresentavam resultado sorológico indeterminado para o HIV e 29 eram HIV-negativas. Não foram encontrados resultados positivos por IFI-latente, porém foram encontrados resultados positivos por IFI para antígenos líticos, o que se justificaria pelo estímulo de replicação do HHV-8 promovido pelo HIV, através da mudança da fase latente para a fase lítica. Anticorpos dirigidos a antígenos da fase lítica foram encontrados em 7,4% das crianças, ocorrendo apenas entre as soropositivas para HIV ou com sorologia indeterminada para HIV. As autoras questionaram se os anticorpos encontrados representavam anticorpos maternos ou infecção aguda nas crianças. Posteriormente, Machado *et al.* (2005) avaliaram a prevalência de anticorpos dirigidos ao HHV-8 em 99 crianças nascidas de mães soropositivas para HIV por IFI dirigida a antígenos latentes e líticos. Entre as crianças, 49 eram soropositivas para HIV. A prevalência encontrada foi de 5%, com positividade apenas de anticorpos dirigidos a antígenos líticos.

Souza *et al.* (2004) avaliaram a frequência de anticorpos dirigidos ao HHV-8 em 643 crianças e adultos jovens HIV-negativos, sem comorbidades, do Estado de São Paulo, por IFI-latente e IFI-lítica. Foi encontrada frequência de 1,0% a 4,1% nos diferentes grupos etários. Além disso, avaliaram indivíduos com risco de adquirir doenças sexualmente transmissíveis, 95 homens que fazem sexo com homens, 130 indivíduos soropositivos para HIV sem SK e 78 pacientes com aids e SK. Foram encontradas frequências de 21,1%, 34,6% e 97,4%, respectivamente. Ainda em relação à população pediátrica, Avelleira *et al.* (2006) avaliaram a prevalência de anticorpos dirigidos ao HHV-8 por imunofluorescência indireta e *Western blotting* em 171 crianças do Rio de Janeiro, sendo 13 delas soropositivas para HIV. Observaram prevalência de 7,6% entre as crianças HIV-negativas, e 30,7% entre as crianças soropositivas para HIV. Encontraram prevalência significativamente maior entre as crianças do sexo feminino. Os autores apontaram para a importância de uma forma de transmissão não-sexual, possivelmente salivar, de mãe para filho ou entre irmãos, que justificaria a prevalência encontrada em crianças.

Entre mulheres, as prevalências são em geral inferiores às encontradas nos homens, com exceção de populações endêmicas, nas quais as prevalências são semelhantes em ambos os sexos. Estudo entre mulheres de São Paulo, que avaliou anticorpos a antígenos latentes e líticos do HHV-8 por IFI e *Western blotting*, testou 163 mulheres soropositivas para HIV e 630 mulheres HIV-negativas; encontraram-se anticorpos dirigidos ao HHV-8 em 8,6% das mulheres soropositivas para HIV e em 1,3% das mulheres HIV-negativas. Nas mulheres soropositivas para HIV, houve maior frequência de anticorpos dirigidos a antígenos líticos, enquanto nas HIV-negativas os anticorpos dirigidos a antígenos latentes foram mais frequentemente encontrados (CATERINO-DE-ARAUJO *et al.*, 2003). Especificamente em mulheres profissionais do sexo, foi encontrada prevalência de 6,7% de anticorpos dirigidos ao HHV-8, tendo sido observada maior frequência de anticorpos dirigidos a antígenos latentes (CATERINO-DE-ARAUJO *et al.*, 2007).

Estudos realizados entre doadores de sangue foram importantes no sentido de aferir um possível risco de transmissão do HHV-8 por transfusões. Ferreira *et al.* (2003) analisaram amostras de 400 doadores de sangue de São Paulo por imunofluorescência a antígenos latentes e líticos. Encontraram 4% de positividade de anticorpos a antígenos latentes ou líticos, e 0,5% de positividade a ambos os antígenos. Houve associação estatisticamente significativa entre sorologia positiva e sexo feminino. Os autores analisaram então por PCR a presença do DNA do HHV-8, e encontraram apenas uma amostra positiva. Concluíram, a partir da prevalência encontrada, que a transmissão do HHV-8 por transfusão sanguínea seria provável nessa população. Entre 2470 doadores de sangue de diferentes regiões da América Latina, Perez *et al.* (2004) encontraram prevalência de 3,7%, tendo realizado a pesquisa de anticorpos dirigidos ao HHV-8 por IFI contra antígenos latentes e líticos. Entre essas amostras havia 319 soros coletados no Brasil (Campinas-SP), e encontrou-se 3,8% de positividade. Todos os casos positivos do Brasil correspondiam a indivíduos do sexo masculino.

A prevalência de anticorpos dirigidos ao HHV-8 apresenta algumas particularidades em populações onde a infecção é endêmica. Nessas populações, são encontrados altos índices

de prevalência entre crianças, com possível transmissão salivar da mãe para o filho ou entre irmãos (PLANCOULAIN *et al.* 2000; MBULAITEYE *et al.*, 2004). Há então um aumento linear da prevalência nos grupos etários subseqüentes, devido ao fato da transmissão ocorrer de forma contínua (OLSEN *et al.*, 1998). A partir da adolescência a transmissão se daria predominantemente por contato sexual, e as novas infecções contribuiriam para o aumento observado da prevalência entre os grupos etários (ISHAK *et al.*, 2007).

1.6 Interações HHV-8/HIV

As interações entre o HIV e o HHV-8 são complexas e não estão completamente elucidadas. O HIV afeta o HHV-8 através de diferentes mecanismos, que predisõem a transformação de infecção sub-clínica pelo HHV-8 em SK. A proteína Tat do HIV estimula o crescimento de células de SK de pacientes com aids (ENSOLI *et al.*, 1990) e pode facilitar a entrada do HHV-8 em células endoteliais, aumentando assim sua infectividade (AOKI; TOSATO, 2004). A proteína Tat do HIV estimula a replicação do HHV-8 (HARRINGTON *et al.*, 1997) através da via JAK (*Janus kinase*)/STAT (*signal transducer and activation of transcription*) (ZENG *et al.*, 2007). O HIV também pode estimular o crescimento lítico do HHV-8 através de citocinas inflamatórias, como a oncostatina M, fator de crescimento de hepatócitos (HGF/SF) e interferon-gama (MERCADER *et al.*, 2000). Como consequência da interação do HHV-8 com o HIV, o comportamento do SK relacionado à aids é mais agressivo e resistente do que outras formas de SK (STRATHDEE *et al.*, 1996).

O HHV-8 também pode, por sua vez, influenciar o HIV. O HHV-8 estimula a replicação do HIV em células agudamente infectadas e sua reativação em células cronicamente infectadas (CASELLI *et al.*, 2005). O antígeno LANA do HHV-8 pode interagir com a proteína Tat e ativar o *long terminal repeat* (LTR) do HIV, podendo assim aumentar os níveis de HIV em indivíduos coinfectados (HYUN *et al.*, 2001). Além disso, foi demonstrado sinergismo

entre o gene ORF 50 da fase lítica do HHV-8 e a proteína Tat do HIV, levando à ativação do LTR e a um aumento da susceptibilidade celular ao HIV (CASELLI *et al.*, 2003).

Outro fator que influencia o prognóstico dos pacientes coinfectados por HHV-8 e HIV é a ordem em que as duas infecções foram adquiridas. A incidência de SK é maior em pessoas que se soroconvertem para o HHV-8 depois do HIV. Renwick *et al.* (1998) demonstraram, através de estudo retrospectivo, que indivíduos coinfectados desde o início do acompanhamento tiveram risco relativo de 3,15 de desenvolver SK, enquanto aqueles que se soroconverteram para HHV-8 depois do HIV tiveram risco de 5,04, o que representa risco adicional de 1,6.

2. OBJETIVOS

2.1 Gerais

1. Avaliar os índices de prevalência de anticorpos dirigidos ao HHV-8 em uma coorte de indivíduos recém-infectados pelo HIV, e sua incidência após um ano de acompanhamento.

2.2 Específicos

1. Investigar características demográficas e epidemiológicas dos indivíduos da coorte de acordo com seu estado sorológico para o HHV-8.
2. Investigar associações e correlações clínicas entre positividade para HHV-8 e outras co-infecções, como hepatite B, sífilis, herpes simples tipo 2.
3. Investigar o efeito da positividade para o HHV-8 sobre a contagem de linfócitos T CD4+ e a carga viral do HIV durante o acompanhamento.

3. DESENVOLVIMENTO- ARTIGO

Title**High Human Herpesvirus 8 (HHV-8) Prevalence, Clinical Correlates and High Incidence among Recently HIV-1-Infected Subjects in Sao Paulo, Brazil**

Suggested authors and order: Mariana Dias Batista^{1,2}, Suzete Ferreira³, Mariana M. Sauer¹, Helena Tomiyama¹, Maria Teresa Maidana Giret¹, Cláudio S. Pannuti⁴, Ricardo S. Diaz¹, Ester C. Sabino³, Esper G. Kallas^{1,5}

¹ Infectious Diseases Division, Federal University of São Paulo, São Paulo, Brazil

² Department of Dermatology, Federal University of São Paulo, São Paulo, Brazil

³ Fundação Pró-Sangue, Hemocentro, São Paulo, Brazil

⁴ Instituto de Medicina Tropical, University of São Paulo, Brazil

⁵ Division of Clinical Immunology and Allergy, University of São Paulo, Brazil

***Corresponding author**

Esper Georges Kallas, M.D., Ph.D.

Universidade de São Paulo, Laboratório de Investigação Médica 60

Av. Dr. Arnaldo 455, terceiro andar

São Paulo, SP 01246-903

Phone: (+55-11) 3061-8395

Fax: (+55-11) 3061-8392

E-mail: esper.kallas@gmail.com

Key words: HIV-1; HHV-8; co-infection; risk factors, recent infection; sexually transmitted infections.

Running title: HHV-8 in recent HIV infection (30 characters with spaces)

Funding: This study was supported with funding from the Brazilian Program for STD and aids, Ministry of Health (914/BRA/3014-UNESCO/Kallas), the São Paulo City Health

Department (2004-0.168.922-7/Kallas), and the Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (04/15856-9/Diaz, Sabino & Kallas). M.T.M.G. and M.M.S. were supported by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Brazilian Ministry of Education.

Word count (excluding face pages, abstract, and references): 2103 words.

Conflicts of interest: The authors have no competing conflicts of interest to declare.

Abstract

Background: Human herpesvirus 8 (HHV-8) is the etiological agent for Kaposi's sarcoma, which occurs especially in HIV-infected subjects. HHV-8 infection and its clinical correlates have not been well characterized in recently HIV-1-infected individuals.

Methodology/ Principal Findings: We assessed the HHV-8 seroprevalence, clinical correlates, and incidence after one year of follow-up in a cohort of 228 recently HIV-1-infected individuals using indirect immunofluorescence assay. The prevalence of HHV-8 infection at the time of cohort enrollment was 25.9% (59/228). In the univariate model, there were significant associations with male gender ($p=0.05$), black ethnicity ($p=0.021$), men who have sex with men (MSM) practice ($p=0.023$), and previous hepatitis B virus ($p=0.009$) and syphilis ($p=0.034$) infections. In the multivariate model we could still demonstrate association with MSM, hepatitis B, and black ethnicity. No differences in mean CD4⁺ cell counts or HIV viral load according to HHV-8 status were found. In terms of incidence, there were 23/127 (18.1%) seroconversions in the cohort after 1 year.

Conclusions: HHV-8 is highly prevalent among recently HIV-1-infected subjects. Correlations with other sexually transmitted infections suggest common transmission routes.

Introduction

Human herpesvirus-8 (HHV-8) infection is not always associated with clinical manifestations [1]. Nonetheless, when these manifestations do occur, they can have a profound impact over quality of life [2]. Kaposi's sarcoma (KS) and other consequences of HHV-8 are much more likely to arise in immunosuppressed subjects, especially those HIV-infected. Therefore, studies of prevalence of HHV-8 among HIV-infected patients are of prime importance, as they can help estimate the risks of future co-infection-derived complications [3].

HIV affects HHV-8 through different mechanisms. It is debatable whether HIV Tat [4], inflammatory cytokines released during HIV infection [5], or immunosuppression itself are the main co-factors for the development of KS, but HIV has an unquestionable predisposing effect for the conversion from asymptomatic HHV-8 infection into clinical manifestations. Besides, AIDS-KS is more aggressive and resistant to treatment than other forms of KS [6]. HIV Tat activates lytic cycle replication of HHV-8, via JAK/STAT signaling [7], or by induction of HHV-8 Rta [8].

Co-infections also have several effects on the course and progression of HIV. In this regard, the effects of HHV-8 infection over HIV natural history are complex and still not entirely elucidated [9]. Certain specific HHV-8 antigens such as LANA (latency-associated nuclear antigen) can activate HIV [10], and ORF 50, a lytic cycle gene, interacts with HIV Tat leading to increased cell susceptibility to HIV infection [11,12]. HHV-8 stimulates HIV replication in acutely infected cells as well as reactivation in chronically infected cells [9].

Lastly, the order and timing in which these two infections occur can have prognostic implications. KS incidence is increased in people who seroconvert to HHV-8 after HIV, with hazard ratios of 2.55 [13] to 5.04 [3] and an additional risk of 1.6 in relation to HIV-infected persons who were previously infected by HHV-8 [3].

Little is known about the prevalence and clinical correlates of HHV-8 infection among recently HIV-infected individuals. We studied these characteristics among 228 recently HIV-infected individuals recruited in Sao Paulo, Brazil. In addition, we investigated the impact of HHV-8 co-infection over CD4⁺ T cell count and HIV-viral load. Finally, we examined the incidence of new HHV-8 seroconversions in this cohort after 1-year of follow-up.

Methods

Ethics Statement

This research obtained approval by the Ethics Committee and the Institutional Review Board of the Federal University of Sao Paulo (approval number 0919/01) and patients provided informed consent.

Cohort description and laboratory measures

This study was performed in a cohort investigation that started recruiting recently HIV-infected people in 2002 in Sao Paulo, Brazil, aiming at the identification of host factors that contribute to progression to immunodeficiency [14,15]. Recent HIV infection was determined by the Serologic Testing Algorithm for Recent HIV Seroconversion (STARHS), and individuals were included in the study when they had a negative desensitized ELISA HIV-test, that could indicate an incomplete antibody response as a consequence of recent HIV infection [15]. There were 237 volunteers initially included in the cohort, but 9 were excluded due to the presence of aids-defining conditions, representing false-positive STARHS indication of recent infection. As a result, 228 volunteers were prospectively followed in the cohort. Individuals were followed until the start of treatment, which happened when the CD4⁺ T cell count dropped below 300 cells/mm³ or aids-defining conditions developed.

Data on gender, age, ethnicity and mode of transmission were collected. We examined CD4⁺ and CD8⁺ T cell counts and plasma HIV-1 RNA copies/ml at the initial and subsequent visits. CD4⁺ and CD8⁺ T cell counts were performed using a lymphocyte marking technique with anti- CD3, CD4 and CD8 conjugated monoclonal antibodies (Kit TriTest, BD Biosciences, San Diego, California, USA). The plasma RNA measurements were performed using a Amplicor HIV-1 Monitor test, version 1.5 (Roche Diagnostics, Indianapolis, IN, USA) until January 2007, and was then subsequently replaced by the bDNA (branched DNA) (Versant® - bDNA HIV-1 RNA 3.0 ASSAY, Bayer Health Care LLC Tarrytown, NY). All individuals in the cohort were tested for herpes simplex types 1

and 2, hepatitis B, C and G by indirect ELISA (GBC ELISA provided by Dietmar Zdunek, Roche Diagnostics, Germany; HSV-2 ELISA Diasorin, Saluggia, Italy), syphilis (MHA-Tp and FTA-abs), CMV (cytomegalovirus), EBV (Epstein-Barr virus), toxoplasmosis (Diasorin, Saluggia, Italy). We also recorded the time to start of antiretroviral treatment. HHV-8 serology was performed retrospectively, with samples collected in the first visit and after 1 year of follow-up. Table 1 summarizes cohort epidemiological and demographic data.

Antibodies to latent and lytic HHV-8 antigens were detected through an indirect immunofluorescence assay (IFA) based on the BCBL-1 cell line [16,17]. Cells were grown in RPMI 1640 (Gibco BRL) supplemented with 10% fetal calf serum, antibiotics (penicillin and streptomycin), and amphotericin B. Cell cultures were then washed three times with phosphate buffered saline (PBS), resuspended in PBS and 10 μ L of the suspension was smeared onto slides, with a concentration of 10×10^6 cells/ml. The slides were air-dried and fixed for subsequent incubation for 30 minutes at 37°C with the test serum diluted at 1:80 and a goat anti-human antibody fluorescein isothiocyanate-conjugate (Sigma 1:100 in PBS/ Evans blue milk 0.01 mg/ml); the slides were then washed and dried. Punctuate nuclear staining was considered positive for antibodies against LANA in untreated cells. For induction of lytic replication, cells were treated with tetradecanoyl-phorbol ester acetate. Whole cell fluorescence in more than 20% of cells was considered positive for lytic antigens. Two researchers read the slides independently, and indeterminate results were repeated twice.

Statistical Analyses

Statistical analyses were performed using SPSS 16 software (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA), with a minimum significance level of $p=0.05$. Initially, we performed a descriptive analysis of demographic and laboratory results. Differences between groups by HHV-8 status were analyzed using Chi-Square or Fisher's Exact Test. Multivariate analyses were performed by logistic regression, with inclusion of variables with $p \leq 0.05$, and analysis by Hosmer and Lemeshow Test. We used the Mann-Whitney U-Test to compare differences in

continuous variables. Besides, CD4+ T cell count and HIV viral load were also analyzed as categorical variables using the median values to define groups. The survival analysis was performed through a Kaplan-Meier curve with CD4+ T cell count ≤ 350 cells/mm³ as the main outcome. We used the log-rank test to compare differences in the Kaplan Meier survival functions according to HHV-8 status.

Results

The overall prevalence of antibodies against HHV-8 in the cohort was 25.9% (59/228). Of those 59 seropositives, 12 (20.3%) subjects were positive for latent and lytic antibodies concomitantly, 14 (23.7%) positive for LANA antibodies only, and 33 (55.9%) for lytic antibodies only. In the univariate analysis, described in Table 2, we were able to find correlations of HHV-8 infection with male gender (27.5% male HHV-8+ vs. 9.5% female HHV-8+, $p=0.05$), MSM practice (28.7% MSM HHV-8+ vs. 10.8% heterosexuals HHV-8+, $p=0.023$), previous hepatitis B (anti-hepatitis B core antibody) (19.7% anti-HBc-/HHV-8+ vs. 36.3% anti HBc+/HHV-8+, $p=0.009$), syphilis infection (MHA-Tp and FTA-ABS) (23.5% syphilis-/HHV-8+ vs. 40% syphilis+/HHV-8+, $p=0.034$), and black ethnicity (52.9% black/HHV-8+ vs. 29.5% mixed/HHV-8+ vs. 19.4% white/HHV-8+, $p=0.021$).

We then compared the median age using the Mann-Whitney test and could not detect differences between the HHV-8 seronegative and seropositive groups (median=31 in both groups, $p=0.836$), nor did we find differences among the median CD4+ T cell counts and viral load values between the two groups in any of the follow-up visits (table 3). Antiretroviral treatment was not initiated more frequently in relation to HHV-8 status (24.9% treatment negative/HHV-8+ vs. 29.1% treatment+/HHV-8+, $p=0.3$), and the median time until the start of antiretroviral treatment did not vary between the two groups (median time to treatment in HHV-8 negative= 421 days vs. 405 days in HHV-8+, $p=0.9$). In a Kaplan-Meier survival analysis comparing HHV-8 positive and negative individuals with CD4+ T cell count ≤ 350 cells/mm³ as main outcome, there was no difference between groups by the log-rank test (Figure 1). In the multivariate analysis, we could still demonstrate association between HHV-8 status and MSM exposure, hepatitis B and black ethnicity (Table 2).

We repeated the HHV-8 serology after 1-year follow-up in 127 of the 169 initially HHV-8-negative individuals. There were 23/127 (18.1%) seroconversions in the cohort after one year. The 23 subjects who seroconverted after 1-year did not differ from the 59 HHV-8+ at the initial visit. In relation to the subjects who remained negative after one year of follow-

up, the only statistically significant difference was observed in the time until start of antiretroviral treatment (median time to treatment in HHV-8 negative subjects 245 vs. 573 days in HHV-8+, $p=0.045$). However, due to the fact that only 35 individuals initiated treatment among the 127 tested after one year of follow-up, this finding was not taken into further consideration.

Discussion

In this work, we found a significant proportion of recently HIV-infected individuals who are seropositive for HHV-8 (25.9% overall; 28.7% among MSM), which was consistent with reported rates in HIV-1-infected subjects in Brazil, ranging from 14.6 to 18.7%, although higher among MSM (30.4 to 32.4%) [18,19,20]. An also high prevalence (32%) has been found in a group of recently HIV-1-infected military members in the US [21]. Of notice, we observed a correlation between HHV-8 and markers of sexual activity, such as hepatitis B and syphilis. This provides additional evidence for the hypothesis that risk behaviors associated with HIV-1 and other sexually transmitted infections (STIs) can also increase the probability for HHV-8 acquisition [21]. Other studies have shown an association between HHV-8 and STIs, especially among MSM [22,23,24]. HHV-8 acquisition has been associated with multiple sex partners in both MSM and heterosexuals, and practices involving saliva are thought to increase transmission, accounting for differences in incidence of HHV-8 and HIV [25].

In addition, we were able to detect an association between black ethnicity and HHV-8 in this cohort of recently HIV-infected individuals. In fact, previous reports have described such association between black ethnicity and HHV-8 in women [26,27]. Although one study has found an association between black ethnicity and protection against HHV-8 infection in men, this was only observed among heterosexuals [21], different from the present cohort, predominantly constituted by MSM. The explanations for the difference in association between black ethnicity and HHV-8 according to sexual orientation are unclear and could again involve specific sexual practices [25].

The finding of 23/127 seroconversions after one year of follow-up could indicate ongoing exposure of individuals after HIV infection. HIV-infected subjects are at higher risk for HHV-8 seroconversion, and incident HHV-8 infection has been associated with older age and multiple sexual partners, as well as orogenital sexual practice and recreational drug use [28]. Incident HSV-2 infection has been previously assessed in 47 individuals from the cohort, with a total of 10 (21.2%) seroconversions [29]. The presence of incident co-

infections supports the fact that HSV-2 and HHV-8 share common transmission routes in HIV-infected persons. Besides, individuals who seroconverted to HHV-8 after HIV are at a greater risk of subsequent development of KS [3,13]. The lack of correlation between HHV-8 infection and other infections that are not transmitted via sexual contact, such as toxoplasmosis, could also add to the theory that in this specific group of patients sexual transmission is significant.

Conversely, the lack of short term repercussion of HHV-8 infection over CD4⁺ T cell counts and plasma HIV viral load during the observed follow-up period is in accordance with previous evidence that HHV-8 has little influence on the progression of HIV in initially asymptomatic individuals [30]. Indeed, we found that HHV-8 serostatus was not associated with the need for antiretroviral treatment, nor with a shorter time until the initiation of antiretroviral treatment.

HHV-8 serology was performed by immunofluorescence assays against latent and lytic HHV-8 antigens. The association of assays against latent and lytic antigens is preferred for asymptomatic populations [31]. Immunofluorescence assays for latent phase antibodies can have sensitivities ranging from 52 to 93%, yet these values can be affected by low CD4⁺ T cell counts, especially under 100 cells/ml [32]. In this regard, most individuals in this cohort had higher CD4⁺ T cell counts, as a result of their recent HIV infection. The association of immunofluorescence for lytic phase antibodies helped diminish this limitation. Although K8.1 EIA would have further increased sensitivity, it could also decrease specificity [33]. To add evidence to the aforementioned activating effect of HIV on HHV-8 replication [4,5], we found that 45/59 (76.3%) of HHV-8-positive individuals had lytic phase antibodies.

In conclusion, HHV-8 infection is highly prevalent among recently HIV-infected individuals. Significant associations with sexually transmitted infections such as hepatitis B and syphilis add evidence to the theory of a common transmission route. The finding of a high incidence rate within the first year of follow-up of this cohort points to an ongoing

exposure behavior after HIV acquisition. Safer sexual practices must be recommended to decrease risks associated with co-infection.

References

1. Casper C, Krantz E, Selke S, Kuntz SR, Wang J, et al. (2007) Frequent and asymptomatic oropharyngeal shedding of human herpesvirus 8 among immunocompetent men. *J Infect Dis* 195: 30-36.
2. Harris AH, Osborne RH, Streeton CL, McNeil H (2002) Quality of life and Kaposi sarcoma: using preference techniques to value the health gains from treatment. *Support Care Cancer* 10: 486-493.
3. Renwick N, Halaby T, Weverling GJ, Dukers NH, Simpson GR, et al. (1998) Seroconversion for human herpesvirus 8 during HIV infection is highly predictive of Kaposi's sarcoma. *aids* 12: 2481-2488.
4. Ensoli B, Barillari G, Salahuddin SZ, Gallo RC, Wong-Staal F (1990) Tat protein of HIV-1 stimulates growth of cells derived from Kaposi's sarcoma lesions of aids patients. *Nature* 345: 84-86.
5. Mercader M, Taddeo B, Panella JR, Chandran B, Nickoloff BJ, et al. (2000) Induction of HHV-8 lytic cycle replication by inflammatory cytokines produced by HIV-1-infected T cells. *Am J Pathol* 156: 1961-1971.
6. Strathdee SA, Veugelers PJ, Moore PS (1996) The epidemiology of HIV-associated Kaposi's sarcoma: the unraveling mystery. *aids* 10 Suppl A: S51-57.
7. Zeng Y, Zhang X, Huang Z, Cheng L, Yao S, et al. (2007) Intracellular Tat of human immunodeficiency virus type 1 activates lytic cycle replication of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus: role of JAK/STAT signaling. *J Virol* 81: 2401-2417.
8. Varthakavi V, Smith RM, Deng H, Sun R, Spearman P (2002) Human immunodeficiency virus type-1 activates lytic cycle replication of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus through induction of KSHV Rta. *Virology* 297: 270-280.
9. Caselli E, Galvan M, Cassai E, Caruso A, Sighinolfi L, et al. (2005) Human herpesvirus 8 enhances human immunodeficiency virus replication in acutely infected cells and induces reactivation in latently infected cells. *Blood* 106: 2790-2797.
10. Hyun TS, Subramanian C, Cotter MA, 2nd, Thomas RA, Robertson ES (2001) Latency-associated nuclear antigen encoded by Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus interacts with Tat and activates the long terminal repeat of human immunodeficiency virus type 1 in human cells. *J Virol* 75: 8761-8771.
11. Caselli E, Galvan M, Santoni F, Rotola A, Caruso A, et al. (2003) Human herpesvirus-8 (Kaposi's sarcoma-associated virus) ORF50 increases in vitro cell susceptibility to human immunodeficiency virus type 1 infection. *J Gen Virol* 84: 1123-1131.
12. Caselli E, Menegazzi P, Bracci A, Galvan M, Cassai E, et al. (2001) Human herpesvirus-8 (Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus) ORF50 interacts synergistically with the tat gene product in transactivating the human immunodeficiency virus type 1 LTR. *J Gen Virol* 82: 1965-1970.
13. Jacobson LP, Jenkins FJ, Springer G, Munoz A, Shah KV, et al. (2000) Interaction of human immunodeficiency virus type 1 and human herpesvirus type 8 infections on the incidence of Kaposi's sarcoma. *J Infect Dis* 181: 1940-1949.
14. Bassichetto KC, Bergamaschi DP, Oliveira SM, Deienno MC, Bortolato R, et al. (2008) Elevated risk for HIV-1 infection in adolescents and young adults in Sao Paulo, Brazil. *PLoS ONE* 3: e1423.

15. Kallas EG, Bassichetto KC, Oliveira SM, Goldenberg I, Bortoloto R, et al. (2004) Establishment of the serologic testing algorithm for recent human immunodeficiency virus (HIV) seroconversion (STARHS) strategy in the city of Sao Paulo, Brazil. *Braz J Infect Dis* 8: 399-406.
16. Gao SJ, Kingsley L, Li M, Zheng W, Parravicini C, et al. (1996) KSHV antibodies among Americans, Italians and Ugandans with and without Kaposi's sarcoma. *Nat Med* 2: 925-928.
17. Lennette ET, Blackbourn DJ, Levy JA (1996) Antibodies to human herpesvirus type 8 in the general population and in Kaposi's sarcoma patients. *Lancet* 348: 858-861.
18. Caterino-de-Araujo A, Calabro ML, de los Santos-Fortuna E, Suleiman J, Chieco-Bianchi L (1999) Searching for human herpesvirus 8 antibodies in serum samples from patients infected with human immunodeficiency virus type 1 and blood donors from Sao Paulo, Brazil. *J Infect Dis* 179: 1591-1592.
19. Zago A, Bourboulia D, Viana MC, Collandre H, Dietze R, et al. (2000) Seroprevalence of human herpesvirus 8 and its association with Kaposi sarcoma in Brazil. *Sex Transm Dis* 27: 468-472.
20. Pierrotti LC, Etzel A, Sumita LM, Braga PE, Eluf-Neto J, et al. (2005) Human herpesvirus 8 (HHV-8) infection in HIV/aids patients from Santos, Brazil: seroprevalence and associated factors. *Sex Transm Dis* 32: 57-63.
21. Crum NF, Wallace MR, Stephan K, Blazes DL, Aronson N, et al. (2003) Correlates of human herpesvirus-8 seropositivity among U.S. military members recently infected with human immunodeficiency virus. *Sex Transm Dis* 30: 713-718.
22. Smith NA, Sabin CA, Gopal R, Bourboulia D, Labbet W, et al. (1999) Serologic evidence of human herpesvirus 8 transmission by homosexual but not heterosexual sex. *J Infect Dis* 180: 600-606.
23. Casper C, Wald A, Pauk J, Tabet SR, Corey L, et al. (2002) Correlates of prevalent and incident Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus infection in men who have sex with men. *J Infect Dis* 185: 990-993.
24. Diamond C, Thiede H, Perdue T, MacKellar D, Valleroy LA, et al. (2001) Seroepidemiology of human herpesvirus 8 among young men who have sex with men. *Sex Transm Dis* 28: 176-183.
25. Giuliani M, Cordiali-Fei P, Castilletti C, Di Carlo A, Palamara G, et al. (2007) Incidence of human herpesvirus 8 (HHV-8) infection among HIV-uninfected individuals at high risk for sexually transmitted infections. *BMC Infect Dis* 7: 143.
26. Cannon MJ, Dollard SC, Smith DK, Klein RS, Schuman P, et al. (2001) Blood-borne and sexual transmission of human herpesvirus 8 in women with or at risk for human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med* 344: 637-643.
27. Greenblatt RM, Jacobson LP, Levine AM, Melnick S, Anastos K, et al. (2001) Human herpesvirus 8 infection and Kaposi's sarcoma among human immunodeficiency virus-infected and -uninfected women. *J Infect Dis* 183: 1130-1134.
28. Dukers NH, Renwick N, Prins M, Geskus RB, Schulz TF, et al. (2000) Risk factors for human herpesvirus 8 seropositivity and seroconversion in a cohort of homosexual men. *Am J Epidemiol* 151: 213-224.
29. Barbour JD, Sauer MM, Sharp ER, Garrison KE, Long BR, et al. (2007) HIV-1/HSV-2 co-infected adults in early HIV-1 infection have elevated CD4+ T cell counts. *PLoS ONE* 2: e1080.

30. Ait-Arkoub Z, Robert-Visse C, Calvez V, Costagliola D, Autran B, et al. (2003) No influence of human herpesvirus 8 infection on the progression of HIV-1 infection in initially asymptomatic patients. *aids* 17: 1394-1396.
31. Biggar RJ, Engels EA, Whitby D, Kedes DH, Goedert JJ (2003) Antibody reactivity to latent and lytic antigens to human herpesvirus-8 in longitudinally followed homosexual men. *J Infect Dis* 187: 12-18.
32. de Souza VA, Pierrotti LC, Sumita LM, Freire WS, Segurado AA, et al. (2007) Seroreactivity to Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (human herpesvirus 8) latent nuclear antigen in aids-associated Kaposi's sarcoma patients depends on CD4+ T-cell count. *J Med Virol* 79: 1562-1568.
33. Nascimento MC, de Souza VA, Sumita LM, Freire W, Munoz F, et al. (2007) Comparative study of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus serological assays using clinically and serologically defined reference standards and latent class analysis. *J Clin Microbiol* 45: 715-720.

Table 1: Demographic and serologic characteristics of cohort at initial visit.

Demographics	-	Number	%
Gender	Male	207	90.8
	Female	21	9.2
Ethnicity	White	129	56.6
	Black	17	7.4
	Mixed	44	19.3
	Other	31	13.6
	Not informed	7	3.1
Exposure	MSM	188	82.4
	Heterosexual	37	16.2
	Not informed	3	1.3
Co-infections	HSV-2	89/145	61.4
	Anti-HBc	80/203	39.4
	Syphilis	40/203	19.7
Variable	-	Median	IQR 25-75%
CD4+ T cell count (cells/ μ l)	-	529	403 - 709
Plasma HIV viral load (log ₁₀ copies/ml)	-	4.26	3.59 - 4.81
Time to start on HAART (days)	-	412	153 - 694

Legends: MSM= men who have sex with men; HSV-2= human herpesvirus 2; HBc= hepatitis B core antigen; IQR= interquartile range; HAART= highly active antiretroviral treatment.

Table 2: Correlates of HHV-8 infection in study cohort.

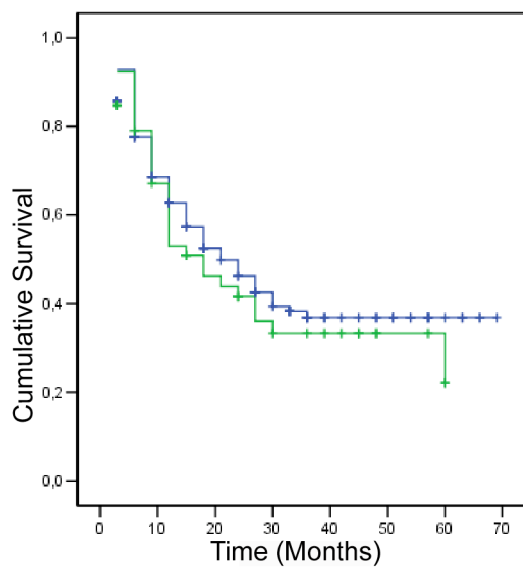
Variable		Univariate			Multivariate		
		OR*	95% CI**	p	OR*	95% CI**	p
Ethnicity	White	1.0	-	-	-	-	-
	Black	4.680	(1.642, 13.343)	0.005	9.068	(2.478, 33.176)	0.018
	Mixed	1.745	(0.799, 3.810)	0.160	1.556	(0.657, 3.684)	0.351
	Other	1.447	(0.579, 3.614)	0.427	1.672	(0.604, 4.625)	0.361
Hepatitis B (anti-HBc seropositivity) (N/P)	-	2.322	(1.227, 4.395)	0.009	2.230	(1.108, 4.488)	0.039
Syphilis (MHA-Tp) (N/P)	-	2.175	(1.049, 4.512)	0.034	1.519	(0.662, 3.485)	0.324
HSV-2 (N/P)	-	1.034	(0.494, 2.165)	0.929	-	-	-
Exposure MSM/ hetero	-	0.301	(0.102, 0.890)	0.023	0.176	(0.041, 0.079)	0.023
Gender M/F	-	0.277	(0.063, 1.227)	0.054	3.841	(0.256, 57.519)	0.329

* OR: odds ratio; ** CI: confidence interval.

Table 3: Comparison between median values for CD4+ cell counts, plasma HIV viral load and age in HHV-8 negative and positive individuals.

	HHV-8 seronegative	HHV-8 seropositive	p
CD4+ T cell count (cells/mm ³)	534	492	0.712
Plasma HIV viral load (log ₁₀ copies/ml)	4.18	4.59	0.241
Age (years)	31	31	0.836

Figure 1. Kaplan-Meier survival curves with CD4+ T cell count ≤ 350 mm³ as the outcome.



Legends: _____ HHV-8 negative
_____ HHV-8 positive
+ HHV-8 negative censored
+ HHV-8 positive censored

4. CONCLUSÕES

1. A infecção pelo herpesvírus humano tipo 8 é altamente prevalente entre indivíduos recém-infectados pelo HIV. Porém, não se detectou efeito sobre as contagens de linfócitos T CD4+ e carga viral do HIV durante o período de acompanhamento.
2. Do ponto de vista demográfico, indivíduos do sexo masculino, entre estes aqueles que fazem sexo com homens, e indivíduos da raça negra, tiveram maior positividade para o HHV-8.
3. Houve associação entre a infecção pelo HHV-8 e outras doenças transmitidas por via sexual, como sífilis e hepatite B.
4. O achado de alto índice de incidência após 1 ano de acompanhamento sugere a permanência de práticas de risco para aquisição de doenças sexualmente transmissíveis mesmo depois da soroconversão para o HIV.

5. REFERÊNCIAS

ALAGIOZOGLOU, L.; SITAS, F.; MORRIS, L. Phylogenetic analysis of human herpesvirus-8 in South Africa and identification of a novel subgroup. *J. Gen. Virol.*, v. 81, p. 2029-38, Aug. 2000.

ALUIGI, M. G.; ALBINI, A.; CARLONE, S.; REPETTO, L.; DE MARCHI, R.; ICARDI, A.; MORO, M.; NOONAN, D.; BENELLI, R. KSHV sequences in biopsies and cultured spindle cells of epidemic, iatrogenic and Mediterranean forms of Kaposi's sarcoma. *Res. Virol.*, v. 147, n. 5, p. 267-75, Sept./Oct. 1996.

AOKI, Y.; TOSATO, G. HIV-1 Tat enhances Kaposi sarcoma-associated herpesvirus (KSHV) infectivity. *Blood*, v. 104, n. 3, p. 810-4, Aug. 2004.

AVELLEIRA, J. C.; LUPI, O.; CATERINO-DE-ARAUJO, A.; SANTOS-FORTUNA E. de L. Seroprevalence of HHV-8 infection in the pediatric population of two university hospitals in Rio de Janeiro, Brazil. *Int. J. Dermatol.*, v. 45, n. 4, p. 381-3, Apr. 2006.

BIGGAR, R. J.; WHITBY, D.; MARSHALL, V.; LINHARES, A. C.; BLACK, F. Human herpesvirus 8 in Brazilian Amerindians: a hyperendemic population with a new subtype. *J. Infect. Dis.*, v. 181, n. 5, p. 1562-8, May 2000. Epub 2000 May 8.

BOSHOF, C.; GAO, S. J.; HEALY, L. E.; MATTHEWS, S.; THOMAS, A. J.; COIGNET, L.; WARNKE, R. A.; STRAUCHEN, J. A.; MATUTES, E.; KAMEL, O. W.; MOORE, P. S.; WEISS, R. A.; CHANG, Y. Establishing a KSHV+ cell line (BCP-1) from peripheral blood and characterizing its growth in Nod/SCID mice. *Blood*, v. 91, n. 5, p. 1671-9, Mar. 1998.

BROWN, E. E.; FALLIN, M. D.; GOEDERT, J. J.; HUTCHINSON, A.; VITALE, F.; LAURIA, C.; GIULIANI, M.; MARSHALL, V.; MBISA, G.; SERRAINO, D.; MESSINA, A.; DURUM, S.; WHITBY, D.; CHANOCK, S. J. Kaposi Sarcoma Genetics Working Group. Host immunogenetics and control of human herpesvirus-8 infection. *J. Infect. Dis.*, v. 193, n. 8, p. 1054-62, Apr. 2006. Epub 2006 Mar. 6.

CALABRO, M. L.; FIORE, J. R.; FAVERO, A.; LEPERA, A.; SARACINO, A.; ANGARANO, G.; SCHULZ, T. F.; CHIECO-BIANCHI, L. Detection of human herpesvirus 8 in cervicovaginal secretions and seroprevalence in human immunodeficiency virus type 1-seropositive and -seronegative women. *J. Infect. Dis.*, v. 179, n. 6, p. 1534-7, June 1999.

_____; GASPERINI, P.; BARBIERATO, M.; OMETTO, L.; ZANCHETTA, M.; DE ROSSI, A.; CHIECO-BIANCHI, L. A search for human herpesvirus 8 (HHV-8) in HIV-1 infected mothers and their infants does not suggest vertical transmission of HHV-8. *Int. J. Cancer.*, v. 85, n. 2, p. 296-7, Jan. 2000.

CANNON, M. J.; DOLLARD, S. C.; SMITH, D. K.; KLEIN, R. S.; SCHUMAN, P.; RICH, J. D.; VLAHOV, D.; PELLETT, P. E. HIV Epidemiology Research Study Group. Blood-borne and sexual transmission of human herpesvirus 8 in women with or at risk for human immunodeficiency virus infection. *N. Engl. J. Med.*, v. 344, n. 9, p. 637-43, Mar. 2001.

CARBONE, P. H. L. *Pesquisa de anticorpos dirigidos a antígenos de fase latente e lítica do herpesvírus humano tipo 8 (HHV-8): prevalência em populações sob risco epidemiológico e população sadia de São Paulo*. 2002. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

CASELLI, E.; GALVAN, M.; CASSAI, E.; CARUSO, A.; SIGHINOLFI, L.; DI LUCA, D. Human herpesvirus 8 enhances human immunodeficiency virus replication in acutely infected cells and induces reactivation in latently infected cells. *Blood*, v. 106, n. 8, p. 2790-7, Oct. 2005.

_____; _____; SANTONI, F.; ROTOLA, A.; CARUSO, A.; CASSAI, E.; LUCA, D. D. Human herpesvirus-8 (Kaposi's sarcoma-associated virus) ORF50 increases in vitro cell susceptibility to human immunodeficiency virus type 1 infection. *J. Gen. Virol.*, v. 8, p. 1123-31, May 2003.

CASPER, C.; KRANTZ, E.; TAYLOR, H.; DALESSIO, J.; CARRELL, D.; WALD, A.; COREY, L.; ASHLEY, R. Assessment of a combined testing strategy for detection of antibodies to human herpesvirus 8 (HHV-8) in persons with Kaposi's sarcoma, persons with asymptomatic HHV-8 infection, and persons at low risk for HHV-8 infection. *J. Clin. Microbiol.*, v. 40, n. 10, p. 3822-5, Oct. 2002.

CATERINO-DE-ARAUJO, A. Human herpesvirus 8 group B and C variants circulating in Sao Paulo, Brazil. *J. Infect. Dis.*, v. 177, n. 4, p. 1136-7, Apr. 1998.

_____; CALABRO, M. L.; SANTOS-FORTUNA, E.; SULEIMAN, J.; CHIECO-BIANCHI, L. Searching for human herpesvirus 8 antibodies in serum samples from patients infected with human immunodeficiency virus type 1 and blood donors from Sao Paulo, Brazil. *J. Infect. Dis.*, v. 179, n. 6, p. 1591-2, June 1999.

_____; CARBONE, P. H.; MARTINELLI, F. L.; de los SANTOS-FORTUNA, E.; MOREIRA, A. A.; SULEIMAN, J.; BARRA, L. A. Absence of an association between the presence of human herpesvirus 8 antibodies and the development of Kaposi's sarcoma in HIV-1-infected patients receiving antiretroviral therapy. *AIDS*, v. 14, n. 10, p. 1455-7, Jul 2000.

_____; CIBELLA, S. E. Searching for antibodies to HHV-8 in children born to HIV-1 infected mothers from Sao Paulo, Brazil: relationship to maternal infection. *J. Trop. Pediatr.*, v. 49, n. 4, p. 247-50, Aug. 2003.

_____; SANTOS-FORTUNA, E.; CARBONE, P. H.; CIBELLA, S. E.; MOREIRA, A. A. Human herpesvirus-8 (HHV-8) antibodies in women from Sao Paulo, Brazil. Association with behavioral factors and Kaposi's sarcoma. *Braz. J. Infect. Dis.*, v. 7, n. 6, p. 395-401, Dec. 2003.

_____; _____; MAGRI, M.C.; SCHUELTER-TREVISOL, F.; SILVA, M. V. Latent human herpesvirus - 8 (HHV-8) infection in female commercial sex workers from Imbituba, Santa Catarina, Brazil. *Braz. J. Infect. Dis.*, v. 11, n. 1, p. 9-11, Feb. 2007.

CATTANI, P.; CAPUANO, M.; CERIMELE, F.; LA PAROLA, I. L.; SANTANGELO, R.; MASINI, C.; CERIMELE, D.; FADDA, G. Human herpesvirus 8 seroprevalence and evaluation of nonsexual transmission routes by detection of DNA in clinical specimens from human immunodeficiency virus-seronegative patients from central and southern Italy, with and without Kaposi's sarcoma. *J. Clin. Microbiol.*, v. 37, n. 4, p. 1150-3, Apr. 1999.

CHANG, Y.; CESARMAN, E.; PESSIN, M. S.; LEE, F.; CULPEPPER, J.; KNOWLES, D. M.; MOORE, P. S. Identification of herpesvirus-like DNA sequences in aids-associated Kaposi's sarcoma. *Science*, v. 266, n. 5192, p. 1865-9, Dec. 1994.

CHATLYNNE, L. G.; LAPPS, W.; HANDY, M.; HUANG, Y. Q.; MASOOD, R.; HAMILTON, A. S.; SAID, J. W.; KOEFFLER, H. P.; KAPLAN, M. H.; FRIEDMAN-KIEN, A.; GILL, P. S.; WHITMAN, J. E.; ABLASHI, D. V. Detection and titration of human herpesvirus-8-specific antibodies in sera from blood donors, acquired immunodeficiency syndrome patients, and Kaposi's sarcoma patients using a whole virus enzyme-linked immunosorbent assay. *Blood*, v. 92, n. 1, p. 53-8, July 1998.

CESARMAN, E.; CHANG, Y.; MOORE, P. S.; SAID, J. W.; KNOWLES, D. M. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-like DNA sequences in aids-related body-cavity-based lymphomas. *N. Engl. J. Med.*, v. 332, n. 18, p. 1186-91, May 1995.

COHEN, A.; WOLF, D. G.; GUTTMAN-YASSKY, E.; SARID, R. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus: clinical, diagnostic, and epidemiological aspects. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.*, v. 42, n. 2, p. 101-53, 2005. Review.

COOK, P. M.; WHITBY, D.; CALABRO, M. L.; LUPPI, M.; KAKOOLA, D. N.; HJALGRIM, H.; ARIYOSHI, K.; ENSOLI, B.; DAVISON, A. J.; SCHULZ, T. F. Variability and evolution of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus in Europe and Africa. International Collaborative Group. *aids*, v. 13, n. 10, p. 1165-76, July 1999.

CUNHA, A. M.; CATERINO-DE-ARAUJO, A.; COSTA, S. C.; SANTOS-FORTUNA, E.; BOA-SORTE, N. C.; GONÇALVES, M. S.; COSTA, F. F.; GALVÃO-CASTRO, B. Increasing seroprevalence of human herpesvirus 8 (HHV-8) with age confirms HHV-8 endemicity in Amazon Amerindians from Brazil. *J. Gen. Virol.*, v. 86, p. 2433-7, Sept. 2005a.

_____; COSTA, S. C.; COSTA, F. F.; CATERINO-DE-ARAUJO, A.; CASTRO FILHO, B. G. Serological and molecular detection of HHV-8 in Brazilian populations. *Braz. J. Infect. Dis.*, v. 9, n. 5, p. 442, Oct. 2005b.

DUKERS, N. H.; REZZA, G. Human herpesvirus 8 epidemiology: what we do and do not know. *aids*, v. 17, n. 12, p. 1717-30, Aug. 2003. Review.

DUPIN, N.; GRANDADAM, M.; CALVEZ, V.; GORIN, I.; AUBIN, J. T.; HAVARD, S.; LAMY, F.; LEIBOWITCH, M.; HURAUX, J. M.; ESCANDE, J. P. et al. Herpesvirus-like DNA sequences in patients with Mediterranean Kaposi's sarcoma. *Lancet*, v. 345, n. 8952, p. 761-2, Mar. 1995.

EDELMAN, D. C.; KETEMA, F.; SAVILLE, R. D.; HERMAN, J.; SILL, A. M.; GILL, P. S.; BLATTNER, W. A.; CONSTANTINE, N. T. Specifics on the refinement and application of two serological assays for the detection of antibodies to HHV-8. *J. Clin. Virol.*, v. 16, n. 3, p. 225-37, May 2000.

ENGELS, E. A.; ATKINSON, J. O.; GRAUBARD, B. I.; MCQUILLAN, G. M.; GAMACHE, C.; MBISA, G.; COHN, S.; WHITBY, D.; GOEDERT, J. J. Risk factors for human herpesvirus 8 infection among adults in the United States and evidence for sexual transmission. *J. Infect. Dis.*, v. 196, n. 2, p. 199-207, July 2007.

_____; WHITBY, D.; GOEBEL, P. B.; STOSSEL, A.; WATERS, D.; PINTUS, A.;

CONTU, L.; BIGGAR, R. J.; GOEDERT, J. J. Identifying human herpesvirus 8 infection: performance characteristics of serologic assays. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.*, v. 23, n. 4, p. 346-54, Apr. 2000.

ENSOLI, B.; BARILLARI, G.; SALAHUDDIN, S. Z.; GALLO, R. C.; WONG-STAAAL, F. Tat protein of HIV-1 stimulates growth of cells derived from Kaposi's sarcoma lesions of aids patients. *Nature*, v. 345, n. 6270, p. 84-6, May 1990.

FERREIRA, S.; SANABANI, S.; REIS, A. D.; CHAMONE, D. F.; SABINO, E. C. Human herpesvirus type 8 among Brazilian blood donors. *Transfusion*, v. 43, n. 12, p. 1764-5, Dec. 2003.

FREITAS, R. B.; FREITAS, M. R.; LINHARES, A. C. Prevalence of human herpesvirus 8 antibodies in the population of Belem, Para, Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop.*, São Paulo, v. 44, n. 6, p. 309-13, nov./dez. 2002.

GAO, S. J.; KINGSLEY, L.; HOOVER, D. R.; SPIRA, T. J.; RINALDO, C. R.; SAAH, A.; PHAIR, J.; DETELS, R.; PARRY, P.; CHANG, Y.; MOORE, P. S. Seroconversion to antibodies against Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-related latent nuclear antigens before the development of Kaposi's sarcoma. *N. Engl. J. Med.*, v. 335, n. 4, p. 233-41, July 1996a.

_____; _____; LI, M.; ZHENG, W.; PARRAVICINI, C.; ZIEGLER, J.; NEWTON, R.; RINALDO, C. R.; SAAH, A.; PHAIR, J.; DETELS, R.; CHANG, Y.; MOORE, P. S. KSHV antibodies among Americans, Italians and Ugandans with and without Kaposi's sarcoma. *Nat Med.*, v. 2, n. 8, p. 925-8, Aug. 1996b.

HARRINGTON, W. Jr.; SIECZKOWSKI, L.; SOSA, C.; CHAN-A-SUE, S.; CAI, J. P.; CABRAL, L.; WOOD, C. Activation of HHV-8 by HIV-1 tat. *Lancet*, v. 349, n. 9054, p. 774-5, Mar. 1997.

HLADIK, W.; DOLLARD, S. C.; MERMIN, J.; FOWLKES, A. L.; DOWNING, R.; AMIN, M. M.; BANAGE, F.; NZARO, E.; KATAAHA, P.; DONDERO, T. J.; PELLETT, P. E.; LACKRITZ, E. M. Transmission of human herpesvirus 8 by blood transfusion. *N. Engl. J. Med.*, v. 355, n. 13, p. 1331-8, Sept. 2006.

HUANG, Y. Q.; LI, J. J.; KAPLAN, M. H.; POIESZ, B.; KATABIRA, E.; ZHANG, W. C.; FEINER, D.; FRIEDMAN-KIEN, A. E. Human herpesvirus-like nucleic acid in various forms of Kaposi's sarcoma. *Lancet*, v. 345, n. 8952, p. 759-61, Mar. 1995.

HYUN, T. S.; SUBRAMANIAN, C.; COTTER, M. A. 2nd; THOMAS, R. A.; ROBERTSON, E. S. Latency-associated nuclear antigen encoded by Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus interacts with Tat and activates the long terminal repeat of human immunodeficiency virus type 1 in human cells. *J. Virol.*, v. 75, n. 18, p. 8761-71, Sept. 2001.

ISHAK, M. de O.; MARTINS, R. N.; MACHADO, P. R.; DE SOUZA, L. L.; MACHADO, L. F.; AZEVEDO, V. N.; KATANO, H.; SATA, T.; HASEGAWA, H.; VALLINOTO, A. C.; ISHAK, R. High diversity of HHV-8 molecular subtypes in the Amazon region of Brazil: Evidence of an ancient human infection. *J. Med. Virol.*, v. 79, n. 10, p. 1537-44, Oct. 2007.

KEDDA, M. A.; MARGOLIUS, L.; KEW, M. C.; SWANEPOEL, C.; PEARSON, D. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus in Kaposi's sarcoma occurring in immunosuppressed renal transplant recipients. *Clin. Transplant*, v. 10, n. 5, p. 429-31, Oct. 1996.

KELLER, R.; ZAGO, A.; VIANA, M. C.; BOURBOULIA, D.; DESGRANGES, C.; CASSEB, J.; MOURA, W. V.; DIETZE, R.; COLLANDRE, H. HHV-8 infection in patients with aids-related Kaposi's sarcoma in Brazil. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, v. 34, n. 7, p. 879-86, July 2001.

LANEY, A. S.; PETERS, J. S.; MANZI, S. M.; KINGSLEY, L. A.; CHANG, Y.; MOORE, P. S. Use of a multiantigen detection algorithm for diagnosis of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus infection. *J. Clin. Microbiol.*, v. 44, n. 10, p. 3734-41, Oct. 2006.

LENNETTE, E. T.; BLACKBOURN, D. J.; LEVY, J. A. Antibodies to human herpesvirus type 8 in the general population and in Kaposi's sarcoma patients. *Lancet*, v. 348, n. 9031, p. 858-61, Sept. 1996.

LISCO, A.; BARBIERATO, M.; FIORE, J. R.; GASPERINI, P.; FAVIA, A.; VOLPE, A.; CHIRONNA, M.; PASTORE G.; CHIECO-BIANCHI, L.; CALABRO, M. L. Pregnancy and human herpesvirus 8 reactivation in human immunodeficiency virus type 1-infected women. *J. Clin. Microbiol.*, v. 44, n. 11, p. 3863-71, Nov. 2006. Epub 2006 Aug. 30.

LUKAC, D. M.; KIRSHNER, J. R.; GANEM, D. Transcriptional activation by the product of open reading frame 50 of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus is required for lytic viral reactivation in B cells. *J. Virol.*, v. 73, n. 11, p. 9348-61, Nov. 1999.

LUPPI, M.; BAROZZI, P.; GUARALDI, G.; RAVAZZINI, L.; RASINI, V.; SPANO, C.; RIVA, G.; VALLERINI, D.; PINNA, A. D.; TORELLI, G. Human herpesvirus 8-associated diseases in solid-organ transplantation: importance of viral transmission from the donor. *Clin. Infect. Dis.*, v. 37, n. 4, p. 606-7, Aug. 2003; author reply 607.

MACHADO, D. M.; SUMITA, L. M.; PANNUTI, C. S.; SUCCI, R. C.; MORAES-PINTO, M. I.; SOUZA, V. A. Seroprevalence of human herpesvirus 8 infection in children born to HIV-1-infected women in Sao Paulo, Brazil. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, v. 38, n. 2, p. 237-40, Feb. 2005. Epub 2005 Feb. 15.

MALOPE, B. I.; PFEIFFER, R. M.; MBISA, G.; STEIN, L.; RATSHIKHOPHA, E. M.; O'CONNELL, D. L.; SITAS, F.; MACPHAIL, P.; WHITBY, D. Transmission of Kaposi sarcoma-associated herpesvirus between mothers and children in a South African population. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.*, v. 44, n. 3, p. 351-5, Mar. 2007.

MARTIN, J. N.; AMAD, Z.; COSSEN, C.; LAM, P. K.; KEDES, D. H.; PAGE-SHAFER, K. A.; OSMOND, D. H.; FORGHANI, B. Use of epidemiologically well-defined subjects and existing immunofluorescence assays to calibrate a new enzyme immunoassay for human herpesvirus 8 antibodies. *J. Clin. Microbiol.*, v. 38, n. 2, p. 696-701, Feb. 2000.

_____; GANEM, D. E.; OSMOND, D. H.; PAGE-SHAFER, K. A.; MACRAE, D.; KEDES, D. H. Sexual transmission and the natural history of human herpesvirus 8 infection. *N. Engl. J. Med.*, v. 338, n. 14, p. 948-54, Apr. 1998.

MARTRO, E.; BULTERYS, M.; STEWART, J. A.; SPIRA, T. J.; CANNON, M. J.; THACHER, T. D.; BRUNS, R.; PELLETT, P. E.; DOLLARD, S. C. Comparison of human herpesvirus 8 and Epstein-Barr virus seropositivity among children in areas endemic and non-endemic for Kaposi's sarcoma. *J. Med. Virol.*, v. 72, n. 1, p. 126-31, Jan. 2004.

MBULAITEYE, S. M.; PFEIFFER, R. M.; ENGELS, E. A.; MARSHALL, V.; BAKAKI, P. M.; OWOR, A. M.; NDUGWA, C. M.; KATONGOLE-MBIDDE, E.; GOEDERT, J. J.; BIGGAR, R. J.; WHITBY, D. Detection of Kaposi sarcoma-associated herpesvirus DNA in saliva and buffy-coat samples from children with sickle cell disease in Uganda. *J. Infect. Dis.*, v. 190, n. 8, p. 1382-6, Oct. 2004.

MERCADER, M.; TADDEO, B.; PANELLA, J. R.; CHANDRAN, B.; NICKOLOFF, B. J.; FOREMAN, K. E. Induction of HHV-8 lytic cycle replication by inflammatory cytokines produced by HIV-1-infected T cells. *Am. J. Pathol.*, v. 156, n. 6, p. 1961-71, June

2000.

MOORE, P. S.; CHANG, Y. Detection of herpesvirus-like DNA sequences in Kaposi's sarcoma in patients with and without HIV infection. *N. Engl. J. Med.*, v. 332, n. 18, p. 1181-5, May 1995.

_____; GAO, S. J.; DOMINGUEZ, G.; CESARMAN, E.; LUNGU, O.; KNOWLES, D. M.; GARBER, R.; PELLETT, P. E.; MCGEOCH, D. J.; CHANG, Y. Primary characterization of a herpesvirus agent associated with Kaposi's sarcoma. *J. Virol.*, v. 70, n. 1, p. 549-58, Jan. 1996. Erratum in: *J. Virol.*, v. 70, n. 12, p. 9083, Dec. 1996.

NASCIMENTO, M. C.; DE SOUZA, V. A.; SUMITA, L. M.; FREIRE, W.; MUNOZ, F.; KIM, J.; PANNUTI, C. S.; MAYAUD, P. Comparative study of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus serological assays using clinically and serologically defined reference standards and latent class analysis. *J. Clin. Microbiol.*, v. 45, n. 3, p. 715-20, Mar. 2007.

_____; WILDER, N.; PANNUTI, C. S.; WEISS, H. A.; MAYAUD, P. Molecular characterization of Kaposi's sarcoma associated herpesvirus (KSHV) from patients with aids-associated Kaposi's sarcoma in Sao Paulo, Brazil. *J. Clin. Virol.*, v. 33, n. 1, p. 52-9, May 2005.

OLSEN, S. J.; CHANG, Y.; MOORE, P. S.; BIGGAR, R. J.; MELBYE, M. Increasing Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus seroprevalence with age in a highly Kaposi's sarcoma endemic region, Zambia in 1985. *aids*, v. 12, n. 14, p. 1921-5, Oct. 1998.

PAUK, J.; HUANG, M. L.; BRODIE, S. J.; WALD, A.; KOELLE, D. M.; SCHACKER, T.; CELUM, C.; SELKE, S.; COREY, L. Mucosal shedding of human herpesvirus 8 in men. *N. Engl. J. Med.*, v. 343, n. 19, p. 1369-77, Nov. 2000.

PEREZ, C.; TOUS, M.; GALLEGO, S.; ZALA, N.; RABINOVICH, O.; GARBIERO, S.; MARTINEZ, M. J.; CUNHA, A. M.; CAMINO, S.; CAMARA, A.; COSTA, S. C.; LARRONDO, M.; FRANCALANCIA, V.; LANDREAU, F.; BARTOMIOLI, M. A. Seroprevalence of human herpesvirus-8 in blood donors from different geographical regions of Argentina, Brazil, and Chile. *J. Med. Virol.*, v. 72, n. 4, p. 661-7, Apr. 2004.

PICA, F.; VOLPI, A. Transmission of human herpesvirus 8: an update. *Curr. Opin. Infect. Dis.*, v. 20, n. 2, p. 152-6, Apr. 2007. Review.

PIERROTTI, L. C.; ETZEL, A.; SUMITA, L. M.; BRAGA, P. E.; ELUF-NETO, J.; DE SOUZA, V. A.; SEGURADO, A. A. Human herpesvirus 8 (HHV-8) infection in HIV/aids patients from Santos, Brazil: seroprevalence and associated factors. *Sex. Transm. Dis.*, v. 32, n. 1, p. 57-63, Jan. 2005.

PLANCOULAIN, S.; ABEL, L.; TREGOUET, D.; DUPREZ, R.; VAN BEVEREN, M.; TORTEVOYE, P.; FROMENT, A.; GESSAIN, A. Respective roles of serological status and blood specific antihuman herpesvirus 8 antibody levels in human herpesvirus 8 intrafamilial transmission in a highly endemic area. *Cancer. Res.*, v. 64, n. 23, p. 8782-7, Dec. 2004.

_____; _____; VAN BEVEREN, M.; TREGOUET, D. A.; JOUBERT, M.; TORTEVOYE, P.; DE THE, G.; GESSAIN, A. Human herpesvirus 8 transmission from mother to child and between siblings in an endemic population. *Lancet*, v. 356, n. 9235, p. 1062-5, Sept. 2000.

_____; GESSAIN, A.; VAN BEVEREN, M.; TORTEVOYE, P.; ABEL, L. Evidence for a recessive major gene predisposing to human herpesvirus 8 (HHV-8) infection in a population in which HHV-8 is endemic. *J. Infect. Dis.*, v. 187, n. 12, p. 1944-50, June 2003. Epub 2003 May 29.

RAAB, M. S.; ALBRECHT, J. C.; BIRKMANN, A.; YAGUBOGLU, S.; LANG, D.; FLECKENSTEIN, B.; NEIPEL, F. The immunogenic glycoprotein gp35-37 of human herpesvirus 8 is encoded by open reading frame K8.1. *J. Virol.*, v. 72, n. 8, p. 6725-31, Aug. 1998.

RABKIN, C. S.; SCHULZ, T. F.; WHITBY, D.; LENNETTE, E. T.; MAGPANTAY, L. I.; CHATLYNNE, L.; BIGGAR, R. J. Interassay correlation of human herpesvirus 8 serologic tests. HHV-8 Interlaboratory Collaborative Group. *J. Infect. Dis.*, v. 178, n. 2, p. 304-9, Aug. 1998.

RAINBOW, L.; PLATT, G. M.; SIMPSON, G. R.; SARID, R.; GAO, S. J.; STOIBER, H.; HERRINGTON, C. S.; MOORE, P. S.; SCHULZ, T. F. The 222- to 234-kilodalton latent nuclear protein (LNA) of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (human herpesvirus 8) is encoded by orf73 and is a component of the latency-associated nuclear antigen. *J. Virol.*, v. 71, n. 8, p. 5915-21, Aug. 1997.

REGAMEY, N.; TAMM, M.; WERNLI, M.; WITSCHI, A.; THIEL, G.; CATHOMAS, G.; ERB, P. Transmission of human herpesvirus 8 infection from renal-transplant donors to

recipients. *N. Engl. J. Med.*, v. 339, n. 19, p. 1358-63, Nov. 1998.

RENNE, R.; ZHONG, W.; HERNDIER, B.; MCGRATH, M.; ABBEY, N.; KEDES, D.; GANEM, D. Lytic growth of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (human herpesvirus 8) in culture. *Nat. Med.*, v. 2, n. 3, p. 342-6, Mar. 1996.

RENWICK, N.; HALABY, T.; WEVERLING, G. J.; DUKERS, N. H.; SIMPSON, G. R.; COUTINHO, R. A.; LANGE, J. M.; SCHULZ, T. F.; GOUDSMIT, J. Seroconversion for human herpesvirus 8 during HIV infection is highly predictive of Kaposi's sarcoma. *aids*, v. 12, n. 18, p. 2481-8, Dec. 1998.

ROIZMAN, B.; KNIPE, D. M. The family Herpesviridae: a brief introduction. In: KNIPE, D. M.; HOWLEY, M. D. (Eds.). *Fields Virology*. 4^a ed. Philadelphia, PA, USA: Lippincott Williams & Wilkins, 2001, p. 2381-2397.

SAID, J. W.; CHIEN, K.; TASAKA, T.; KOEFFLER, H. P. Ultrastructural characterization of human herpesvirus 8 (Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus) in Kaposi's sarcoma lesions: electron microscopy permits distinction from cytomegalovirus (CMV). *J. Pathol.*, v. 182, n. 3, p. 273-81, July 1997.

SANTOS-FORTUNA, E.; CATERINO-DE-ARAÚJO, A. Confirming shedding of human herpesvirus 8 in urine from infected patients in Brazil. *J. Clin. Microbiol.*, v. 43, n. 2, p. 1008, Feb. 2005.

SIMPSON, G. R.; SCHULZ, T. F.; WHITBY, D.; COOK, P. M.; BOSHOF, C.; RAINBOW, L.; HOWARD, M. R.; GAO, S. J.; BOHENZKY, R. A.; SIMMONDS, P.; LEE, C.; DE RUITER, A.; HATZAKIS, A.; TEDDER, R. S.; WELLER, I. V.; WEISS, R. A.; MOORE, P. S. Prevalence of Kaposi's sarcoma associated herpesvirus infection measured by antibodies to recombinant capsid protein and latent immunofluorescence antigen. *Lancet*, v. 348, n. 9035, p. 1133-8, Oct. 1996.

SITAS, F.; NEWTON, R.; BOSHOF, C. Increasing probability of mother-to-child transmission of HHV-8 with increasing maternal antibody titer for HHV-8. *N. Engl. J. Med.*, v. 340, n. 24, p. 1923, June 1999.

SOULIER, J.; GROLLET, L.; OKSENHENDLER, E.; CACOUB, P.; CAZALS-HATEM, D.; BABINET, P.; D'AGAY, M. F.; CLAUVEL, J. P.; RAPHAEL, M.; DEGOS, L. et al. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-like DNA sequences in multicentric Castlemann's disease. *Blood*, 15; v. 86, n. 4, p. 1276-80, Aug. 1995.

SOUZA, V. A.; PIERROTTI, L. C.; SUMITA, L. M.; FREIRE, W. S.; SEGURADO, A. A.; PANNUTI, C. S. Seroreactivity to Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (human herpesvirus 8) latent nuclear antigen in aids-associated Kaposi's sarcoma patients depends on CD4+ T-cell count. *J. Med. Virol.*, v. 79, n. 10, p. 1562-8, Oct. 2007.

_____; SUMITA, L. M.; FREIRE, W.; SATO, H. K.; GRANDI, J. L.; PIERROTTI, L. C.; NASCIMENTO, M. C.; PANNUTI, C. S. Prevalence of antibodies to human herpesvirus-8 in populations with and without risk for infection in Sao Paulo State. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, v. 37, n. 1, p. 123-7, Jan. 2004. Epub 2003 Dec. 18.

_____; _____; NASCIMENTO, M. C.; OLIVEIRA, J.; MASCHERETTI, M.; QUIROGA, M.; FREIRE, W. S.; TATENO, A.; BOULOS, M.; MAYAUD, P.; PANNUTI, C. S. Human herpesvirus-8 infection and oral shedding in Amerindian and non-Amerindian populations in the Brazilian Amazon region. *J. Infect. Dis.*, v. 196, n. 6, p. 844-52, Sept. 2007.

SPIRA, T. J.; LAM, L.; DOLLARD, S. C.; MENG, Y. X.; PAU, C. P.; BLACK, J. B.; BURNS, D.; COOPER, B.; HAMID, M.; HUONG, J.; KITE-POWELL, K.; PELLETT, P. E. Comparison of serologic assays and PCR for diagnosis of human herpesvirus 8 infection. *J. Clin. Microbiol.*, v. 38, n. 6, p. 2174-80, June 2000.

STRATHDEE, S. A.; VEUGELERS, P. J.; MOORE, P. S. The epidemiology of HIV-associated Kaposi's sarcoma: the unraveling mystery. *aids*, v. 10, Suppl. A, p. S51-7, 1996.

WHITBY, D.; HOWARD, M. R.; TENANT-FLOWERS, M.; BRINK, N. S.; COPAS, A.; BOSHOF, C.; HATZIOANNOU, T.; SUGGETT, F. E.; ALDAM, D. M.; DENTON, A. S. et al. Detection of Kaposi sarcoma associated herpesvirus in peripheral blood of HIV-infected individuals and progression to Kaposi's sarcoma. *Lancet*, v. 346, n. 8978, p. 799-802, Sept. 1995.

_____; MARSHALL, V. A.; BAGNI, R. K.; WANG, C. D.; GAMACHE, C. J.; GUZMAN, J. R.; KRON, M.; EBBESEN, P.; BIGGAR, R. J. Genotypic characterization of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus in asymptomatic infected subjects from isolated populations. *J. Gen. Virol.*, v. 85, p. 155-63, Jan. 2004.

WOJCICKI, J. M. Traditional behavioral practices, the exchange of saliva and HHV-8 transmission in sub-Saharan African populations. *Br. J. Cancer.*, v. 89, n. 10, p. 2016-7, Nov. 2003.

ZAGO, A.; BOURBOULIA, D.; VIANA, M. C.; COLLANDRE, H.; DIETZE, R.; BOSHOF, C.; KELLER, R. Seroprevalence of human herpesvirus 8 and its association with Kaposi sarcoma in Brazil. *Sex. Transm. Dis.*, v. 27, n. 8, p. 468-72, Sept. 2000.

ZENG, Y.; ZHANG, X.; HUANG, Z.; CHENG, L.; YAO, S.; QIN, D.; CHEN, X.; TANG, Q.; LV, Z.; ZHANG, L.; LU, C. Intracellular Tat of human immunodeficiency virus type 1 activates lytic cycle replication of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus: role of JAK/STAT signaling. *J. Virol.*, v. 81, n. 5, p. 2401-17, Mar. 2007. Epub 2006 Dec. 6.

ZHANG, X.; FITZPATRICK, L.; CAMPBELL, T. B.; BADARO, R.; SCHECHTER, M.; MELO, M.; BRITES, C.; PEDRAL-SAMPAIO, D.; SCHOOLEY, R. T. Comparison of the prevalence of antibodies to human herpesvirus 8 (Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus) in Brazil and Colorado. *J. Infect. Dis.*, v. 178, n. 5, p. 1488-91, Nov. 1998.

ZONG, J. C.; CIUFO, D. M.; ALCENDOR, D. J.; WAN, X.; NICHOLAS, J.; BROWNING, P. J.; RADY, P. L.; TYRING, S. K.; ORENSTEIN, J. M.; RABKIN, C. S.; SU, I. J.; POWELL, K. F.; CROXSON, M.; FOREMAN, K. E.; NICKOLOFF, B. J.; ALKAN, S.; HAYWARD, G. S. High-level variability in the ORF-K1 membrane protein gene at the left end of the Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus genome defines four major virus subtypes and multiple variants or clades in different human populations. *J. Virol.*, v. 73, n. 5, p. 4156-70, May 1999.

_____; _____; VISCIDI, R.; ALAGIOZOGLOU, L.; TYRING, S.; RADY, P.; ORENSTEIN, J.; BOTO, W.; KALUMBUJA, H.; ROMANO, N.; MELBYE, M.; KANG, G. H.; BOSHOF, C.; HAYWARD, G. S. Genotypic analysis at multiple loci across Kaposi's sarcoma herpesvirus (KSHV) DNA molecules: clustering patterns, novel variants and chimerism. *J. Clin. Virol.*, v. 23, n. 3, p. 119-48, Jan. 2002.

_____; METROKA, C.; REITZ, M. S.; NICHOLAS, J.; HAYWARD, G. S. Strain variability among Kaposi sarcoma-associated herpesvirus (human herpesvirus 8) genomes: evidence that a large cohort of United States AIDS patients may have been infected by a single common isolate. *J. Virol.*, v. 71, n. 3, p. 2505-11, Mar. 1997.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)