

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE MEDICINA DE BOTUCATU

**Pesquisa de gamaherpesvírus em pacientes portadores do  
vírus da imunodeficiência humana.**

**ANA PAULA FERRAZ DA SILVA**

Dissertação apresentada ao Programa de  
Pós-Graduação em Patologia da Faculdade  
de Medicina de Botucatu, Universidade  
Estadual Paulista – UNESP, para a obtenção  
do título de Mestre.

**Orientador: Prof. Dr. Deilson Elgui de Oliveira**

**BOTUCATU - SP**

**2010**

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE MEDICINA DE BOTUCATU

**Pesquisa de gamaherpesvírus em pacientes portadores do  
vírus da imunodeficiência humana.**

**ANA PAULA FERRAZ DA SILVA**

Dissertação apresentada ao Programa de  
Pós-Graduação em Patologia da Faculdade  
de Medicina de Botucatu, Universidade  
Estadual Paulista – UNESP, para a obtenção  
do título de Mestre.

**Orientador: Prof. Dr. Deilson Elgui de Oliveira**

**BOTUCATU - SP**

**2010**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU – UNESP *BIBLIOTECÁRIA*  
*RESPONSÁVEL: Selma Maria de Jesus*

Silva, Ana Paula Ferraz da.

Pesquisa de gamaherpesvírus em pacientes portadores do vírus da imuno-deficiência humana / Ana Paula Ferraz da Silva. – Botucatu, 2010.

Dissertação (mestrado) – Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2010

Orientador: Deilson Elgui de Oliveira

Assunto CAPES: 40101096

1. Vírus da imunodeficiência humana    2. HIV (vírus)

Palavras-chave: Carga viral; EBV; HIV; qPCR; KSHV/HHV-8

*Dedicatória*

# DEDICATÓRIA

---

*Esta dissertação é dedicada com carinho:*

Aos meus pais Olívio e Maria Helena pelo amor que sempre me deram, por todos os valores que me ensinaram, e principalmente por terem acreditado em meus sonhos e colaborado para que eles se realizassem.

*“ Vocês deixaram seus sonhos para que eu sonhasse. Derramaram lágrimas para que eu fosse feliz. Vocês perderam noites de sono para que eu dormisse tranquila. Acreditaram em mim, apesar dos meus erros” (Augusto Cury)*

Ao meu futuro esposo André, que sempre acreditou em meu potencial (mais do que eu mesma), que em todos os momentos difíceis permaneceu ao meu lado, me dando forças para superar os obstáculos. Você está mim, como estou em você e juntos formamos um só corpo, uma só alma!

Obrigada por compreender e suportar a minha ausência. Eu te amo muito!

*Amo como ama o amor. Não conheço nenhuma outra razão para amar senão amar.  
Que queres que te diga, além de que te amo, se o que quero dizer-te é que te amo?  
Fernando Pessoa*

As minhas irmãs Elaine, Edilaine e Fernanda, anjos enviados por Deus para me dar forças, amor e felicidade. Vocês são peças fundamentais na minha vida, tê-las como irmãs é para mim um presente divino!

*“Jamais esqueça que eu levarei para sempre um pedaço  
do seu ser dentro do meu próprio ser” (Augusto Cury)*

Aos meus sobrinhos Lucas, Raphael, Felipe, Júlia e Vinícius, meus pequeninhos, por quem eu sinto um amor inexplicável e imensurável. Sem vocês, nada em minha vida teria sentido!

*"De todos os presentes da natureza para a raça humana, o que é  
mais doce para o homem do que as crianças?" (Ernest Hemingway)*

---

*Agradecimentos  
Especiais*

# *AGRADECIMENTOS ESPECIAIS*

---

Ao meu orientador Prof. Dr. Deilson Elgui de Oliveira por toda a dedicação e profissionalismo depositados na realização desse estudo. Obrigada por confiar na minha capacidade e possibilitar o meu crescimento profissional.

*O entusiasmo é a maior força da alma. Conserva-o e nunca te faltará  
poder para conseguires o que desejas.  
Napoleão Bonaparte*

À Deus por sempre estar presente em minha vida e ser tão generoso comigo, por permitir que durante a minha caminhada pessoas maravilhosas cruzassem o meu caminho me dando forças, garra e determinação para enfrentar os novos desafios, com sabedoria e humildade.

*“O amor de Deus semelha-se à mão a qual nós podemos agarrar,  
como uma luz que brilha na noite e nos mostra o caminho”  
(autor desconhecido)*



# *Agradecimientos*



# *AGRADECIMENTOS*

---

À Fundação de Amparo à pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio financeiro concedido para a realização desta pesquisa. (Proc. MS 2007/06033-7 ; AP 2006/03643-6).

Aos pacientes que aceitaram participar desse estudo, sem os quais este não seria possível.

À Pós-graduação em Patologia, em especial a Vania Soler e a Dra. Márcia Guimarães da Silva por todo o carinho, dedicação, auxílio oferecido a mim.

Aos médicos Alexandre Naime Barbosa, Ricardo Augusto Monteiro de Barros Almeida e Lenice do Rosário de Souza, pelo recrutamento dos pacientes e por todo o auxílio no levantamento e compilação dos dados clínicos.

Às enfermeiras Carina Alves de Oliveira e Luciene Ferreira Daltin, pelo apoio na coleta das amostras de sangue dos pacientes do estudo.

À Liciane Vaz de Arruda Silveira e ao Hélio Rubens de Carvalho Nunes, pelo auxílio nas análises estatísticas.

Aos amigos, Celene, Cris, Marquinhos e Fernando por todos os momentos de descontração, pelos conselhos e pela amizade.

Aos membros do Laboratório de Patologia Molecular, Olívia, Leila, Rafael e Suzane pelo companheirismo, pela troca de conhecimentos e pelo auxílio nos experimentos. Em especial agradeço a Carolina, pelas conversas, conselhos e risadas. Conhecemos-nos a poucos meses, mas tenho a sensação de que somos amigas a muito tempo!

---

# AGRADECIMENTOS

---

Em especial agradeço a Ana Rachel, pela grande e inesquecível amizade construída e por todo o auxílio na execução desse trabalho. Ana sentirei saudades!!

À minha irmã de coração Ana Paula (E.coli), que em todos os momentos, bons e ruins, dessa minha caminhada esteve ao meu lado, vibrando com as minhas vitórias e dando forças nas derrotas. Agradeço imensamente a Deus pelos nossos caminhos terem se cruzados, você é a minha irmãzinha mais nova! Te adoro.

À Marina (Perdiz), pela paciência e carinho com que ouvi as minhas alegrias, sucessos e frustrações. Obrigada pela amizade verdadeira!

À Viviane (Vivi) por todos os momentos de descontração, pela sua alegria que contagia e faz com que os meus dias na faculdade sejam muito melhores! Sou sua fã, “cara”!

Aos meus eternos amigos: Márcia, Mixirica e Ana Luiza, Cristiana e Oscar, Karin, Athanásio e Bruninho, Alessandra, Pires e Gabriela. Pessoas maravilhosas com quem eu compartilhei tantos momentos bons de minha vida, que me ensinaram o verdadeiro sentido da palavra “amigo”, que me fizeram acreditar na amizade pura e verdadeira. Tenham certeza que cada um de vocês tem um lugarzinho especial dentro do meu coração!! Obrigada por sempre torcerem por mim e acreditarem em meu potencial!

*"O valor das coisas não está no tempo que elas duram, mas na intensidade com que acontecem.*

*Por isso, existem momentos inesquecíveis, coisas inexplicáveis e pessoas incomparáveis."*

*(Fernando Pessoa)*

A todas as pessoas aqui não mencionadas, mas que tornaram esse trabalho possível e sempre me apoiaram e torceram pelas minhas conquistas.

**MUITO OBRIGADA!**

---

*“Nada lhe posso dar que já não exista em você mesmo. Não posso abrir-lhe outro mundo de imagens, além daquele que há em sua própria alma. Nada lhe posso dar a não ser a oportunidade, o impulso, a chave. Eu o ajudarei a tornar visível o seu próprio mundo, e isso é tudo”.*

*(Hermann Hesse)*

---

## **“Pesquisa de gamaherpesvírus em pacientes portadores do vírus da imunodeficiência humana”**

### **SUMÁRIO**

<b>1</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b>	<b>15</b>
1.1	Herpesvírus humanos	15
1.2	Vírus de Epstein-Barr (EBV)	16
1.3	Herpesvírus associado ao sarcoma de Kaposi/Herpesvírus humano tipo 8.	19
1.4	Infecção pelo HIV e aids	22
1.5	Referências Bibliográficas	29
<b>2</b>	<b>MANUSCRITO</b>	<b>36</b>
<b>3</b>	<b>ANEXOS</b>	<b>59</b>

---

## ÍNDICE DE TABELAS, QUADROS E FIGURAS.

Figura 1. Gráficos de amplificação de experimentos representativos da pesquisa do EBV (A), do KSHV/HHV-8 (B) e da estimativa da quantidade de células (C), pela amplificação por qPCR de segmento dos gene BGLF5, da ORF-73 e do ERV-3 humano, respectivamente. ....	44
Figura 2. Carga viral do EBV nas amostras dos pacientes portadores do HIV correspondente aos momentos 0, 1, 2 e 3 analisadas de acordo com a resposta obtida ao tratamento antirretroviral. Diferenças significativas e biologicamente relevantes: • $p=0,0017$ ; •• $p<0,0001$ ; † $p=0,0016$ ; †† $p<0,0001$ ; * $p<0,0001$ ; ** $p=0,0525$ (Teste do Qui quadrado). ....	46
Tabela 1- Sexo e idade dos pacientes portadores do HIV incluídos no estudo. ....	43
Tabela 2. Resultados das correlações avaliadas envolvendo a carga viral do EBV com a idade do paciente portador do HIV, tempo estimado de infecção retroviral, viremia do HIV e contagem de linfócitos T CD <sub>4</sub> <sup>+</sup> e T CD <sub>8</sub> <sup>+</sup> circulantes. ....	45
Quadro 1- Sequencias dos oligonucleotídeos (iniciadores e sondas <i>Taqman</i> ®) para análise qualitativa e quantitativa do EBV e do KSHV/HHV-8 por qPCR, bem como para a estimativa do número de células correspondente à quantidade de DNA nas amostras dos pacientes portadores do HIV pela amplificação do ERV-3.....	41

*Revisão da Literatura*

---

## 1 Revisão da Literatura

### 1.1 Herpesvírus humanos

Os vírus da família *Herpesviridae* infectam muitas espécies de vertebrados, incluindo humanos. Dentre outras características, os herpesvírus compartilham a presença de envelope bilipídico envolvendo a partícula viral, capsídeo icosaédrico e genoma formado por duas moléculas de DNA linear de dupla fita. Adicionalmente são capazes de realizar infecção latente e/ou proporcionar a reativação viral nas células infectadas, o que favorece sua permanência no organismo hospedeiro<sup>1</sup>.

Os herpesvírus são subdivididos nas subfamílias *Alphaherpesvirinae*, *Betaherpesvirinae* e *Gammapherpesvirinae*. Com relação aos herpesvírus humanos, estão classificados na subfamília *Alphaherpesvirinae* os herpesvírus simples 1 e 2 (*Herpes Simplex virus type 1 e 2* – HSV-1 e HSV-2) e o herpesvírus humano tipo 3 (*Human Herpesvirus type 3* – HHV-3), também denominado vírus da varicela-zoster (*Varicella Zoster virus*). Pertencem a subfamília *Betaherpesvirinae* o citomegalovírus ou herpesvírus humano tipo 5 (*Human Cytomegalovirus* – HCMV; *Human herpesvirus type 5* – HHV-5) e os herpesvírus humano tipos 6 e 7 (*Human Herpesvirus type 6 and 7*- HHV-6 e HHV-7). Na subfamília *Gammapherpesvirinae*, por sua vez, estão o vírus de Epstein-Barr (*Epstein-Barr Virus* - EBV), também denominado herpesvírus humano tipo 4 (*Human Herpesvirus type 4* - HHV-4), e o herpesvírus associado ao sarcoma de Kaposi (*Kaposi's Sarcoma-associated Herpesvirus* – KSHV), ou herpesvírus humano tipo 8 (*Human Herpesvirus type 8* - HHV-8)<sup>1</sup>.

Células infectadas por herpesvírus alfa e beta frequentemente apresentam ciclo lítico viral. Na infecção por herpesvírus gama, por outro lado, a maioria das células infectadas apresenta ciclo latente. Os gamaherpesvírus são linfotrópicos e podem promover o aparecimento de células linfóides atípicas com elevada capacidade de proliferação celular. Esses vírus infectam linfócitos B, mantendo-se na forma episomal por longos períodos, durante a fase latente da infecção. Trabalhos recentes têm mostrado que modificações epigenéticas e da estrutura da cromatina do genoma viral podem colaborar com o estabelecimento e manutenção da infecção latente<sup>2</sup>. Os gamaherpesvírus estão divididos em dois gêneros: *Lymphocryptovirus* e *Rhadinovirus*, que têm o EBV e o KSHV/HHV-8, respectivamente, como representantes que infectam humanos<sup>3</sup>.

---

## 1.2 Vírus de Epstein-Barr (EBV)

O EBV é um vírus ubíquo, que infecta aproximadamente 90% da população adulta em todo o mundo<sup>4</sup>. O EBV foi isolado em 1964 por Epstein e colaboradores a partir de culturas de linhagens celulares de linfoma de Burkitt (LB) de pacientes africanos<sup>5</sup>. Em 1968 demonstrou-se que o EBV também estava associado à mononucleose infecciosa<sup>6</sup>. O genoma do EBV é formado por uma molécula de DNA linear dupla fita com aproximadamente 172kb em um nucleocapsídeo envolto pelo envelope viral. Nas células infectadas o genoma do EBV é usualmente mantido na forma epissomal. Esse genoma codifica cerca de 100 proteínas virais que atuam em diferentes processos biológicos, incluindo a regulação de genes virais e celulares, replicação do DNA viral, síntese de componentes estruturais para a formação do vírion e modulação da resposta imunitária do hospedeiro<sup>7</sup>.

O primeiro contato com o vírus ocorre geralmente na infância, sendo assintomático na maioria dos casos<sup>8</sup>. Nessa situação o EBV persiste na forma latente durante toda a vida do indivíduo. Por outro lado, é relatado que a ocorrência de infecção primária na adolescência ou na fase adulta está mais relacionada ao desenvolvimento de mononucleose infecciosa<sup>9, 10</sup>, que se manifesta geralmente com febre, linfadenopatia e faringite. Em alguns casos podem ser notadas esplenomegalia, petéquias no palato e hepatomegalia<sup>11</sup>.

São descritos na literatura dois genótipos principais do vírus: o EBV-1 (ou EBV-A) e o EBV-2 (ou EBV-B). A principal distinção entre ambos reside em diferenças na sequência de DNA que codificam os antígenos nucleares do EBV (*EBV Nuclear Antigens* - EBNA). Estudos sorológicos tem descrito variação na distribuição dos EBV-1 e 2, de modo que o EBV-1 é mais prevalente nas regiões ocidentais e em regiões endêmicas da África, enquanto que na África Equatorial podem ser encontrados tanto o EBV-1 como o EBV-2<sup>12</sup>. Em pacientes portadores do HIV-1 tem sido relatado predomínio da infecção pelo EBV-2<sup>13</sup>.

O EBV é liberado na saliva de modo constante ou intermitente, sendo transmitido por via oral<sup>14</sup>. O vírus possui tropismo por linfócitos B, os quais são infectados pela ligação da glicoproteína gp350/220 do envelope viral à molécula CD21 (receptor para fragmento C3d do complemento) na superfície das células, além da ligação da glicoproteína gp42 com moléculas de classe II do complexo principal de histocompatibilidade (*Major Histocompatibility Complex II* - MHC-II). Uma



vez dentro da célula, o DNA viral migra para o núcleo, onde é circularizado e forma o episssoma<sup>15, 16</sup>.

No epitélio da orofaringe o EBV infecta linfócitos B intraepiteliais e linfócitos adjacentes à mucosa, sendo as células *naïve* o principal alvo nessa região. Células *naïve* infectadas recebem estímulos para proliferação, culminando na transição para linfócitos B de memória e bloqueio da diferenciação celular<sup>10,17</sup>. Os linfócitos B infectados pelo EBV entram no centro germinativo (principal reservatório biológico do vírus), e sofrem diferenciação, emergindo para o sistema circulatório como linfócitos B de memória latentemente infectados. Nestas células o vírus pode persistir por longos períodos em virtude da ausência de replicação lítica; adicionalmente, há supressão de expressão de grande parte dos produtos virais, dificultando o reconhecimento das células infectadas por linfócitos T citotóxicos<sup>10</sup>. A reativação lítica do EBV ocorre à medida que os linfócitos B infectados recebem estímulos para se diferenciarem em plasmócitos, os quais migram para a mucosa epitelial, onde ocorre a liberação de novas partículas virais, que podem infectar novas células permissivas ou serem liberadas na saliva<sup>18</sup>.

A infecção pelo EBV provoca a immortalização de linfócitos B e produção de linhagens linfoblastóides de crescimento permanente. Nessas células é observada a expressão de vários genes da fase latente do ciclo biológico viral, tais como os seis EBNAs (EBNA 1, 2, 3A, 3B, 3C e LP), três proteínas latente de membrana (*Latent Membrana Protein* - LMP 1, 2A e 2B) e duas pequenas sequências de RNA não-poliadeniladas (*EBV-enconded small non-polyadenylated RNAs* - EBER 1 e 2)<sup>17</sup>. De acordo com a expressão dos diferentes genes virais citados acima, são tradicionalmente identificados três programas de latência do EBV, denominados I, II e III. A latência tipo III é observada em linfócitos B *naïve* infectados pelo EBV que expressam todos os EBNAs, enquanto que na latência tipo II as células infectadas expressam EBNA-1, LMP-1 e LMP-2 e as células que apresentam o tipo I de latência expressam apenas o EBNA-1. EBERs são expressos em todos os programas de latência<sup>17</sup>.

A mudança da fase latente para a lítica é precedida pela expressão da proteína, Zta, também denominada ZEBRA, que é codificada pelo gene viral BZLF1 e regula positivamente a expressão de genes líticos<sup>19</sup>. Essa proteína também estimula a expressão da proteína codificada pelo gene BHRF1 do EBV, homólogo

viral do gene anti-apoptótico *BCL2*. A expressão de BHRF1 favorece a replicação do EBV e o estabelecimento de infecção persistente<sup>20</sup>.

A LMP-1 é a principal proteína oncogênica do EBV; suas propriedades transformantes já foram demonstradas para fibroblastos de roedores e humanos<sup>17,21</sup>. LMP-1 mimetiza a atividade da molécula CD40, da família dos receptores para fator de necrose tumoral (*Tumoral Necrosis Factor Receptor – TNFr*), induzindo sinalização intracelular mediada pela ativação do fator de transcrição NF-κB<sup>22</sup>. A transdução de sinal intracelular ininterrupta proporcionada por LMP-1 favorece a sobrevivência e proliferação das células B infectadas<sup>23</sup>. Por exemplo, LMP-1 diminui a expressão de bax via NF-κB<sup>24</sup> e aumenta diretamente a expressão do gene *BCL2A1* (também conhecido como *BFL-1*), que codifica proteína da família Bcl-2<sup>25</sup>. Essas ações ocasionam maior resistência à apoptose, contribuindo para a tumorigênese. Digno de nota, LMP-2 (outra importante proteína do EBV expressa durante a latência viral), interfere na sinalização deflagrada pelo receptor de células B (*B-cell Receptor - BCR*), comprometendo a diferenciação e função dos linfócitos B infectados pelo EBV<sup>17</sup>.

Dentre as proteínas do EBV que contribuem na transformação celular também merecem destaque os EBNAs, importantes para a manutenção do genoma viral nas células infectadas e modulação da transcrição de genes virais e celulares<sup>26</sup>. Por meio da inibição de sua degradação proteossomal e/ou retardo de sua própria síntese, EBNA-1 inibe a resposta T citotóxica contra a célula infectada pelo EBV<sup>27</sup>. EBNA-2 e EBNA-3, por sua vez, são reguladores transcricionais e ativadores de vários genes virais e celulares<sup>26, 9,28</sup>. O EBNA-2 também favorece a proliferação da célula infectada por atuar na expressão de *MYC*<sup>9</sup> e em conjunto com o EBNA-LP promove a passagem da fase G0 para a G1 do ciclo celular em linfócitos B primários<sup>28</sup>. Já os EBNA 3, 3A e 3C são essenciais para a transformação celular<sup>29</sup>.

É sabido que pacientes portadores do HIV mais frequentemente desenvolvem doenças linfoproliferativas associadas à infecção pelo EBV<sup>30</sup>. O risco relativo para alguns linfomas não-Hodgkin (LNH), como o linfoma de Burkitt (*LB*), o linfoma difuso de grandes células B, o linfoma plasmoblástico da cavidade oral e o linfoma polimórfico de células B, é aumentado de 60-200 vezes em pacientes portadores do vírus da imunodeficiência humana (*Human Immunodeficiency Virus – HIV*) quando em comparação a população normal<sup>30</sup>. A infecção pelo EBV é identificada em parcela dos casos de Linfoma de Hodgkin clássico (LH), tendo sido reportado que

essa neoplasia é 8-10 vezes mais incidente em indivíduos portadores do HIV<sup>31</sup>. Embora tenha sido observada diminuição da incidência de alguns tipos de LNH em pacientes portadores do HIV desde a introdução da HAART<sup>32</sup>; a incidência do LB permaneceu constante ou apresentou um aumento discreto<sup>33</sup>. Por outro lado, a diminuição da incidência do LH na vigência da HAART é controversa: embora inicialmente não tenham sido relatadas alterações no risco do desenvolvimento da neoplasia<sup>34</sup>, estudos recentes descrevem discreto aumento na incidência desse linfoma em pacientes portadores do HIV<sup>35</sup>.

Além dos LNH e dos LH, o sarcoma de Kaposi (SK) está entre os cânceres mais frequentemente observados em pacientes portadores do HIV. Em todas as suas formas clínico-epidemiológicas essa doença está associada à infecção por outro herpesvírus humano com propriedades cancerígenas: o KSHV/HHV-8.

### **1.3 Herpesvírus associado ao sarcoma de Kaposi/Herpesvírus humano tipo 8.**

A partir da observação de que indivíduos infectados pelo HIV apresentam risco aumentado para o desenvolvimento do sarcoma de Kaposi (SK), diversos vírus foram apontados como possíveis agentes etiológicos dessa neoplasia, incluindo o citomegalovírus, os HHV-6 e HHV-7 e o vírus do papiloma humano (*Human papillomavirus* - HPV)<sup>36</sup>. Em 1994, Chang e colaboradores identificaram um novo herpesvírus em espécimes biológicos de pacientes com aids, o KSHV/HHV-8<sup>37</sup>. Atualmente o KSHV/HHV-8 é detectado em praticamente 100% dos casos em todas as formas de SK, independente da associação com o HIV<sup>38</sup>.

O KSHV/HHV-8 é composto por um nucleocapsídeo icosadeltaédrico de 100-120nm de diâmetro, o qual abriga uma molécula de DNA linear de dupla fita com cerca de 170Kb. Envolvendo o nucleocapsídeo, o vírion do KSHV/HHV-8 possui um envelope lipídico, no qual se inserem glicoproteínas virais<sup>39</sup>. Adicionalmente, o genoma do KSHV/HHV-8 possui pelo menos 11 ORFs que codificam produtos homólogos as proteínas humanas, intensamente estudadas quanto ao seu papel no desenvolvimento de cânceres<sup>40,41</sup>. Alguns produtos do KSHV/HHV-8 interagem com moléculas que regulam processos celulares críticos, notadamente a proliferação, a diferenciação e a morte celular.

Nessa perspectiva, podem ainda ser citados os produtos das ORFs -K9, -74, -72, e da -K2 do KSHV/HHV-8. A ORF-K9 codifica o fator viral regulador de interferon (*Viral Interferon Regulatory Factor* - vIRF), cuja expressão ocorre principalmente na

fase lítica do ciclo viral e prejudica a atividade antiviral dos interferon nas células infectadas. A ORF-74, também expressa predominantemente na fase lítica do ciclo viral, codifica proteína homóloga ao receptor acoplado a proteína G humana (*viral G protein-coupled receptor* – vGPCR), que estimula a expressão do fator de crescimento para endotélio vascular (*Vascular Endothelial Growth-Factor* - VEGF), dentre outras funções<sup>42</sup>. O produto da ORF 72 é homólogo à ciclina D humana; sua expressão induz a proliferação de células latentemente infectadas e progressão inadvertida do ciclo celular. A ORF-K2 codifica a interleucina 6 viral (*viral Interleukin 6* -vIL-6) que, à semelhança da IL-6 humana, desempenha importante papel como fator de crescimento e diferenciação para as células B, além de estimular a angiogênese<sup>43,44</sup>.

Técnicas moleculares para a detecção e caracterização de segmentos do genoma do KSHV/HHV-8 em diferentes espécimes biológicos foram desenvolvidas e validadas nos últimos 15 anos. Como consequência, a análise de segmentos do genoma viral tem possibilitado o entendimento de aspectos importantes de epidemiologia molecular das doenças associadas à infecção pelo KSHV/HHV-8. Atualmente são reconhecidos cinco grupos genotípicos do KSHV/HHV-8, nomeados de A até E, e as técnicas de genotipagem frequentemente se baseiam no estudo das regiões variáveis VR1 e VR2 da ORF K1 viral. Alguns autores propõem o refinamento da genotipagem do KSHV/HHV-8 ao nível de variantes genotípicas dos cinco grupos principais, sendo que pelo menos 24 variantes são descritas (A1 – A10, A1', B1-2, B1', C1-C6, C3', D1-3) <sup>45</sup>.

A distribuição dos genótipos do KSHV/HHV-8 nas populações humanas é heterogênea<sup>46</sup>. Em termos gerais, genótipos dos grupos A e C são encontrados na Europa, Estados Unidos e na Ásia, enquanto os genótipos do grupo B e a variante A5 são mais frequentes na África e Guiana Francesa. Em Taiwan, em algumas ilhas do Pacífico e na Austrália parecem predominar os genótipos do grupo D <sup>47</sup>. Na população de ameríndios brasileiros, foi identificado um novo grupo genotípico denominado grupo E, responsável por infecção hiperendêmica<sup>48</sup>.

Em relação ao contágio pelo KSHV/HHV-8, são documentadas situações de infecção pela via sexual, pelo compartilhamento de seringas contaminadas entre os UDIs, pela saliva, por transmissão vertical e transplantes<sup>49,50</sup>. A transmissão pela saliva tem sido a hipótese mais amplamente aceita para explicar a transmissão do

vírus em agrupamentos familiares. Cook e colaboradores (2002) demonstraram maior detecção de segmentos do genoma viral em amostras orais em comparação a amostras de sangue de famílias do Malawi, sugerindo que a saliva provavelmente é a principal via de transmissão horizontal do vírus entre os indivíduos estudados<sup>51</sup>. Quanto à transmissão vertical, sabe-se que o vírus de fato é veiculado da mãe para o filho durante a gestação, mas geralmente não é possível determinar se a criança foi infectada na vida intrauterina ou durante o parto<sup>52</sup>. Em tempo, alguns estudos demonstraram que o KSHV/HHV-8 pode ser transmitido para pacientes transplantados a partir de doadores infectados, mas também é possível que o paciente transplantado já esteja infectado antes do transplante ou adquira a infecção primária em decorrência da imunossupressão. Em todos os casos, o regime medicamentoso para manutenção do enxerto pode ocasionar reativação do vírus latente, tornando o paciente susceptível ao desenvolvimento de doenças associadas ao KSHV/HHV-8, notadamente o SK<sup>38</sup>.

A frequência de infecção pelo KSHV/HHV-8 em populações humanas oscila influenciada por diferentes fatores. De modo geral, a soroprevalência global tem sido categorizada em altíssima (>40%) na região Subsaariana da África, alta (20 a 40%) no sul da Itália e algumas regiões da África, moderada (5 a 20%) em outras regiões da Itália e países do Mediterrâneo, e baixa (< 5%) no norte e oeste da Europa e nos Estados Unidos<sup>50</sup>. No Brasil, foi relatada detecção do KSHV/HHV-8 por imunofluorescência em 65% da população indígena adulta da região amazônica<sup>48</sup>, enquanto apenas 4,6% das amostras de 747 doadores de sangue da região sul do país apresentaram evidências sorológicas de infecção pelo vírus<sup>53</sup>. Para estimar a soroprevalência do KSHV/HHV-8 no Brasil, Nascimento e colaboradores (2008) analisaram por ELISA e imunofluorescência 3.493 amostras de doadores de sangue, sendo 1.197 de São Paulo, 1.163 de Salvador e 1.133 de Manaus. Os dados revelaram positividade de 25,1% para o KSHV/HHV-8 no ELISA, sendo que apenas 3% dessas também foram positivas pela imunofluorescência<sup>54</sup>.

O KSHV/HHV-8 é necessário, mas insuficiente para o desenvolvimento do SK. A infecção pelo HIV parece funcionar como cofator, proporcionando redução dos níveis de linfócitos T CD<sub>4</sub><sup>+</sup> e resposta imunitária deficiente, o que favorece a infecção pelo KSHV/HHV-8 e emergência de células transformadas<sup>55</sup>. Indivíduos portadores do HIV também apresentam produção aumentada de citocinas inflamatórias pró-angiogênicas, incluindo a IL-1, IL-6 e o TNF- $\alpha$ , o que deve

contribuir na patogênese da neoplasia<sup>56</sup>. Adicionalmente, vários produtos do KSHV/HHV-8 direta ou indiretamente regulam processos celulares críticos como a proliferação, a diferenciação e a morte celular. Por exemplo, ao interagir com o produto do gene supressor tumoral *TP53*, o antígeno nuclear associado à latência 1 (*Latency-associated nuclear antigen 1* – LANA-1) do KSHV/HHV-8 modifica a expressão de genes relacionados à apoptose, aumentando a sobrevivência da célula infectada pelo vírus<sup>57</sup>.

Além do SK, atualmente está bem estabelecida a associação do KSHV/HHV-8 com dois distúrbios linfoproliferativos raros mais comumente observados em pacientes portadores do HIV: a doença de Castleman multicêntrica (*Multicentric Castleman Disease* - MCD) – um distúrbio policlonal de células B que acomete os centros germinativos dos nódulos linfáticos – e o linfoma de cavidades, também denominado linfoma de efusão primária (*Primary Effusion Lymphoma* – PEL). A participação do KSHV/HHV-8 também tem sido cogitada em outras doenças humanas, como a hipertensão pulmonar idiopática<sup>58,59,60</sup> a doença de Kikuchi<sup>61,62</sup> e o mieloma múltiplo<sup>60,61</sup>. Entretanto, os dados atualmente disponíveis sobre essas potenciais associações ainda são insuficientes e mesmo conflitantes.

As infecções pelo KSHV/HHV-8 e pelo EBV nem sempre estão associadas a manifestações clínicas. Indivíduos portadores do vírus da imunodeficiência humana apresentam depressão do sistema imunitário, especialmente da subpopulação de células T CD<sub>4</sub><sup>+</sup> durante o curso da doença<sup>63</sup>. De modo que essa fragilidade do sistema imunitário pode resultar em uma resposta imunitária deficiente à infecção pelo EBV e KSHV/HHV-8<sup>64</sup>, proporcionando aumento no risco do desenvolvimento do SK e de linfomas.

#### 1.4 Infecção pelo HIV e aids

Na primeira metade da década de 1980, o HIV foi isolado e definido como o agente causal da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (*Acquired Immunodeficiency Syndrome* – AIDS). Esta foi originalmente descrita em 1981, nos Estados Unidos da América (EUA), a partir do estudo de 5 casos de homossexuais masculinos com múltiplas infecções decorrentes de grave deficiência do sistema imunitário. A aids caracteriza-se pela redução progressiva de linfócitos T CD<sub>4</sub><sup>+</sup> e aumento da susceptibilidade a infecções oportunistas. Admite-se que os primeiros casos de contágio pelo vírus estejam relacionados principalmente à atividade sexual,

---

mas logo foram relatados indivíduos infectados pelo HIV em virtude de compartilhamento de seringas e agulhas por usuários de drogas injetáveis (UDIs), transfusões de sangue e hemoderivados e contágio pela via materno-infantil (transmissão vertical)<sup>65</sup>.

Os diferentes padrões de contágio pelo HIV parecem estar relacionados a distintas formas de organização social. No continente africano, por exemplo, as formas predominantes de transmissão do HIV sempre foram às relações heterossexuais e a transmissão vertical. Particularmente nos primeiros anos da epidemia, o compartilhamento de seringas e agulhas por UDIs destacou-se como forma de disseminação do vírus na Europa Ocidental, EUA e em vários países da América Latina. Embora no início da epidemia a infecção pelo HIV parecia estar limitada aos chamados “grupos de risco” (e.g., homossexuais masculinos, hemofílicos e UDIs), com o tempo ela foi ganhando espaço em todos os segmentos da sociedade<sup>66</sup>.

De acordo com os dados do Programa cooperativo das Nações Unidas sobre HIV/AIDS (*Joint United Nations Programme on HIV/AIDS* - UNAIDS) o número de indivíduos portadores do vírus da imunodeficiência humana aumentou significativamente desde sua descoberta na década de 1980. Até dezembro de 2008 33,4 milhões de pessoas estavam infectadas com o HIV. Destes, 31,3 milhões são adultos, dos quais 15,7 milhões são mulheres e 2,1 milhões são crianças com menos de 15 anos. Em 2008 foram registrados 2 milhões de mortes em todo mundo devido à infecção pelo HIV. A África apresenta os maiores índices de contaminação pelo vírus: são mais de 22,4 milhões de pessoas infectadas apenas na região Subsaariana e 310 mil no Noroeste do continente. Na Europa estima-se a existência de 1,5 milhões de infectados pelo HIV. Na América Latina a estimativa atinge 2 milhões de pessoas infectadas pelo HIV, sendo que 1,4 milhões encontram-se na América do Norte <sup>67</sup>. As peculiaridades da epidemia de infecção pelo HIV em cada região do mundo também decorrem de fatores econômicos e sociais, migração, fatores ambientais, popularidade do uso de drogas injetáveis e prevalência de outras doenças sexualmente transmissíveis (DSTs).

No Brasil, de acordo com os dados notificados no SINAN (Sistema de Informação de Agravos de Notificação), declarados no SIM (Sistema de Informação de Mortalidade) e registrados no SISCEL/SICLOM (SISCEL - Sistema de Controle

---

de Exames Laboratoriais; SICLOM - Sistema de Controle Logístico de Medicamentos), 35,4 mil pessoas estavam vivendo com AIDS em 2006. Com a intensificação das campanhas de conscientização, em 2007 ocorreu diminuição do número de pessoas infectadas passando para 33,7 mil pessoas. Porém em 2008 ocorreu um leve aumento do número de pessoas portadoras do HIV atingindo 34,4 mil casos. Até junho de 2009, foi registrado 13.658 novos casos, sendo 8.157 (59,68%) homens e 5.501 (40,32%) mulheres. A faixa etária com os maiores índices de contaminação foi a de 30-34 anos para os homens e 40-49 anos para as mulheres<sup>68</sup>. Apesar dos bons resultados no controle da infecção pelo HIV no país obtidos na última década, e mesmo tendo em vista um aumento no número e abrangência dos programas governamentais de difusão de informações sobre a doença, houve uma redução do nível de conhecimento sobre a aids da população entre 15 a 24 anos. Esse fato é preocupante, visto que nessa faixa etária há um aumento nos índices de contaminação pelo HIV entre as mulheres, atribuído predominantemente à transmissão heterossexual e ao uso de drogas injetáveis<sup>69,70</sup>.

O HIV é um retrovírus do gênero *Lentivirus*, sendo que dois tipos virais são descritos atualmente: o HIV-1 e o HIV-2. O HIV-1 é responsável pela maioria dos casos de aids no mundo; a infecção pelo HIV-2, por sua vez, é menos frequente e ocorre predominantemente em algumas regiões da África Ocidental e Central<sup>71</sup>. O genoma do HIV é composto de duas moléculas idênticas de RNA de cadeia simples envoltas pelo capsídeo viral. Nele estão codificados os genes retrovirais básicos, *GAG*, *POL* e *ENV*. *GAG* codifica proteínas estruturais e da matriz; *POL* codifica enzimas importantes para a replicação do HIV como a transcriptase reversa, a integrase e a protease e o *ENV* codifica glicoproteínas que se inserem no envelope e interagem com receptores na superfície da célula alvo<sup>72</sup>. Adicionalmente, o HIV possui uma gama de outros genes, incluindo o *TAT*, *REV* e *VIF*. As proteínas tat e rev são expressas precocemente no ciclo biológico do HIV-1 e têm papel fundamental na replicação viral. Já a proteína vif participa da montagem das novas partículas virais, que acontece em fases mais tardias do ciclo, e bloqueia a clivagem prematura da molécula precursora das principais proteínas virais de superfície, a gp41 e gp120<sup>71</sup>.

Além do genoma viral, o nucleocapsídeo do HIV contém uma transcriptase reversa, que é propensa a ocasionar erros na produção do DNA pró-viral. Por esse motivo o HIV apresenta elevada taxa de mutação proporcionando o aumento de sua



variabilidade genômica, com reflexos no diagnóstico, tratamento e prevenção da infecção<sup>73</sup>.

O HIV infecta principalmente linfócitos T e fagócitos mononucleares, mas também pode atingir linfócitos B, células da glia e células epiteliais intestinais. A infecção de linfócitos T permissivos se faz por meio de moléculas expressas em sua superfície, notadamente a proteína CD4 e receptores para quimiocinas, como o CCR5 e o CXCR4. As glicoproteínas gp120 e gp40 do envelope viral se ligam a essas proteínas da célula-alvo, propiciando a fusão do envelope com a membrana plasmática, o que possibilita a entrada do vírus na célula. No citoplasma, o RNA viral serve como molde para a síntese do DNA pró-viral, que se integra no DNA celular e passa a controlar a síntese dos componentes necessários à formação de novas partículas do HIV<sup>74</sup>. Algumas linhagens virais têm maior afinidade por macrófagos e células dendríticas, pois se utilizam da molécula CCR5 expressa nessas células para a infecção; outras apresentam maior tropismo pelos linfócitos T, em cuja superfície é expressa CXCR4<sup>73</sup>.

Depois de sintetizado, o DNA pró-viral é transportado para o núcleo da célula infectada integrando-se ao DNA do hospedeiro pela ação da enzima viral integrase. As proteínas produzidas a partir da expressão do DNA pró-viral acumulam-se na célula infectada e são utilizadas para montagem de novas partículas do HIV, que deverão conter todos os componentes requeridos para a repetição do ciclo biológico viral em outra célula-alvo. A protease viral auxilia na formação da maturação das novas partículas virais, tornando-as capazes de infectar outras células suscetíveis<sup>73</sup>.

Em termos gerais, as primeiras manifestações clínicas no paciente infectado pelo HIV ocorrem entre duas a três semanas após a exposição primária ao vírus. Nesse período pode ser observado o aparecimento de sintomas autolimitados semelhantes aos da mononucleose infecciosa. Em alguns meses o portador do vírus pode apresentar linfadenopatia generalizada persistente, reflexo da redistribuição do HIV nos tecidos linfóides do organismo. Nesses tecidos poderão ser detectadas, por exemplo, células dendríticas que albergam o vírus em ativa replicação. Na maioria dos casos, os sinais sorológicos da infecção tornam-se evidentes 6 meses após a exposição primária ao HIV. A viremia permanece em um nível baixo por um período variável, porém aumenta progressivamente na medida em que os níveis de células T CD<sub>4</sub><sup>+</sup> diminuem.

---

Seguindo a classificação proposta pelos Centros de Controle e Prevenção de Doenças dos EUA (*Centers for Disease Control and Prevention* – CDC) pacientes portadores do HIV podem ser agrupados de acordo com dois parâmetros combinados: a presença de sintomatologia associada à infecção pelo HIV e o desenvolvimento de aids, que definem as categorias A, B e C, e o nível mais baixo alcançado de linfócitos T CD<sub>4</sub><sup>+</sup>, que define as categorias 1, 2, 3.

De maneira geral, pacientes portadores do HIV que ao longo da infecção se mantiveram assintomáticos ou apenas com linfadenopatia persistente são classificados em A; na categoria B, estão os pacientes que apresentaram condições sintomáticas que não são incluídas na categoria C, mas que indicam imunodeficiência celular e/ou evolução complicada pela infecção retroviral; na categoria C, por sua vez, são classificados pacientes que apresentam ou apresentaram doenças associadas à aids, como citomegalovirose, histoplasmose, toxoplasmose, candidíase em trato aer respiratório inferior, linfoma em sistema nervoso central, sarcoma de Kaposi, etc. Com relação aos níveis de linfócitos T CD<sub>4</sub><sup>+</sup>, pacientes que apresentaram contagens sempre acima de 500 células/ $\mu$ L são classificados na categoria 1; entre 200 e 499 células/ $\mu$ L na categoria 2 e aqueles que em algum momento exibiram contagem de linfócitos T CD<sub>4</sub><sup>+</sup> abaixo de 200 células/ $\mu$ L são classificados na categoria 3<sup>75</sup>. Geralmente não são observados sintomas importantes da infecção pelo HIV até que o nível de linfócitos T caia abaixo de 500 células/ $\mu$ L, limite em que se observa um aumento no risco de desenvolvimento de infecções oportunistas secundárias ao imunocomprometimento causado pela infecção pelo retrovírus<sup>71</sup>.

Tendo em vista que os linfócitos T CD<sub>4</sub><sup>+</sup> apresentam funções essenciais na regulação das respostas imunitária celular e humoral, a progressiva destruição dessas células pelo HIV incapacita todo o sistema imunitário<sup>71</sup>. Entretanto, observa-se que os pacientes infectados pelo HIV evoluem de maneira variável quanto à gravidade da imunossupressão e evolução para a aids. Sabe-se, por exemplo, que um subgrupo de pacientes portadores do HIV apresentam rápida progressão para aids, que ocorre entre 1 a 5 anos<sup>72</sup>; outros, entretanto, podem não apresentar sinais da doença por mais de 10 anos, mantendo elevados os níveis de linfócitos T CD<sub>4</sub><sup>+</sup> mesmo sem a utilização de terapias antirretrovirais. Esses indivíduos, denominados não-progressores de longo prazo, representam aproximadamente 5% dos

portadores do HIV e apresentam algumas peculiaridades, como polimorfismos nas moléculas do MHC e forte resposta de células NK (*Natural Killer* cell – NK) e de linfócitos T CD<sub>8</sub><sup>+</sup> a infecção retroviral, além de infecção por variantes mutadas do HIV, que não produzem a proteína nef<sup>76</sup>. Há ainda na literatura a descrição dos controladores de elite: indivíduos portadores do HIV mas que mantêm indetectável o nível da carga viral do HIV em sangue periférico (< 50 moléculas RNA/mL de sangue). Eles representam aproximadamente 1% dos pacientes portadores do HIV e além da capacidade de manter baixa a carga retroviral, apresentam forte resposta dos linfócitos T CD<sub>4</sub><sup>+</sup> e T CD<sub>8</sub><sup>+</sup> específicos para o HIV<sup>77</sup>.

Embora as infecções oportunistas sejam as principais responsáveis pela elevada taxa de mortalidade entre os pacientes infectados pelo vírus, nos últimos anos observou-se o aumento da sobrevida destes pacientes em função de novos protocolos terapêuticos, em especial a terapia antirretroviral potente combinada (*Highly Active Antirretroviral Therapy* - HAART). Os quimioterápicos que compõem a HAART incluem drogas inibidoras das enzimas retrovirais (notadamente a protease e a transcriptase reversa), que propiciam uma redução da replicação do HIV e retardam a progressão para a aids. O tratamento com a HAART, entretanto, não é suficiente para a eliminação completa do HIV no organismo, pois o vírus permanece em ativa replicação em seus reservatórios biológicos, principalmente nos tecidos linfóides. Na ausência de tratamento antirretroviral, a replicação do HIV torna-se mais evidente nas células permissivas, principalmente linfócitos T CD<sub>4</sub><sup>+</sup> ativados. Por outro lado, mesmo na vigência da HAART, a baixa fidelidade do processo de transcrição reversa do genoma do HIV proporciona mutações que possibilitam a emergência de linhagens do vírus resistentes às drogas utilizadas na terapia antirretroviral, dificultando o controle da doença<sup>78</sup>. De qualquer modo, observou-se queda superior a 50% da mortalidade associada ao HIV no Brasil após a introdução da distribuição de medicamentos antirretrovirais gratuitamente pelo Sistema Único de Saúde (SUS) (1996), além de aumento significativo da qualidade de vida dos pacientes infectados no país<sup>79</sup>.

Um número elevado de linfócitos e outros tipos celulares (em menor escala) morrem em decorrência dos efeitos diretos ou indiretos da infecção viral no portador do HIV. Simultaneamente, outras tantas células previamente sadias passam a ser infectadas, contribuindo para um progressivo e inexorável colapso do sistema

imunitário. Assim, o indivíduo portador do HIV torna-se muito mais suscetível à infecção por novos patógenos, incluindo alguns vírus com potencial oncogênico, como o vírus do papiloma humano (*Human Papillomavirus* - HPV), o EBV e o KSHV/HHV-8.

É sabido que pacientes portadores do HIV com infecção concomitante pelo EBV e/ou KSHV/HHV-8 possuem maior risco de desenvolvimento de neoplasias malignas associadas à infecção viral, notadamente linfomas e o SK<sup>80</sup>. Suspeita-se que o imunocomprometimento do organismo infectado pelo HIV e a progressiva perda da resposta específica para o EBV, com consequente aumento no número de células circulantes infectadas pelo herpesvírus, tenha papel relevante na patogênese de linfomas associados ao EBV<sup>64,81</sup>. Em relação ao KSHV/HHV-8, é bem documentado que a redução dos níveis de linfócitos T CD<sub>4</sub><sup>+</sup> favorece a infecção ou a reativação herpesviral, com importante efeito no risco para o desenvolvimento de neoplasias associadas ao vírus<sup>55, 82</sup>. Digno de nota, o aumento na carga viral do KSHV/HHV-8 pode estimular a replicação do HIV, de modo a influenciar a história natural da infecção retroviral e progressão para a aids<sup>83</sup>.

Por outro lado, os dados atualmente disponíveis sobre a importância da detecção desses gama herpesvírus humanos em pacientes portadores do HIV ainda são insuficientes ou mesmo conflitantes. A fim de contribuir na elucidação da importância da infecção pelo EBV e do KSHV/HHV-8 durante a infecção pelo HIV, o presente estudo avaliou prospectivamente pacientes portadores do HIV quanto à carga viral, em sangue periférico, do EBV e do KSHV/HHV-8, associando os resultados obtidos com parâmetros epidemiológicos, demográficos e clínico-laboratoriais.

## 1.5 Referências Bibliográficas

- <sup>1</sup> OEHMIG, A., FRAEFEL, C., BREAKFIELD, X.O. Update on Herpesvirus Amplicon Vectors. **Mol Ther**, v. 10, n. 4, p.630-643, 2004.
- <sup>2</sup> TEMPERA, I., LIEBERMAN, P.M. Chromatin organization of gammaherpesvirus latent genomes. **Biochim Biophys, Acta** (2009), doi:10.1016/j.bbagr.2009.10.004
- <sup>3</sup> ACKERMANN, M. Pathogenesis of gammaherpesvirus infections. **Vet Microbiol**, v. 113, p. 211-222, 2006.
- <sup>4</sup> THORLEY-LAWSON, D. A. Epstein-Barr virus: exploiting the immune system. **Nature**, v.1, p.75-82, 2001.
- <sup>5</sup> EPSTEIN, M.A., ACHONG, B.G., BARR, Y.M. Virus particles in cultured lymphoblast from burkitt's lymphoma. **Lancet**, v.1, p.702-703, 1964.
- <sup>6</sup> HENLE, G., HENLE, W., DIEHL, V. Relation of Burkitt's tumor associated herpes-type virus to infectious mononucleosis. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 59, p. 94-101, 1968.
- <sup>7</sup> BAUMFORTH, K.R., YOUNG, L.S., FLAVELL, K.J. et al. The Epstein-Barr virus and its association with human cancers. **J Clin Pathol**, v. 52, p. 307- 322, 1999.
- <sup>8</sup> JONCAS, J., BOUCHER, J., GRANGER-JULIEN, M., FILION, C. Epstein-Barr virus infection in the neonatal period and in childhood. **Can Med Assoc J**, v.110, p.33-37, 1974.
- <sup>9</sup> REZK, S. A. & WEISS, L. M. Epstein-Barr virus-associated lymphoproliferative disorders. **Hum Pathol**, v.38, p.1293-1304, 2007.
- <sup>10</sup> THORLEY-LAWSON, D.A., GROSS, A. Persistence of the Epstein-Barr virus and the origins of associated lymphomas. **N Engl J Med**, v.350, p.1328-1337, 2004.
- <sup>11</sup> WILLIAMS, H., CRAWFORD, D.H. Epstein-Barr virus: the impact of scientific advances on clinical practice. **Blood**, v. 107, p. 862-869, 2006.
- <sup>12</sup> THOMPSON, M. P., KURZROCK, R. Epstein-Barr virus and cancer. **Clin Cancer Res**, v.10, p.803-821, 2004.
- <sup>13</sup> VAN BAARLE, D., HOVENKAMP, E., KERSTEN, M. J., et al. Direct Epstein-Barr virus (EBV) typing on peripheral blood mononuclear cells: no association between EBV type 2 infection or superinfection and the development of acquired immunodeficiency syndrome-related non-Hodgkin's lymphoma. **Blood**, v.93, p.3949-3955, 1999.
- <sup>14</sup> THORLEY-LAWSON, D. A., BABCOCK, G. J. A model for persistent infection with Epstein-Barr virus: the stealth virus of human B cells. **Life Sci**, v.65, p.1433-1453, 1999.
- <sup>15</sup> MARUO, S., YANG, I., TAKADA, K. Roles of Epstein-Barr virus glycoproteins gp350 and gp25 in the infection of human epithelial cells **J G Virol.**, v. 82, p. 2373-2383, 2001.
- <sup>16</sup> KUTOK, J.L., WANG, F. Spectrum of Epstein-Barr Virus-Associated Diseases. **Annu Rev Pathol Mech Dis**, v.1, p.375-404, 2006.
- <sup>17</sup> YOUNG, L. S., RICKINSON, A. B. Epstein-Barr virus: 40 years on. **Nat Rev Cancer**, v.4, p.757-768, 2004.

- 
- <sup>18</sup> THORLEY-LAWSON, D. A. EBV the prototypical human tumor virus--just how bad is it? **J Allergy Clin Immunol**, v.116, p.251-261, 2005.
- <sup>19</sup> KATSUMURA, K.R., MARUO, S. WU, YI., et al. Quantitative evaluation of the role of Epstein-Barr virus immediate-early protein BZLF1 in B-cell transformation. **J Gen Virol**, v. 90, p. 2331-2341, 2009.
- <sup>20</sup> KHANIM, F., DAWSON, C., MESEDA, C.A., et al. BHRF1, a viral homologue of the Bcl-2 oncogene, is conserved at both the sequence and functional level in different Epstein-Barr virus isolates. **J Gen Virol**, v. 78, p. 2987-2999, 1997.
- <sup>21</sup> KAYE, K.M., IZUMI, K.M, KIEFF, E. Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 is essential for B-lymphocyte growth transformation. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 90, p. 9150-0154, 1993.
- <sup>22</sup> UCHIDA, J., YASUI, T., TAKAOKA-SHICHIJO, Y., et al. Mimicry of CD40 signals by Epstein-Barr virus LMP1 in B lymphocyte responses. **Science**, v.286, p.300-303, 1999.
- <sup>23</sup> ELIOPOULOS, A.G., YOUNG, L.S. LMP1 structure and signal transduction. **Semin Cancer Biol**, v.11, p.435-444, 2001.
- <sup>24</sup> GRIMM, T., SCHNEIDER, S., NASCHBERGER, E., et al. EBV latent membrane protein-1 protects B cells from apoptosis by inhibition of BAX. **Blood**, v.15, p. 3263-3269, 2005.
- <sup>25</sup> D'SOUZA, B., ROWE, M., WALLS, D. The bfl-1 gene is transcriptionally upregulated by the Epstein-Barr virus LMP1, and its expression promotes the survival of a Burkitt's lymphoma cell line. **J Virol**, v.74, .6652-6658, 2000.
- <sup>26</sup> KUPPERS, R. B cells under influence: transformation of B cells by Epstein-Barr virus. **Nat Rev Immunol**, v.3, p.801-812, 2003.
- <sup>27</sup> LEVITSKAYA, J., SHARIPO, A., LEONCHIKS, A., et al. Inhibition of ubiquitin/proteasome-dependent protein degradation by the Gly-Ala repeat domain of the Epstein-Barr virus nuclear antigen 1. **Proc Natl Acad Sci USA**, v.94, p.12616-12621, 1997.
- <sup>28</sup> FARRELL, P.J., CLUDTS, I., STUHLER, A. Epstein-Barr virus genes and cancer cells. **Biomed Pharmacother**, v.51, p.258-267, 1997.
- <sup>29</sup> YOUNG, L. S., DAWSON, C. W., ELIOPOULOS, A. G. The expression and function of Epstein-Barr virus encoded latent genes. **Clin Pathol: Mol Pathol**, v.53, p.:238-247, 2000.
- <sup>30</sup> GROGG, K.L., MILLER, R.F., DOGAN, A. HIV infection and lymphoma. **J Clin Pathol**, v.60, p.1365-1372, 2007.
- <sup>31</sup> BIGGAR, R.J., JAFFE, E.S., GOEDERT, J.J., et al. Hodgkin lymphoma and immunodeficiency in persons with HIV/AIDS. **Blood**, v.108, p. 3786-3791, 2006.
- <sup>32</sup> POLESEL, J., CLIFFORD, G.M., RICKENBACH, M., et al. Non-Hodgkin lymphoma incidence in the Swiss HIV Cohort Study before and after highly active antiretroviral therapy. **AIDS**, v.11, n.22, p.301-306, 2008.
-

- 
- <sup>33</sup> ZOUFALY, A., STELLBRINK, H.J., HEIDEN, M.A., et al. Cumulative HIV viremia during highly active antirretroviral therapy is a strong predictor of AIDS-related lymphoma. **J Infect Dis**, v.1, n. 200, p.79-87, 2009.
- <sup>34</sup> WILDE, J.T, LEE, C.A., DARBY, S.C., et al. The incidence of lymphoma in the UK haemophilia population between 1978 and 1999. **AIDS**, v.16, p.1803–1807, 2002.
- <sup>35</sup> INTERNATIONAL COLLABORATION ON HIV AND CANCER. Highly active antirretroviral therapy and incidence of cancer in human immunodeficiency virus-infected adults. **J Natl Cancer Inst**, v.92, p.1823-1830, 2000.
- <sup>36</sup> KEMPF, W., ADAMS, V. Viruses in the pathogenesis of Kaposi's sarcoma – a review. **Biochem Mol Med**, v. 58, p. 1-12, 1996.
- <sup>37</sup> CHANG, Y., CESARMAN, E., PESSIN, M. S., et al. Identification of herpesvirus-like DNA sequence in AIDS- associated Kaposi's sarcoma. **Science**, v.266, p. 1865-9, 1994.
- <sup>38</sup> HENGGE, U.R., RUZICKA, T., TYRING, S.K., et al. Update on Kaposi's sarcoma and other HHV-8 associated diseases. Part 1: epidemiology, environmental predispositions, clinical manifestations, and therapy. **Lancet Infect Dis**, v. 2, p. 281-92, 2002.
- <sup>39</sup> EDELMAN, D. C. Human herpesvirus 8 – A novel human pathogen – a review. **J Virol**, v. 2:78, p. 1-32, 2005.
- <sup>40</sup> CESARMAN, E., KNOWLES, D. M. The role of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (KSHV/HHV-8) in lymphoproliferative diseases. **Semin Cancer Biol**, v.9, p. 165-174, 1999.
- <sup>41</sup> zur HAUSEN, H. Viruses in human cancers. **Eur J Cancer**, v. 35, p. 1174-1181, 1999.
- <sup>42</sup> GALLO, R. C. The enigmas of Kaposi's sarcoma. **Science**, v. 282, p. 1837-1839, 1998.
- <sup>43</sup> CHENG E.H., NICHOLAS J., BELLOWS D.S., et al. A bcl-2 homolog encoded by Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus, human herpesvirus 8, inhibits but does not heterodimerize with Bax or Bak. **Proc Natl Acad Sci USA**, v.94, p. 690-4, 1996.
- <sup>44</sup> CHANG Y., MOORE O. S., TALBOT S.J., et al. The cyclin encoded by KS herpesvirus. **Nature**, p. 382, 1996.
- <sup>45</sup> SZALAI, E., TAKÁCS, M., ÖTVÖS, R. et al. Genotypic distribution of human herpesvirus-8 strains circulating in HIV-positive patients with and without Kaposi's sarcoma in Hungary. **Arch Virol**, v.150, p. 1315-1326, 2005.
- <sup>46</sup> DUPREZ, R., CASSAR, O., HBID, O., et al. Cutaneous disseminated endemic Kaposi's sarcoma in a Polynesian man infected with a new divergent human herpesvirus 8 subtype D. **Clin Virol**, v.37, p.222–226, 2006.
- <sup>47</sup> MENG, Y.X., SPIRA, T.J., BHAT, G.J., et al. Individuals from North América, Australasia, and África are infected with four different genotypes of human herpesvirus 8. **Virology**, v.261, p.106-19, 1999.
-

- 
- <sup>48</sup> BIGGAR, R.J., WHITBY, D., MARSHALL, V., et al. Human Herpesvirus 8 in Brazilian Amerindians: A Hyperendemic Population with a New Subtype. **J Infect Dis**, v.181, p.1562–1568, 2000.
- <sup>49</sup> MARTRO E., ESTEVES A., SCHULZ T.F., et al. Risk factors for human Herpesvirus 8 infection and AIDS-associated Kaposi's sarcoma among men who have sex with men in a European multicentre study. **J Cancer**, v. 120, p. 1129-1135, 2006.
- <sup>50</sup> KALT, I., MASA, S.R., SARID, R. Linking the Kaposi's Sarcoma-Associated Herpesvirus (KSHV/HHV-8) to Human Malignancies. **Methods Mol Biol**, v.471, p.387-406, 2009.
- <sup>51</sup> COOK, R.D., HODGSON, T.A., WAUGH, A.C.W., et al. Mixed patterns of transmission of human herpesvirus 8 (Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus) in Malawian families. **J Gen Virol**, v.83, p.1613-1619, 2002.
- <sup>52</sup> MANTINA, H., KANKASA, C., KLASKALA, W., et al. Vertical transmission of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus. **Int J Cancer**, v.94, p.749-752, 2001.
- <sup>53</sup> ZAGO, A., BOURBOULIA, D., VIANA, M. C., et al. Seroprevalence of human herpesvirus 8 and its association with Kaposi sarcoma in Brazil. **Sex transm Dis**, v.27, p. 468–472, 2000.
- <sup>54</sup> NASCIMENTO, M.C., AKICO DE SOUZA, V., SUMITA, L.M., et al. Prevalence of, and Risk Factors for Kaposi's Sarcoma-Associated Herpesvirus Infection Among Blood Donors in Brazil: A Multi-Center Serosurvey. **J Med Virol**, v.80, p.1202-1210, 2008.
- <sup>55</sup> WHITBY, D., HOWARD, M. R., TENANT–FLOWERS, M. et al. Detection of Kaposi's sarcoma associated Herpesvirus in peripheral blood of HIV- infected individuals and progression to Kaposi's sarcoma. **Lancet**, v. 346, p. 799-802, 1995.
- <sup>56</sup> JENNER, R. G., BOSHOFF, C. The molecular pathology of Kaposi's sarcoma – associated herpesvirus. **Biochem Biophys Acta**, v.1602, p. 1-22, 2002.
- <sup>57</sup> FRIBORG, J. Jr., KONG, W-P., HOTTIGER, M. O., NABEL, G. J. P53 inhibition by the LANA protein of KSHV protects against cell death. **Nature**, v. 402, p. 889-94, 1999.
- <sup>58</sup> COOL, C.D., RAI, P.R., YEAGER, M.E., HERNANDEZ-SAAVEDRA, D., SERLS, A.E., et al. Expression of human herpesvirus 8 in primary pulmonary hypertension. **N Engl J Med**, v. 349, p. 1113-1122, 2003.
- <sup>59</sup> SCOTT-LANEY, A., MARCO, T., PETERS, J.S., et al. Kaposi Sarcoma-associated herpesvirus and primary and secondary pulmonary hypertension. **Chest**, v.127, p.762-767, 2005.
- <sup>60</sup> HENKE-GENDO, C., MENGEL, M., HOEPER, M.M., ALKHARSAH, K., SCHULZ, T.F. Absence of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus in patients with pulmonary arterial hypertension. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 172, p. 1581-1585, 2005.
- <sup>61</sup> HUH, J., CHI, H.S., KIM, S.S., GONG, G. A study of the viral etiology of histocytic necrotizing lymphadenitis (Kikuchi- Fujimoto disease). **J Korean Med Sci**, v. 13, p. 27-30, 1998.
- <sup>62</sup> CHOA, MIN-SUN, CHOI H.J., et al. Questionable role of Human Herpesvirus in the pathogenesis of Kikuchi disease. **Arch Pathol Lab Med**, v. 131, p. 604-609, 2007.
-



- 
- <sup>63</sup> TRIPATHI, P., AGRAWAL, S. Immunobiology of Human Immunodeficiency virus infection. **Indian J Med Microbiol**, v. 25, n. 4, p. 311-322, 2007.
- <sup>64</sup> BAARLE, D.V., HOVENKAMP, E., CALLAN, M.F.C., et al. Dysfunctional Epstein-Barr virus (EBV)-specific CD<sub>8</sub><sup>+</sup> T lymphocytes and increased EBV load in HIV-1 infected individuals progressing to AIDS-related non-Hodgkin lymphoma. **Blood**, v. 98, p. 146-155, 2001.
- <sup>65</sup> GOTTLIEB, M. S., AIDS — PAST AND FUTURE, **N Engl J Med**, v. 344, n. 23, p. 1788-1791, 2001
- <sup>66</sup> SANTOS, N.J.S.; TAYRA, A.; SILVA, S.R.; BUCHALLA, C.M.; LAURENTI, R. AIDS in the State of São Paulo. Changes in the profile of the epidemic and prospects for epidemiological surveillance. **Rev Bras Epidemiol**, v.5, n.2, p. 206-310, 2002.
- <sup>67</sup> UNAIDS/WHO. AIDS epidemic update: December 2009. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS) and World Health Organization (WHO) 2009. Disponível em: <[http://data.unaids.org/pub/Report/2009/2009\\_epidemic\\_update\\_en.pdf](http://data.unaids.org/pub/Report/2009/2009_epidemic_update_en.pdf)>. Acesso em: 21 de dezembro de 2009.
- <sup>68</sup> BRASIL. Ministério da Saúde. Dados Epidemiológicos do Brasil. Semanas epidemiológicas 27<sup>a</sup> – 52<sup>a</sup> de Julho a dezembro de 2007 e 1<sup>a</sup> – 26<sup>a</sup> de janeiro a junho de 2008. **Bol Epidemiol Aids/DST**. Ano V, n.1, p.1-58, 2008. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br>>. Acesso em: 10 de novembro de 2009.
- <sup>69</sup> VILLELA, W.V., DORETO, D.T. Young people's sexual experience. **Cad Saúde Pública**, v. 22, p.2467-2472, 2006.
- <sup>70</sup> SANTOS, N.J.S., BARBOSA, R.M., PINHO, A.A., et al. Contexts of HIV vulnerability among Brazilian women. **Cad Saude Publica**, 25 Suppl 2:S321-33, 2009.
- <sup>71</sup> MILLER, R. J., CAIRNS, J. S., BRIDGES, S., SARVER, N. Human Immunodeficiency Virus and AIDS: Insights from Animal Lentiviruses, **J Virol**, v. 74, n.16, p.7187–7195, 2000.
- <sup>72</sup> WEISS, R.A. Getting to know HIV, **Trop Med Int Health**, v.5, p.A10 – A15, 2000.
- <sup>73</sup> SCHWARTZ, S. A., NAIR, M. P. N. Current concepts in human immunodeficiency virus infection and AIDS. **Clin Diagn Lab Immunol**, v.6, n.3, p.295-305, 1999.
- <sup>74</sup> O'BRIEN, S. J., NELSON, G.W. Human genes that limit AIDS, **Nat Genet**, v. 36, n.6, p.565-574, 2004.
- <sup>75</sup> CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION CDC. 1993 Revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. **MMWR Morb Mortal Wkly Rep**, v.41, p.RR17, 1992.
- <sup>76</sup> LEVY, J.A. HIV pathogenesis: 25 years of progress and persistent challenges. **AIDS**, v. 23, p.147–160, 2009.
- <sup>77</sup> SÁEZ-CIRIÓN, A., PANCINO, G., SINET, M., et al. HIV controllers: how do they tame the virus? **Trends Immunol**, v.12, p. 532-40, 2007.
- <sup>78</sup> SILICIANO, R.F., Perspective Scientific Rationale for Antirretroviral Therapy in 2005: Viral Reservoirs and Resistance Evolution, **Inter. AIDS Society–USA**, v. 13, p.96-100, 2005.
-

- <sup>79</sup> OKIE, S. Fighting HIV - lessons from Brazil. **N Engl J Med**, v.354, p.1977-1981, 2006.
- <sup>80</sup> CARBONE, A., CESARMAN, E., SPINA, M., et al. HIV-associated lymphomas and gamma-herpesviruses. **Blood**, v. 113, p.1213-1224, 2009.
- <sup>81</sup> LEGOFF, J., AMIEL, C., CALISONNI, O., et al. Early impairment of CD8+ T cells immune response against Epstein-Barr Virus (EBV) antigens associated with high level of circulating mononuclear EBV DNA load in HIV infection. **J Clin Immunol**, v. 24, n. 2, p. 125-133, 2004.
- <sup>82</sup> SONG, J., OHKURA, T., SUGIMOTO, M., et al. Human interleukin-6 induces human herpesvirus-8 replication in a body cavity-based lymphoma cell line. **J Med Virol**, v. 68, n. 3, p. 404–411, 2002.
- <sup>83</sup> TEDESCHI, R., ENBOM, M., BIDOLI, E., et al. Viral Load of Human Herpesvirus 8 in Peripheral Blood of Human Immunodeficiency Virus-Infected Patients with Kaposi's Sarcoma. **J Clin Microbio**, v. 29, n.12, p. 4269-4273, 2001.
-

*Manuscrito*

---

---

## Pesquisa de Gamaherpesvírus em pacientes portadores do Vírus da Imunodeficiência Humana.

Ana Paula Ferraz da Silva (FERRAZ DA SILVA, AP)( BSc)<sup>1</sup> ; Leila Bertoni Giron (GIRON, LB) (BSc)<sup>1</sup>; Suzane Ramos da Silva (RAMOS DA SILVA, S) (MSc, PhD)<sup>1</sup>; Alexandre Naime Barbosa (BARBOSA, NA) (MD, MSc)<sup>2</sup> ; Carolyne Chaves (CHAVES, C) (MD)<sup>2</sup>; Ricardo Augusto Monteiro de Barros Almeida (ALMEIDA, RAMB) (MD, PhD)<sup>2</sup>; Lenice do Rosário de Souza (SOUZA, LRS) (MD, PhD)<sup>2</sup>; Domingos Alves Meira (MEIRA, DA) (MD, PhD)<sup>2</sup>; Deilson Elgui de Oliveira (ELGUI DE OLIVEIRA, D) (PhD)<sup>1</sup>.

1. Departamento de Patologia, FMB – UNESP Botucatu, SP.
2. Departamento de Doenças Tropicais e Diagnóstico por Imagem, FMB – UNESP Botucatu, SP.

### Correspondência:

Ana Paula Ferraz da Silva

Faculdade de Medicina de Botucatu

Departamento de Patologia – Laboratório de Patologia Molecular

Rubião Júnior s/n - 18618-970

FAX: +55 14-3815-2348 / Telefone: +55 14-3811-6238

e-mail: [ap.ferraz@patologiamolecular.net](mailto:ap.ferraz@patologiamolecular.net)

Fontes de Apoio: Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo – Fapesp

Running head: KSHV/HHV-8 e EBV em pacientes portadores do HIV

Apresentado conforme instruções da revista Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes (AIDS), exceto que figuras e tabelas são apresentadas no corpo do manuscrito para facilitar a leitura.

---

---

## RESUMO

**Objetivo:** Verificar a hipótese de que a infecção pelo EBV e/ou KSHV/HHV-8 pode ter reflexos na evolução clínica de pacientes portadores do HIV, com potencial associação com parâmetros epidemiológicos, demográficos e clínico-laboratoriais.

**Casuística:** Foram analisadas 4 amostras de sangue periférico em intervalos aproximados de 4 meses de 157 pacientes portadores do HIV.

**Métodos:** As cargas virais do EBV e do KSHV/HHV-8 em células mononucleares de sangue periférico (PBMC) foram determinadas por PCR quantitativa em tempo real (qPCR).

**Resultados:** Para todos os momentos avaliados foi observada maior carga viral do EBV em pacientes com elevada viremia do HIV e nos pacientes com falha terapêutica. Observou-se que a persistência da detecção da carga do EBV em 8 e 12 meses foi frequentemente maior nos pacientes em falha terapêutica ( $p=0,0356$  e  $p=0,0307$ ). Em relação à pesquisa do KSHV/HHV-8, apenas uma amostra foi positiva.

**Conclusões:** O aumento na carga viral do EBV em PBMC está relacionado com a deterioração do sistema imunitário nos indivíduos sob HAART, mas com falha terapêutica. A baixa frequência da detecção do KSHV/HHV-8 está possivelmente associada à baixa carga viral do vírus em PBMC, efeito presumivelmente associado ao tratamento antirretroviral.

**Palavras-Chave:** EBV, KSHV/HHV-8, HIV, carga viral, qPCR.

---

## INTRODUÇÃO

O Vírus de Epstein-Barr (*Epstein-Barr Virus* - EBV) e o vírus associado ao sarcoma de Kaposi (*Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus* - KSHV) também denominado Herpesvírus humano tipo 8 (*Human Herpesvirus type 8* - HHV-8), são gamaherpesvírus associados ao desenvolvimento de doenças linfoproliferativas e cânceres em humanos<sup>1</sup>. O EBV está relacionado com o desenvolvimento do linfoma de Burkitt endêmico africano, o carcinoma indiferenciado de nasofaringe, e parcela dos casos de linfomas de Hodgkin e não-Hodgkin<sup>2</sup>. O KSHV, por outro lado, é agente causal do sarcoma de Kaposi (SK) e também está associado ao desenvolvimento da doença de Castleman multicêntrica (Multicentric Castleman Disease - MCD) e do linfoma de efusão primária (Primary Effusion Lymphoma - PEL), notadamente em indivíduos imunocomprometidos<sup>3</sup>.

Em pacientes infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (*Human Immunodeficiency virus* – HIV) o risco de se desenvolver certos linfomas não-Hodgkin, como o linfoma de Burkitt, o linfoma difuso de grandes células B, o linfoma plasmoblástico da cavidade oral e o linfoma polimórfico de células B, é aumentado de 60-200 vezes em comparação a população normal<sup>4</sup>. Em relação ao Linfoma de Hodgkin clássico, a incidência é de 8-10 vezes maior em indivíduos portadores do HIV<sup>5</sup>. O SK é a neoplasia maligna mais comum entre os pacientes portadores do HIV e foi uma das principais causas de morbidade e mortalidade nos pacientes com a síndrome da imunodeficiência adquirida (*Acquired Immunodeficiency Syndrome* – AIDS). Em média, o risco de desenvolvimento do SK em portadores do HIV era, 10.000 vezes superior à observada na população em geral no início da epidemia da aids<sup>6</sup>, mas a incidência da doença nesses pacientes foi reduzida em cerca de 6 vezes após a introdução da terapia antirretroviral potente combinada (*Highly active antiretroviral therapy* – HAART), em 1997<sup>7</sup>.

Nos últimos anos a quantificação das cargas virais do EBV e do KSHV/HHV-8 tem sido avaliada como potenciais marcadores para o monitoramento do desenvolvimento e evolução de cânceres associados aos vírus, incluindo linfomas associados à aids<sup>8-12</sup>. Curiosamente, alguns estudos indicam que pacientes infectados pelo HIV submetidos ou não à HAART apresentam

níveis semelhantes da carga viral do EBV em sangue periférico<sup>13,14</sup>. Por outro lado, pacientes sob HAART apresentam diminuição da carga viral do KSHV/HHV-8 e do risco de desenvolver SK<sup>15</sup>. De fato, o risco de desenvolvimento do SK em pacientes com o HIV tem relação com a detecção do vírus em células mononucleares de sangue periférico (*Peripheral Blood Mononuclear Cells* – PBMC) e a carga viral se associa com a severidade da doença<sup>16,17</sup>. Também no PEL têm sido relatado que o número de cópias do KSHV/HHV-8 em PBMCs varia dependendo do estágio da doença<sup>18,19</sup>.

Atualmente está sendo delineada a importância da pesquisa do EBV e do KSHV/HHV-8 no monitoramento do desenvolvimento e evolução de cânceres associados a esses vírus em pacientes portadores do HIV. Entretanto, ainda são exíguos os dados na literatura sobre a detecção desses gamaherpesvírus durante o curso da infecção pelo HIV. Por essa razão, o presente estudo avaliou prospectivamente pacientes portadores do HIV quanto à carga viral em sangue periférico do EBV e do KSHV/HHV-8, associando os resultados obtidos com parâmetros epidemiológicos, demográficos e clínico-laboratoriais.

## PACIENTES E MÉTODOS

### Pacientes e amostras

A execução do presente estudo foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa (Parecer #374/2008) da Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (UNESP). Foram avaliados prospectivamente 157 pacientes portadores do HIV atendidos no Hospital-dia de HIV/Aids da FMB-UNESP. Foram incluídos no estudo indivíduos portadores do HIV com idade superior a 18 anos, sem diagnóstico de doenças proliferativas associadas ao EBV ou ao KSHV/HHV-8 e somente aqueles tratados exclusivamente com drogas antirretrovirais fornecidas pelo governo Federal Brasileiro e que não participavam de pesquisas clínicas para avaliação de novos fármacos ou novos protocolos terapêuticos.

Mediante consentimento livre e esclarecido, foram efetuadas 4 coletas de amostras de sangue de cada um dos pacientes portadores do HIV incluídos no estudo em intervalos de aproximadamente 4 meses. As coletas realizadas correspondem aos denominados momentos 0, 1, 2, e 3 do estudo, em que foram

obtidas amostras para 157 (100%), 153 (97,4%), 137 (87,3%) e 115 (73,2%) dos 157 pacientes recrutados, respectivamente.

### **Extração do DNA**

As amostras de sangue foram obtidas por venopunção periférica de rotina e acondicionadas em tubos BD Vacutainer® de 4 mL contendo EDTA (Beckson-Dickson, Rutherford, NJ, EUA). Após a separação de PBMC pela centrifugação com Histopaque® (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, EUA), foi realizada a extração do DNA com o sistema *QIAamp DNA Blood Midi Kit*® (Qiagen, Valencia, CA), conforme instruções fornecida pelo fabricante. O DNA extraído foi ressuspendido a 200µL, quantificado por microespectrofotometria UV com o equipamento NanoVue (GE Healthcare, Boston, MA) e estocado a -20°C.

### **Pesquisa do EBV e do KSHV/HHV-8.**

As pesquisas de EBV e do KSHV/HHV-8 foram realizadas por meio da técnica de reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real (qPCR) com sistema *Taqman*® em termociclador Rotor-Gene 6000 (*Corbett Research*, Mortlake, Austrália). Em cada reação foram utilizados 4 µL do DNA extraído de PBMC dos pacientes portadores do HIV, 12,5 µL do reagente *Taqman*® Universal Master Mix (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), iniciadores na concentração final de 0,30 µM e a respectiva sonda *Taqman*® na concentração de 0,15 µM ou 0,10 µM para o EBV ou KSHV/HHV-8, respectivamente. O perfil de ciclagem para a pesquisa do EBV foi 50°C-2 min, 95°C-15 min, seguido de 45 ciclos de 95°C-20s e 60°C-60s, e a do KSHV/HHV-8 foi 50°C-2 min, 95°C-10 min, seguido de 45 ciclos de 94°C-40s e 60°C-90s. Todos iniciadores e a sonda *Taqman*® para os experimentos de qPCR estão indicado no Quadro 1.

Para a pesquisa e quantificação das cargas virais do EBV e do KSHV/HHV-8 foram utilizadas curvas-padrão preparadas a partir da diluição seriada 1:10 de amostras comerciais de DNA genômico viral (*Advanced Biotechnologies*, Columbia, MD, USA ). Amostras do DNA genômico do EBV e do KSHV/HHV-8 eram derivadas, respectivamente, da linhagem B95-8 (células linfoblastóides de macaco) e de linhagem KS-1 (células de PEL). Após a diluição foram obtidas amostras-referência com carga viral entre  $1,1 \times 10^7$  até  $1,1 \times 10^2$  cópias virais/reação nos experimentos de qPCR.

A fim de expressar a carga do EBV e do KSHV/HHV-8 em número de cópias virais por PBMC, o número de células correspondente à quantidade de



---

DNA das amostras foi estimado pela amplificação de segmento do retrovírus endógeno humano 3 (*Endogenous Retrovirus 3* - ERV-3) por qPCR, conforme previamente descrito<sup>20</sup>. Um plasmídeo contendo a sequência completa do ERV-3, gentilmente doado pela Dra. Denise Whitby do Instituto Nacional do Câncer dos EUA (*National Cancer Institute at Frederick*, Frederick, MD, USA), foi empregado para preparação de curva-padrão 1:10 com pontos abrangendo de  $4,8 \times 10^5$  até  $4,8 \times 10^1$  células por reação. As reações para ERV-3 foram preparadas empregando-se os iniciadores descritos por Yuan e colaboradores (2001)<sup>20</sup> (Quadro 1), e as concentrações de componentes previamente descritas para a pesquisa e quantificação do EBV. O perfil de termociclagem empregado no experimento para ERV-3 foi 50°C-2 min, 95°C-10 min e 45 ciclos de 95°C-20s e 58°C-60s.

Em todos os experimentos as amostras-teste, amostras-referência (curva-padrão) e controles negativos sem-DNA (*No template Control* – NTC) foram avaliadas em duplicatas.

---

Quadro 1 - Sequências dos oligonucleotídeos (iniciadores e sondas *Taqman*®) para análise qualitativa e quantitativa do EBV e do KSHV/HHV-8 por qPCR, bem como para a estimativa do número de células correspondente à quantidade de DNA nas amostras dos pacientes portadores do HIV pela amplificação do ERV-3.

Oligonucleotídeo	Sequencia (5'-3')*	Ref.
<b>KSHV/HHV-8, ORF-73</b>		
KSHVO73.S	CCG AGG ACG AAA TGG AAG TG	21
KSHVO73.A	GGT GAT GTT CTG AGT ACA TAG CGG	
KSHVO73.tm (Sonda)	[6-FAM]- ACA AAT TGC CAG TAG CCC ACC AGG AGA -[BHQ1]	
<b>EBV, gene BGLF5</b>		
BGLF.S	CCT CTT TTC CAA GTC AGA ATT TGA C	22
BGLF.A	TGA CCT CTT GCA TGG CCT CT	
BGLF.tm (Sonda)	[6-FAM]- CCA TCT ACC CAT CCT ACA CTG CGC TTT ACA - [BHQ1]	
<b>Sequência ERV-3 no genoma humano</b>		
PHP10.S	CAT GGG AAG CAA GGG AAC TAA TC	20
PHP10.A	CCC AGC GAG CAA TAC AGA ATT T	
PHP-P505.tm (Sonda)	[6-FAM] - TCT TCC CTC GAA CCT GCA CCA TCA AGT CA - [BHQ1]	

\* Marcações da sonda *Taqman*®: [6-FAM] - 6-carboxy fluorescein (*senalizador*); [BHQ1] - *black hole quencher 1* (inibidor)

## ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foram analisadas as possíveis associações/correlações entre a idade, sexo, opção sexual declarada, via presumida de contágio pelo HIV, tempo estimado de infecção pelo HIV, estágio da infecção retroviral segundo classificação dos Centros para Controle de Doenças dos EUA (*Centers for Disease Control – CDC*), viremia do HIV, contagem de linfócitos T CD<sub>4</sub><sup>+</sup> e T CD<sub>8</sub><sup>+</sup> circulantes e resposta à terapia antirretroviral.

Em relação à resposta ao tratamento antirretroviral os pacientes foram categorizados em 5 grupos, a saber: sem dados disponíveis, sem tratamento com HAART há pelo menos 6 meses, com HAART e sem falha terapêutica virológica (viremia HIV inferior a 50 cópias/mL após pelo menos 6 meses utilizando continuamente o mesmo esquema de drogas), com HAART e sob falha terapêutica virológica (viremia HIV detectável/superior a 50 cópias/mL após pelo menos 6 meses utilizando HAART continuamente), ou inclassificável, no caso de pacientes em situação distintas das mencionadas.

A fim de analisar a recorrência da detecção dos gamaherpesvírus em PBMC nas amostras de diferentes momentos de cada paciente portador do HIV, definiu-se como persistência viral em 8 ou 12 meses a presença de carga viral superior à zero em dois ou três momentos consecutivos, respectivamente, durante o seguimento.

O teste de Mann-Whitney e o teste exato de Fisher foram utilizados para análise de eventual associação entre os dados de sexo e idade dos pacientes ou sexo e opção sexual declarada, respectivamente. Para a análise entre a carga viral do EBV e a resposta ao tratamento antirretroviral para os momentos 0, 1, 2 e 3, foi utilizado o teste de Qui-quadrado. Na análise das correlações entre idade, tempo estimado de infecção retroviral, viremia do HIV-1 (cópias virais/mm<sup>3</sup> de sangue ) e contagem de linfócitos T CD<sub>4</sub><sup>+</sup> e T CD<sub>8</sub><sup>+</sup> em relação a carga viral do EBV (cópias/ 10<sup>6</sup>células) nos diferentes momentos da análise foi utilizado Teste de Spearman. Para a análise da persistência de infecção pelo EBV em 8 e 12 meses tendo como covariáveis a idade, sexo, opção sexual declarada, via presumida de contágio do HIV, viremia do HIV, contagem de linfócitos T CD<sub>4</sub><sup>+</sup> e T CD<sub>8</sub><sup>+</sup> e classificação CDC, foi ajustado modelo logístico e utilizada análise de desvio (*deviance*) para testar os efeitos das covariáveis. A associação entre a carga viral do EBV ao longo de todo o seguimento (aproximadamente 12 meses) com a resposta ao tratamento antirretroviral, contagem de linfócitos T CD<sub>4</sub><sup>+</sup> e T CD<sub>8</sub><sup>+</sup> e a viremia do HIV, foi realizada empregando modelo aditivo generalizado semi-paramétrico misto.

Em todas as análises, foram consideradas significativas às associações e correlações que apresentaram  $p \leq 0,05$  e tendências as que possuíram  $0,05 \leq p \leq 0,1$ . Todas as análises estatísticas foram realizadas com o software SAS/STAT versão 9.1.3 (SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA).

## RESULTADOS

### Descrição da casuística

Do total de 157 pacientes portadores do HIV avaliados, 92 (58,6%) eram do sexo masculino e 65 (41,4%) do feminino. As médias de idade dos pacientes do sexo masculino e feminino foram de 42,5 anos e 38,1 anos, respectivamente, sendo que a diferença se revelou significativa ( $p = 0,003$ ; Teste de Mann-Whitney) (Tabela 1). Em relação à opção sexual declarada pelos pacientes, 124/157 (78,9%) relataram ser heterossexuais e 33/157 (21,0%) bissexuais ou homens que mantinham relacionamento sexual com outros homens (HSH). No sexo masculino, 60/92 (65,2%) se declararam heterossexuais, 18/92 (19,6%) bissexuais e 14/92 (15,2%) HSH. No sexo feminino, 64/65 (98,5%) se declararam heterossexuais e 1/65 (1,5%) se declarou bissexual. As diferenças na frequência das opções sexuais declaradas pelos pacientes dos sexos masculino e feminino também foram significativas ( $p < 0,001$ ; Teste exato de Fisher).

Tabela 1. - Sexo e idade dos pacientes portadores do HIV incluídos no estudo.

Grupo	n (%)	Idade						Faixa etária (anos)
		Média (anos)	DP (anos)	CV (%)	Mediana (anos)	P <sub>25</sub>	P <sub>75</sub>	
<b>Sexo feminino</b>	65 (41,4)	38,1	10,1	26,5	35*	31	46	18 – 64
<b>Sexo masculino</b>	92 (58,6)	42,5	10,2	23,9	41,5*	35	48	24 – 70
<b>Total</b>	157 (100)	40,7	10,3	25,4	40	33	48	18 – 70

DP: desvio padrão; CV: coeficiente de variação; P<sub>25</sub> e P<sub>75</sub>: percentis 25 e 75, respectivamente. \* $p = 0,005$  (Teste de Mann-Whitney).

Dentre os pacientes cujo comprometimento pela infecção pelo HIV pode ser estabelecido com base na classificação CDC ( $n=152$ ), 10 (6,6%) eram assintomáticos e ainda não haviam exibido redução significativa do nível de células T CD<sub>4</sub><sup>+</sup> circulantes (A1), enquanto 65 (42,8%) foram enquadrados no estágio mais avançado da doença (C3). Pelo menos metade dos pacientes do estudo havia apresentado doenças associadas à aids em algum momento da infecção retroviral (CDC Categoria C; 50,7%) ou alcançado níveis de linfócitos T CD<sub>4</sub><sup>+</sup> abaixo de 200 células/ $\mu$ L (CDC Categoria 3; 59,9%).

### Pesquisa do EBV e do KSHV/HHV-8 em PBMC

Os experimentos de qPCR para a estimativa da carga viral do EBV, do KSHV/HHV-8 e do número de células pela amplificação do ERV-3 apresentaram valores sempre superiores a 0,988, 0,984, 0,999 de  $R^2$ , 0,90; 0,87; 0,83 de eficiência, e -3,658; -3,613; -3,824 de slope, respectivamente. Esses resultados oscilam em torno dos valores ideais e atestam a qualidade dos resultados obtidos. Experimentos representativos da pesquisa do EBV, do KSHV/HHV-8 e da estimativa do número de células por amostra pela amplificação do ERV-3 são apresentados na Figura 1.

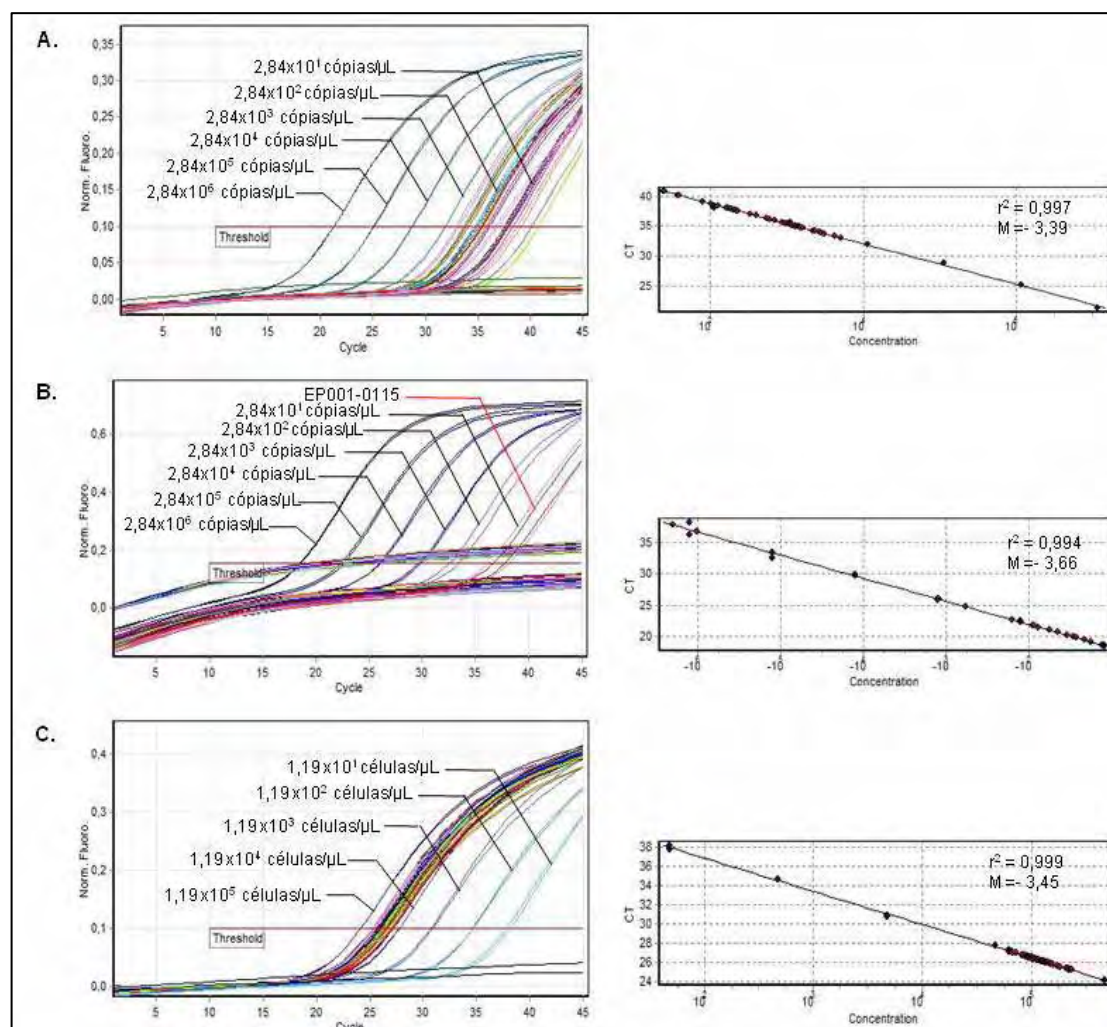


Fig.1. Gráficos de amplificação de experimentos representativos da pesquisa do EBV (A), do KSHV/HHV-8 (B) e da estimativa da quantidade de células (C), pela amplificação por qPCR de segmento dos gene BGLF5, da ORF-73 e do ERV-3 humano, respectivamente.

A determinação da carga viral do EBV em PBMC resultou maior que zero em 125/157 (79,6%) amostras do momento 0, 118/152 (77,6%) do momento 1, 101/137 (73,7%) do momento 2 e 81/117 (69,2%) do momento 3.

Foi verificada correlação linear positiva entre a carga viral do EBV e o tempo de infecção pelo HIV para as amostras dos momentos 0, 2 e 3 do estudo. Assim, pacientes com maior tempo de infecção retroviral em geral possuíam maior carga viral do EBV em PBMC. Para todos os momentos avaliados foi observada maior carga viral do EBV em pacientes com elevada viremia do HIV. Não foram notadas correlações significativas com os níveis de linfócitos T CD<sub>4</sub><sup>+</sup>, mas foi notada correlação linear positiva com os níveis de linfócitos T CD<sub>8</sub><sup>+</sup> ao se avaliar as amostras dos momentos 0 e 1 do estudo. Não foram notadas correlações entre idade do paciente na ocasião de recrutamento e a carga viral do EBV em qualquer um dos momentos avaliados. Os resultados dessas análises são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Resultados das correlações avaliadas envolvendo a carga viral do EBV com a idade do paciente portador do HIV, tempo estimado de infecção retroviral, viremia do HIV e contagem de linfócitos T CD<sub>4</sub><sup>+</sup> e T CD<sub>8</sub><sup>+</sup> circulantes.

Parâmetros	Carga viral do EBV (cópias/célula)			
	Momento 0	Momento 1	Momento 2	Momento 3
Idade (anos)	rho= 0,028 p= 0,731	rho= - 0,029 p= 0,723	rho= - 0,044 p= 0,612	rho= - 0,082 p= 0,383
Tempo estimado de infecção (anos)	<b>rho= 0,242</b> <b>p= 0,002</b>	rho= 0,125 p= 0,128	<b>rho= 0,213</b> <b>p= 0,013</b>	<b>rho= 0,235</b> <b>p= 0,0096</b>
Carga HIV (cópias/mm <sup>3</sup> )	<b>rho= 0,319</b> <b>p&lt;0,0001</b>	<b>rho= 0,393</b> <b>p&lt;0,0001</b>	<b>rho= 0,387</b> <b>p&lt; 0,0001</b>	<b>rho= 0,248</b> <b>p= 0,0122</b>
Linfócitos T CD <sub>4</sub> <sup>+</sup> (células/mm <sup>3</sup> )	rho= - 0,036 p=0,659	rho= -0,089 p=0,288	rho= - 0,057 p= 0,519	rho= 0,036 p=0,706
Linfócitos T CD <sub>8</sub> <sup>+</sup> (células/mm <sup>3</sup> )	<b>rho= 0,182</b> <b>p=0,027</b>	<b>rho= 0,210</b> <b>p&lt;0,0001</b>	rho= 0,134 p=0,127	rho= 0,121 p=0,209

\* rho: Estimativa do coeficiente de correlação linear de Spearman.

Na figura 2 estão representadas as análises entre as cargas virais do EBV nos quatro momentos do estudo em relação à resposta dos pacientes ao tratamento antirretroviral. Em todos os momentos foi observado que os pacientes com falha terapêutica em relação ao tratamento antirretroviral apresentavam carga viral do EBV em PBMC significativamente maior que os pacientes sem

falha. Adicionalmente, nos momentos 0 e 1 a carga viral do EBV em pacientes sem tratamento foi significativamente superior à de pacientes em HAART, mas sem falha terapêutica.

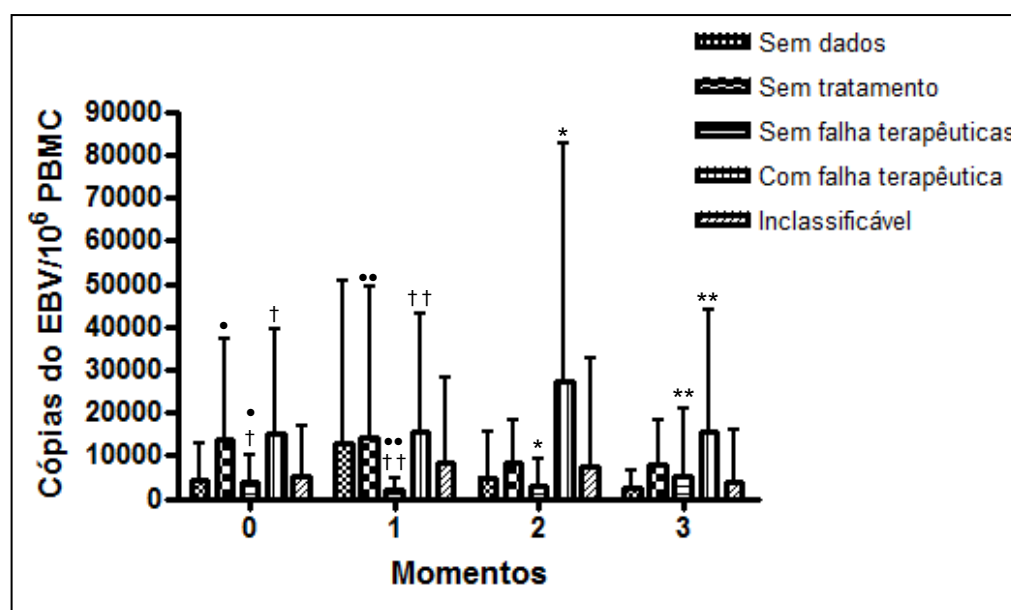


Fig.2. Carga viral do EBV nas amostras dos pacientes portadores do HIV correspondente aos momentos 0, 1, 2 e 3 analisadas de acordo com a resposta obtida ao tratamento antirretroviral. Diferenças significativas e biologicamente relevantes: •  $p=0,0017$ ; ••  $p<0,0001$ ; †  $p=0,0016$ ; ††  $p<0,0001$ ; \*  $p<0,0001$ ; \*\*  $p=0,0525$  (Teste do Qui quadrado).

Pacientes em falha terapêutica mais frequentemente apresentaram persistência da detecção da carga viral do EBV em 8 e 12 meses ( $p=0,0356$  e  $p=0,0307$ , respectivamente. Análise de desvio). Por outro lado, pacientes com maior tempo estimado de infecção pelo HIV mais frequentemente apresentaram persistência na detecção da carga do EBV em 12 meses ( $p=0,0025$ , análise de desvio), mas essa associação não se mostrou significativa ao se avaliar a persistência em 8 meses. Curiosamente, notou-se ainda tendência de que pacientes com persistência de detecção da carga viral do EBV em 12 meses apresentassem maiores níveis de linfócitos T  $CD_8^+$  na ocasião de recrutamento ( $p=0,0632$ , análise de desvio). Não foram significativos os resultados das análises relacionando persistência do EBV e idade, sexo, opção sexual declarada, vias presumidas de contágio pelo HIV, classificação CDC, viremia do HIV e contagem de linfócitos T  $CD_4^+$ .

Ao longo do seguimento do estudo verificou-se que os pacientes com falha terapêutica em geral apresentaram maiores níveis de carga viral do EBV em

PBMC ( $p < 0,0001$ , análise de desvio). Também foi notada tendência de que os pacientes com baixos níveis de linfócitos T  $CD_4^+$  na ocasião do recrutamento apresentassem maior carga viral para o EBV ( $p = 0,074$ ; análise de desvio). Em relação aos níveis de linfócitos T  $CD_8^+$ , entretanto, não foi notada correlações significativas. Houve correlação significativa entre carga viral do EBV e a viremia do HIV na ocasião do recrutamento, tal que pacientes com alta viremia do HIV apresentaram carga viral do EBV elevada ao longo de todo o seguimento ( $p < 0,0001$ ; análise de desvio).

Em relação à pesquisa do KSHV/HHV-8, em nenhuma das amostras dos momentos 0, 2 e 3 a presença do genoma viral foi consistentemente detectada. No momento 1, apenas uma amostra foi positiva, com carga viral de 1.300 cópias/ $10^6$  PBMC, abaixo da menor concentração do genoma do KSHV/HHV-8 na curva-padrão (vide Fig. 1B). Em virtude da quase nulidade de amostras que tiveram carga viral do KSHV/HHV-8 detectável, não foram possíveis as análises relacionando esse parâmetros com os demais disponíveis para os pacientes portadores do HIV incluídos no estudo.



## DISCUSSÃO

Indivíduos portadores do HIV com imunocomprometimento importante tornam-se vulneráveis à infecção por vírus com potencial oncogênico, notadamente o EBV e o KSHV/HHV-8<sup>2</sup>. Com a introdução da HAART, a incidência do SK foi drasticamente reduzida nessa população<sup>6</sup>; por outro lado, dados presentes na literatura sugerem que a HAART apresenta baixa eficiência na prevenção de linfomas associados ao EBV<sup>8</sup>.

Nos estudos publicados nos quais é realizada a quantificação absoluta de carga viral em PBMC, além de diferenças metodológicas há importante variação na maneira de se expressar os resultados obtidos, o que dificulta a comparação entre trabalhos. Em relação ao EBV, por exemplo, alguns apresentam os resultados como cópias do genoma viral por volume (mL) de sangue periférico<sup>14, 23, 24</sup>, outros como cópias do genoma viral por massa ( $\mu$ g) de DNA total da amostra<sup>25, 26</sup>, ou ainda como número de cópias do genoma viral pelo número estimado de células da amostra (e.g., por  $10^6$  PBMC)<sup>9, 17, 19, 27, 28</sup>. Esta última abordagem foi a escolhida para o presente estudo, visto que favorece a interpretação da relevância biológica da infecção viral nos organismos.

A carga viral estimada do EBV em PBMC foi superior a zero em 79,6% (125/157), 77,6% (118/152), 73,7% (101/137) e 69,2% (81/117) das amostras correspondente aos momentos 0, 1, 2 e 3, respectivamente. Ling e colaboradores (2003) descreveram a detecção do EBV em 81% dos 70 pacientes portadores do HIV-1 que estavam sob o tratamento com a HAART. Embora nesse estudo o vírus tenha sido detectado mais frequentemente nas amostras de pacientes com baixos títulos de linfócitos T CD<sub>4</sub><sup>+</sup> circulantes, os autores relatam que os níveis da carga viral do EBV em PBMC não tiveram relação com os níveis de linfócitos T CD<sub>4</sub><sup>+</sup> e a viremia do HIV<sup>29</sup>. Por outro lado, Panagiotakis e colaboradores (2007) não observaram associação entre os níveis de linfócitos T CD<sub>4</sub><sup>+</sup> e a detecção do EBV em PBMC, mas esse herpesvírus foi mais frequentemente detectado em pacientes com viremia do HIV superior a 50 cópias/mL<sup>23</sup>. De maneira semelhante ao observado por Ling e colaboradores, no presente estudo não foi observada relação significativa entre a carga viral do EBV em PBMC e os níveis de linfócitos T CD<sub>4</sub><sup>+</sup>; entretanto, nos momentos 0, 1, 2 e 3 verificou-se que os pacientes com

elevada viremia do HIV na ocasião do recrutamento apresentaram maior carga viral do EBV.

Curiosamente, foi notada correlação significativa entre a carga do EBV em PBMC e os níveis de linfócitos T  $CD_8^+$  com as amostras que correspondem aos primeiros 8 meses de seguimento de cada paciente (momentos 0 e 1). Ainda que os níveis de carga do EBV em PBMC possam não estar diretamente relacionados aos níveis de linfócitos T  $CD_4^+$  no paciente portador do HIV, um comprometimento mais severo do sistema imunitário - que é acompanhado de intensa replicação retroviral - deve propiciar a replicação do EBV e sua disseminação pelo organismo. Esse fenômeno possivelmente tem reflexos nos níveis de linfócitos T  $CD_8^+$  em virtude do aumento da expressão de antígenos do EBV nas células infectadas, o que propicia a expansão da população de linfócitos T citotóxicos. Saliente-se que é descrito que pacientes portadores do HIV coinfectados pelo EBV apresentam prejuízo funcional dos linfócitos T  $CD_8^+$ , ainda que não seja verificada diminuição nos níveis circulantes dessas células. A deficiência na atividade dos linfócitos T  $CD_8^+$  está relacionada com o comprometimento da população de linfócitos T  $CD_4^+$ , o que propicia o aumento da replicação do EBV<sup>9, 28</sup>. Essas observações estão em sintonia com os resultados obtidos sobre a relação entre níveis aumentados de linfócitos T  $CD_8^+$  circulantes nos pacientes portadores do HIV recrutados e a elevada carga viral do EBV em PBMC.

Ainda não são claras as consequências clínicas da persistência de carga viral detectável ou mesmo elevada do EBV em PBMC de pacientes portadores do HIV<sup>24</sup>. Em estudo prospectivo, Stevens e colaboradores (2002) descreveram que em pacientes com e sem HAART, a persistência de elevada carga do EBV em PBMC pode ser um fenômeno comum, consequência da deficiente resposta imunitária específica para o vírus; entretanto, ela não se expressa necessariamente com o desenvolvimento de doenças associadas ao EBV<sup>14</sup>. De fato, no presente estudo não foram identificados sinais clínicos do desenvolvimento de doenças associadas ao EBV nos pacientes que persistentemente apresentaram carga viral elevada do vírus.

Até onde pode ser verificado, não há na literatura outros estudos que avaliaram a relação entre a persistência do EBV em PBMC de pacientes portadores do HIV com os níveis de linfócitos T  $CD_8^+$  e o tempo de infecção retroviral. As associações da persistência do EBV em 8 e 12 meses com o tempo

estimado de infecção pelo HIV no presente estudo revelou-se significativa. Por outro lado, foi notada uma tendência de associação entre os níveis de linfócitos T CD<sub>8</sub><sup>+</sup> ao recrutamento com persistência do EBV em 12 meses. Assim, indivíduos com maior tempo de infecção retroviral e aqueles com elevados níveis de linfócitos T CD<sub>8</sub><sup>+</sup> foram os que apresentaram maior frequência de persistência do EBV em PBMC. Uma possível explicação para esses resultados é a de que os indivíduos infectados pelo HIV por mais tempo devem apresentar maior degradação do sistema imunitário, o que favorece a replicação do EBV e consequentemente a ativação de resposta citotóxica (ainda que ineficiente), proporcionando aumento nos níveis de linfócitos T CD<sub>8</sub><sup>+</sup> circulantes.

O uso da terapia antirretroviral proporciona aumento no número de linfócitos T CD<sub>4</sub><sup>+</sup> e diminuição da carga do HIV. Em indivíduos coinfectados com o EBV que fazem uso da HAART, é relatado que o tratamento antirretroviral parece não proporcionar mudanças significativas na carga viral do EBV <sup>23,30,31</sup> apesar de proporcionar redução nos níveis de reativação do vírus e restauração da resposta dos linfócitos T citotóxicos específicos<sup>27</sup>. Curiosamente, no presente estudo a carga viral do EBV em PBMC foi significativamente maior em pacientes sob tratamento antirretroviral e com falha terapêutica em comparação aos pacientes sem falha. Uma possível explicação para esse aparente paradoxo é que a falha da terapia antirretroviral esteja refletindo a degradação do sistema imunitário, o que pode ser notado pelos níveis reduzidos de linfócitos T CD<sub>4</sub><sup>+</sup> e aumento da viremia retroviral. Esse cenário favorece a replicação lítica do EBV, conforme previamente mencionado. Assim, tendo como substrato o grau de comprometimento do sistema imunitário do paciente portador do HIV, pode-se vislumbrar uma associação entre falha terapêutica, mudanças nas proporções de linfócitos T CD<sub>4</sub><sup>+</sup> e T CD<sub>8</sub><sup>+</sup>, aumento na viremia retroviral e da carga viral do EBV em PBMC.

Em relação ao KSHV/HHV-8, há dados suficientes indicando que a HAART de fato tem efeito negativo na carga viral em sangue periférico, ocasionando diminuição no risco de desenvolvimento de SK nos pacientes portadores do HIV <sup>8, 32,33</sup>. Trabalhos recentes têm demonstrado interação entre os produtos do KSHV/HHV-8 e do HIV, indicando que esses vírus devem atuar de maneira sinérgica no desenvolvimento de algumas neoplasias associadas à aids <sup>34</sup>. Sabe-se que distúrbios no sistema imunitário favorecem a infecção pelo KSHV/HHV-8<sup>35</sup>.

<sup>36</sup>, contribuindo na patogênese de cânceres associados ao vírus, notadamente pela alteração nos níveis de citocinas inflamatórias e pró-angiogênicas<sup>32</sup>. O tratamento com drogas antirretrovirais presumivelmente promove algum restabelecimento da resposta imunitária contra o KSHV/HHV-8<sup>37</sup>, razão pela qual desfavorece o desenvolvimento do SK em pacientes portadores do HIV sob HAART.

Em estudo publicado em 2004, Albrecht e colaboradores detectaram o KSHV/HHV-8 em 21/260 (7,8%) pacientes portadores do HIV sem SK. Os autores referem baixa carga viral em sangue periférico e relativa baixa sensibilidade da pesquisa do KSHV/HHV-8 pela PCR, tendo em vista o tipo de amostra e a população avaliada. Ressaltam ainda que detecção mais frequente do KSHV/HHV-8 poderia verificada na vigência de replicação do herpesvírus; entretanto, é sabido que células circulantes apresentam majoritariamente ciclo latente de infecção pelo KSHV/HHV-8 <sup>38</sup>. Digno de nota, mesmo empregando métodos de elevada sensibilidade como a qPCR, Pellet e colaboradores (2001) não detectaram o KSHV/HHV-8 (0/8; 0%) em sangue periférico de pacientes portadores do HIV com SK e submetidos a tratamento com drogas antirretrovirais <sup>39</sup>.

Em trabalho mais recente (2009), o KSHV/HHV-8 foi detectado por qPCR em 37/125 (29,6%) amostras de sangue periférico de pacientes portadores do HIV. Dos 125 pacientes analisados, 58 (46,4%) faziam uso da terapia antirretroviral e 67 (53,6%) não recebiam o tratamento. A detecção do KSHV/HHV-8 foi menor no grupo dos pacientes sob tratamento antirretroviral (12/58; 20,7%), quando comparado ao dos grupos sem essa modalidade de tratamento (25/67, 37,3%). Os autores concluíram que a detecção do KSHV/HHV-8 geralmente está relacionada a elevada quantidade do vírus em sangue periférico e alta viremia do HIV, além de baixos níveis de linfócitos T CD<sub>4</sub><sup>+</sup><sup>17</sup>.

Tendo em vista os dados disponíveis na literatura, era esperada baixa frequência de detecção do KSHV/HHV-8 nas amostras avaliadas. Foi identificada apenas 1 amostra KSHV/HHV-8 positiva equivalente ao Momento 1 do estudo, proveniente de paciente do sexo masculino, homossexual (HSH), caucasiano, com razoável viremia para o HIV (7.082 cópias/mm<sup>3</sup>), baixos níveis de linfócitos T CD<sub>4</sub><sup>+</sup> (355 células/mm<sup>3</sup>), com falha ao tratamento antiretroviral e enquadrado no grupo C3 de acordo com os CDC. A amostra obtida na ocasião de recrutamento

desse paciente não apresentou resultado positivo para o KSHV/HHV-8, o que pode indicar que houve infecção primária durante os 4 meses subsequentes ou, no caso de infecção latente pré-existente, elevação da carga viral por reativação do ciclo lítico viral. As amostras subsequentes desse paciente (Momentos 2 e 3) voltaram a ser negativas para o KSHV/HHV-8.

A baixa frequência de detecção do KSHV/HHV-8 nas amostras dos pacientes portadores do HIV pode estar relacionada ao acompanhamento médico e o uso sistemático de drogas antirretrovirais fornecidas pelo governo federal Brasileiro para todos os pacientes portadores do HIV. Esses fatores proporcionam um melhor estado geral na saúde dos indivíduos, no geral, e melhores condições do sistema imunitário, em particular. Saliente-se ainda que não seja conhecida a taxa de exposição ao KSHV/HHV-8 da população na região atendida pelo serviço de saúde de onde foram recrutados os pacientes deste estudo. Assim, é plausível que uma baixa prevalência de infecção pelo vírus nessa população possa ter contribuído nos resultados obtidos.

Em conclusão, os dados do presente estudo sugerem que o comprometimento do sistema imunitário no paciente portador do HIV, incluindo indivíduos sob tratamento antirretroviral mas com falha terapêutica, está relacionado com um aumento na carga viral do EBV em PBMC. Tendo em vista que não foi observado o desenvolvimento de cânceres associados ao EBV no seguimento dos pacientes do presente estudo, não é possível atestar se o monitoramento longitudinal da carga viral do EBV gera dados sobre o risco de desenvolvimento dessas doenças. Essa informação possivelmente poderá ser levantada durante o seguimento de médio e longo prazo dos pacientes. Em relação à baixa frequência da detecção do KSHV/HHV-8, está possivelmente associado à baixa carga viral do vírus em PBMC, efeito presumivelmente associado ao tratamento antirretroviral.

---

## **AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem à Liciana Vaz de Arruda Silveira, PhD, e Hélio Rubens de Carvalho Nunes, MSc, pelo auxílio nas análises estatísticas, à Denise Whitby, MD, PhD, pela doação do plasmídeo contendo o ERV-3, e à Carina Alves de Oliveira e Luciene Ferreira Daltin, pelo apoio na coleta das amostras de sangue dos pacientes do estudo. O presente trabalho recebeu foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP Proc. MS 2007/06033-7; AP 2006/03643-6)

---

---

## REFERÊNCIAS

- <sup>1</sup> Noguchi K, Fukazawa H, Murakami Y, et al.  $\gamma$  - Herpesviruses and cellular signaling in AIDS-associated malignancies. *Cancer Sci.* 2007;98(9):1288-1296.
  - <sup>2</sup> Carbone A, Cesarman E, Spina M, et al. HIV-associated lymphomas and gamma-herpesviruses. *Blood.* 2009;113(6):1213-1224.
  - <sup>3</sup> Elgui de Oliveira D. DNA viruses in human cancer: An integrated overview on fundamental mechanisms of viral carcinogenesis. *Cancer Lett.* 2007;247:182-196.
  - <sup>4</sup> Grogg KL, Miller RF, Dogan A. HIV infection and lymphoma. *J Clin Pathol.* 2007;60:1365-1372.
  - <sup>5</sup> Biggar RJ, Jaffe ES, Goedert JJ, et al. Hodgkin lymphoma and immunodeficiency in persons with HIV/AIDS. *Blood.* 2006;108:3786-3791.
  - <sup>6</sup> Gnann JW, Pellett PE, Jaffe HW. Human Herpesvirus 8 and Kaposi's Sarcoma in Persons Infected with Human Immunodeficiency Virus. *Clin Infect Dis.* 2000;30:S72–76.
  - <sup>7</sup> Sullivan RJ, Pantanowitz L, Dezube BJ. Targeted therapy in Kaposi sarcoma. *Bio Drugs.* 2009;23(2):69–75.
  - <sup>8</sup> International Collaboration on HIV and Cancer. Highly active antirretroviral therapy and incidence of cancer in human immunodeficiency virus-infected adults. *J Natl Cancer Inst.* 2000;92:1823-1830.
  - <sup>9</sup> Baarle DV, Hovenkamp E, Callan MFC, et al. Dysfunctional Epstein-Barr virus (EBV)-specific CD8+ T lymphocytes and increased EBV load in HIV-1 infected individuals progressing to AIDS-related non-Hodgkin lymphoma. *Blood.* 2001;98:146-155.
  - <sup>10</sup> Fan H, Kim SC, Chima CO, et al. Epstein–Barr Viral Load as a Marker of Lymphoma in AIDS Patients. *J Med Virol.* 2005;75:59–69.
  - <sup>11</sup> Tedeschi R, Enbom M, Bidoli E, et al. Viral load of human herpesvirus 8 in peripheral blood of human immunodeficiency virus-infected patients with Kaposi's sarcoma, *J Clin Microbiol.* 2001;39:4269–4273.
  - <sup>12</sup> Campbell TB, Borok M, Gwanzura L, et al. Relationship of human herpesvirus 8 peripheral blood virus load and Kaposi's sarcoma clinical stage. *AIDS.* 2000;14:2109–2116.
  - <sup>13</sup> Zoufaly A, Stellbrink HJ, Heiden MA, et al. Cumulative HIV viremia during highly active antirretroviral therapy is a strong predictor of AIDS-related lymphoma. *J Infect Dis.* 2009;1(200):79-87.
-

- 
- <sup>14</sup> Stevens SJC, Blank BSN, Smits PHM, et al. High Epstein-Barr virus (EBV) DNA load in HIV-infected patients: correlation with antiretroviral therapy and quantitative EBV serology. *AIDS*. 2002;16:993-1001.
- <sup>15</sup> Gill J, Bourboulia D, Wilkinson J, et al. Prospective study of the effects of antiretroviral therapy on Kaposi sarcoma-associated herpesvirus infection in patients with and without Kaposi sarcoma. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2002;31:384–390.
- <sup>16</sup> Laney AS, Cannon MJ, Jaffe HW, et al. Human herpesvirus 8 presences and viral load are associated with the progression of AIDS-associated Kaposi's sarcoma. *AIDS*. 2007;21:1541–1545.
- <sup>17</sup> Minami R, Yamamoto M, Takahama S, et al. Human Herpesvirus 8 DNA Load in the Leukocytes Correlates with the Platelet Counts in HIV Type 1-Infected Individuals. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2009;25 (1):1-9.
- <sup>18</sup> Engels EA, Biggar RJ, Marshall VA, et al. Detection and quantification of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus to predict AIDS-associated Kaposi's sarcoma. *AIDS*. 2003;17:1847–1851.
- <sup>19</sup> Marcelin AG, Motol J, Guihot A, et al. Relationship between the quantity of Kaposi Sarcoma–Associated Herpesvirus (KSHV) in Peripheral Blood and Effusion Fluid Samples and KSHV-Associated Disease. *J Infect Dis*. 2007;196:1163–1166.
- <sup>20</sup> Yuan CC, Miley W, Waters D. A quantification of human cells using an ERV-3 real time PCR assay. *Journal of virological methods*. 2001;91:109-117.
- <sup>21</sup> Lallemand F, Desire N, Rozenbaum W, et al. Quantitative analysis of Human Herpesvirus 8 viral load using a real time PCR assay. *J Clin Microbiol*. 2000;38:1404–1408.
- <sup>22</sup> Plentz A, Jilg W, Kochanowski B, et al. Detection of Herpesvirus DNA in cerebrospinal fluid and correlation with clinical symptoms. *Infection*. 2008;36(2):158-162.
- <sup>23</sup> Panagiotakis SH, Giannoula S, Stavroula B, et al. Concurrent CMV and EBV DNAemia Is Significantly Correlated with a Delay in the Response to HAART in Treatment-Naive HIV Type 1-Positive Patients. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2007;23(1):10-18.
- <sup>24</sup> Stevens SJC, Smits PHM, Verkuijlen SAWM, et al. Aberrant Epstein–Barr virus persistence in HIV carriers is characterized by anti-Epstein–Barr virus IgA and high cellular viral loads with restricted transcription. *AIDS*. 2007;21:2141–2149.
- <sup>25</sup> Fafi-Kremer S, Brengel-Pesce K, Barguès G, et al. Assessment of automated DNA extraction coupled with real-time PCR for measuring Epstein–Barr virus load in whole blood, peripheral mononuclear cells and plasma. *J Clin Virol*. 2004;30:157-164.
-



- 
- <sup>26</sup> Hermouet S, Sutton CA, Rose TM, et al. Qualitative and quantitative analysis of human herpesviruses in chronic and acute B cell lymphocytic leukemia and in multiple myeloma. *Leukemia*. 2003;17:185-195.
- <sup>27</sup> Piriou E, Jansen CA, Dort Kv, et al. Reconstitution of EBV Latent but Not Lytic Antigen-Specific CD<sub>4</sub><sup>+</sup> and CD<sub>8</sub><sup>+</sup> T Cells after HIV Treatment with Highly Active Antiretroviral Therapy. *J Immunol*. 2005;175:2010-2017.
- <sup>28</sup> Legoff J, Amiel C, Calisonni O, et al. Early impairment of CD<sub>8</sub><sup>+</sup> T cells immune response against Epstein-Barr Virus (EBV) antigens associated with high level of circulating mononuclear EBV DNA load in HIV infection. *J Clin Immunol*. 2004;24(2):125-135.
- <sup>29</sup> Ling PD, Vilchez RA, Keitel WA, et al. Epstein-Barr Virus DNA Loads in Adult Human Immunodeficiency Virus Type 1–Infected Patients Receiving Highly Active Antirretroviral Therapy. *Clin Infect Dis*. 2003;37:1244-1249.
- <sup>30</sup> Cattelan AM, Calabro ML, Aversa SML, et al. Regression of AIDS-related Kaposi's Sarcoma Following Antirretroviral Therapy with Protease Inhibitors: Biological Correlates of Clinical Outcome. *Eur J Cancer*. 1999;35(13):1809-1815.
- <sup>31</sup> Righetti E, Ballon G, Ometto L, et al. Dynamics of Epstein-Barr virus in HIV-1-infected subjects on highly active antirretroviral therapy. *AIDS*. 2002;16:63-73.
- <sup>32</sup> Jenner R G, Boshoff C. The molecular pathology of Kaposi's sarcoma–associated herpesvirus. *Biochem Biophys Acta*. 2002;1602:1-22.
- <sup>33</sup> Kalt I, Masa SR, Sarid R. Linking the Kaposi's Sarcoma-Associated Herpesvirus (KSHV/HHV-8) to Human Malignancies. *Methods Mol Biol*. 2009;471:387-406.
- <sup>34</sup> Feller L, Wood NH, Lemmer J. HIV-associated Kaposi sarcoma: pathogenic mechanisms. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2007; 104:521-529.
- <sup>35</sup> Whitby D, Howard MR, Tenant–Flowers M, et al. Detection of Kaposi's sarcoma associated Herpesvirus in peripheral blood of HIV- infected individuals and progression to Kaposi's sarcoma. *Lancet*. 1995;346:799-802.
- <sup>36</sup> Cesarman E, Knowles DM. The role of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (KSHV/HHV-8) in lymphoproliferative diseases. *Semin Cancer Biol*. 1999;9:165-174.
- <sup>37</sup> Bourboulia D, Aldam D, Lagos D, et al. Short- and long-term effects of highly active antirretroviral therapy on Kaposi sarcoma-associated herpesvirus immune responses and viraemia. *AIDS*. 2004;18(3):485-493.
- <sup>38</sup> Albrecht D, Meyer T, Lorenzen T, et al. Epidemiology of HHV-8 infection in HIV–positive patients with and without Kaposi sarcoma: diagnostic relevance of serology and PCR. *J Clin Virol*. 2004;30:145-149.
-

- <sup>39</sup> Pellet C, Chevret S, Blum L, et al. Virologic and immunologic parameters that predict clinical response of AIDS – Associated Kaposi`s Sarcoma to highly active antirretroviral therapy. *J Invest Dermatol.* 2001;117(4):858-863.
-

*Anexos*

Tabela 1 - Relação dos pacientes portadores do HIV analisados e principais dados clínicos e laboratoriais levantados

Índice EP001	Sexo <sup>(1)</sup>	Idade (anos)	Etnia <sup>(2)</sup>	Opção sexual declarada <sup>(3)</sup>	Anos HIV <sup>(4)</sup>	Via presumida contágio <sup>(5)</sup>	Resposta tratamento <sup>(7)</sup>	Linfócitos (células/mm <sup>3</sup> )		Viremia HIV	
								T CD4 <sup>+</sup>	T CD8 <sup>+</sup>	Cópias/mm <sup>3</sup>	Log
001	M	31	Cauc	Hetero	4	Hetero	Sem HAART	582	586	21.819	4,3
002	M	58	Cauc	Hetero	11	Transfusão	Sem falha	554	408	Indetectável	Indetectável
003	F	31	Cauc	Hetero	13	Hetero	Sem HAART	471	771	17.961	4,3
004	M	51	Cauc	Bissexual	12	Hetero	Com falha	180	584	5.833	3,8
005	F	49	Cauc	Hetero	11	Hetero	Inclassificável	975	721	Indetectável	Indetectável
006	F	64	Cauc	Hetero	1	Hetero	Sem falha	284	383	Indetectável	Indetectável
007	M	70	Cauc	Hetero	2	Hetero	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
008	M	41	Cauc	HSH	27	UDI	Sem HAART	410	2189	136.871	5,1
010	F	31	Cauc	Hetero	13	Hetero	Sem falha	516	864	Indetectável	Indetectável
011	M	43	Cauc	Hetero	22	Hetero	Sem falha	299	1560	Indetectável	Indetectável
012	F	41	Cauc	Hetero	13	Hetero	Com falha	327	1081	4.645	3,7
013	M	41	Cauc	Hetero	18	Hetero	Inclassificável	101	607	Indetectável	Indetectável
014	F	57	Cauc	Hetero	19	Hetero	Com falha	327	1126	1.946	3,3
015	M	61	Cauc	Hetero	14	Hetero	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
016	M	38	Cauc	Hetero	10	Outro	n.d.	373	2186	Indetectável	Indetectável
017	F	30	Cauc	Hetero	10	Hetero	Sem falha	1145	1280	Indetectável	Indetectável
018	M	29	Cauc	Hetero	21	Transfusão	Inclassificável	1232	1967	Indetectável	Indetectável
019	M	48	Cauc	Hetero	2	Hetero	Sem falha	715	1601	Indetectável	Indetectável
020	M	29	Cauc	HSH	8	Homo	Sem falha	467	530	Indetectável	Indetectável
021	F	45	Pardo	Hetero	15	Hetero	Sem falha	733	613	Indetectável	Indetectável
022	F	31	Cauc	Hetero	12	Hetero	Inclassificável	363	877	944	3
023	M	26	Cauc	Hetero	3	Hetero	Sem falha	282	560	Indetectável	Indetectável
024	M	43	Cauc	HSH	7	Homo	Sem falha	567	1368	Indetectável	Indetectável
025	M	48	Cauc	Bissexual	21	Hetero	Com falha	490	525	394	2,6
026	M	38	Cauc	Hetero	20	Hetero	Sem HAART	113	2888	8.914	4
027	F	30	Cauc	Hetero	6	Hetero	Sem falha	723	1393	Indetectável	Indetectável

Índice EP001	Sexo <sup>(1)</sup>	Idade (anos)	Etnia <sup>(2)</sup>	Opção sexual declarada <sup>(3)</sup>	Anos HIV <sup>(4)</sup>	Via presumida contágio <sup>(5)</sup>	CDC <sup>(6)</sup>	Resposta tratamento <sup>(7)</sup>	Linfócitos (células/mm <sup>3</sup> )		Viremia HIV	
									T CD <sub>4</sub> <sup>+</sup>	T CD <sub>8</sub> <sup>+</sup>	Cópias/mm <sup>3</sup>	Log
028	M	41	Cauc	Hetero	3	Hetero	C3	Sem falha	181	267	Indetectável	Indetectável
029	F	34	Índ	Hetero	13	Hetero	B2	Inclassificável	835	1383	Indetectável	Indetectável
030	F	40	Pardo	Hetero	17	UDI	B?	Inclassificável	764	1454	606	2,8
031	M	50	Oriental	HSH	18	Homo	A1	Com falha	453	1255	2.294	3,4
032	M	41	Cauc	HSH	10	Homo	C3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
033	F	23	Pardo	Hetero	0	Hetero	C3	Inclassificável	176	405	Indetectável	Indetectável
034	M	29	Cauc	Hetero	2	Hetero	C2	Sem falha	564	1005	Indetectável	Indetectável
035	M	35	Cauc	Hetero	13	Hetero	C2	Sem falha	614	1059	Indetectável	Indetectável
036	F	23	Cauc	Hetero	6	Hetero	C2	Com falha	720	1261	242	2,4
037	M	29	Índio	Bissexual	2	Hetero	C3	Sem falha	319	641	Indetectável	Indetectável
038	M	41	Cauc	HSH	1	Homo	A1	Sem HAART	672	1078	7.951	3,9
039	F	38	Cauc	Hetero	10	Hetero	A1	Sem falha	983	1372	Indetectável	Indetectável
040	M	69	Cauc	Hetero	16	Hetero	C3	Sem falha	388	391	Indetectável	Indetectável
041	M	32	Cauc	Hetero	13	Hetero	C3	Com falha	449	1777	10.451	4
042	M	39	Cauc	Bissexual	8	Homo	C3	Inclassificável	717	1454	Indetectável	Indetectável
043	M	49	Afro	Hetero	10	Hetero	C3	Sem falha	500	587	Indetectável	Indetectável
044	F	28	Pardo	Hetero	6	Hetero	B2	Sem falha	885	758	Indetectável	Indetectável
045	M	34	Cauc	Hetero	12	Hetero	B2	Sem falha	1050	1309	Indetectável	Indetectável
046	M	34	Pardo	Hetero	4	Hetero	C3	Inclassificável	160	1009	687	2,8
047	M	42	Cauc	Bissexual	13	Homo	B2	Sem falha	1142	1792	Indetectável	Indetectável
048	F	41	Cauc	Hetero	15	Hetero	C3	Com falha	10	278	182.845	5,3
049	M	33	Pardo	Hetero	12	Hetero	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
050	M	46	Cauc	Bissexual	14	Hetero	C2	Com falha	348	1072	456	2,7
051	F	35	Cauc	Hetero	1	Hetero	B3	Sem falha	112	464	Indetectável	Indetectável
052	F	38	Afro	Hetero	13	Hetero	C3	Sem falha	597	746	Indetectável	Indetectável
053	M	52	Cauc	Hetero	8	Hetero	C3	Sem falha	455	654	53	1,7
054	M	39	Cauc	Hetero	2	Hetero	A?	Inclassificável	588	961	Indetectável	Indetectável

Índice EP001	Sexo <sup>(1)</sup>	Idade (anos)	Etnia <sup>(2)</sup>	Opção sexual declarada <sup>(3)</sup>	Anos HIV <sup>(4)</sup>	Via presumida contágio <sup>(5)</sup>	CDC <sup>(6)</sup>	Resposta tratamento <sup>(7)</sup>	Linfócitos (células/mm <sup>3</sup> )		Viremia HIV	
									T CD4 <sup>+</sup>	T CD8 <sup>+</sup>	Cópias/mm <sup>3</sup>	Log
055	F	27	Afro	Hetero	10	Transfusão	C2	Sem HAART	322	155	Indetectável	Indetectável
056	F	34	Cauc	Hetero	5	Hetero	C3	Inclassificável	152	860	2.412	3,4
057	F	41	Cauc	Hetero	7	Hetero	A2	Sem falha	582	1037	Indetectável	Indetectável
058	F	27	Cauc	Hetero	7	Hetero	B2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
059	F	33	Cauc	Hetero	0	Hetero	A2	Sem HAART	447	1325	249	2,4
060	M	31	Afro	Hetero	2	Hetero	C2	Sem falha	636	251	59	1,8
061	F	32	Afro	Hetero	3	Hetero	A2	Sem HAART	451	7601	7.601	3,9
062	F	30	Cauc	Hetero	17	Hetero	C3	Com falha	411	1707	761	2,9
063	F	32	Afro	Hetero	16	Hetero	A3	n.d.	114	427	167.916	5,2
064	M	52	Pardo	Hetero	17	Hetero	B3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
065	M	28	Pardo	Hetero	8	Hetero	C3	Inclassificável	163	1034	205	2,3
066	M	46	Pardo	Hetero	5	Hetero	A3	Inclassificável	545	1223	Indetectável	Indetectável
067	M	68	Pardo	Hetero	14	Hetero	A3	Sem falha	676	3166	Indetectável	Indetectável
068	F	46	Afro	Hetero	1	Hetero	C3	Sem falha	367	463	Indetectável	Indetectável
069	M	46	Cauc	Bissexual	2	Homo	C2	Inclassificável	421	1191	174	2,2
070	M	44	Cauc	Hetero	18	Hetero	C3	Sem falha	159	999	Indetectável	Indetectável
071	M	51	Cauc	Bissexual	22	Homo	C2	Inclassificável	437	1229	72	1,9
072	F	24	Cauc	Hetero	24	Vertical	C2	Sem falha	n.d.	n.d.	Indetectável	Indetectável
073	F	57	Cauc	Hetero	6	Hetero	C3	Com falha	81	565	24.835	4,4
074	M	46	Cauc	Hetero	n.d.	Hetero	C3	Sem falha	571	1063	Indetectável	Indetectável
075	M	51	Cauc	Hetero	0	Hetero	B2	Inclassificável	328	716	4.914	3,7
076	F	26	Cauc	Hetero	0	Hetero	A1	Sem HAART	1380	2005	91	2
077	M	27	Cauc	Hetero	0	Hetero	C3	Inclassificável	741	1045	114	2,1
078	M	69	Cauc	Hetero	6	Hetero	C3	Sem falha	621	903	Indetectável	Indetectável
079	F	57	Pardo	Hetero	n.d.	Outro	C3	Sem falha	1778	1457	Indetectável	Indetectável
080	M	45	Afro	Bissexual	13	Homo	C3	Com falha	298	2915	6.478	3,8
081	M	48	Pardo	Hetero	17	UDI	C3	Sem falha	377	606	Indetectável	Indetectável

Índice EP001	Sexo <sup>(1)</sup>	Idade (anos)	Etnia <sup>(2)</sup>	Opção sexual declarada <sup>(3)</sup>	Anos HIV <sup>(4)</sup>	Via presumida contágio <sup>(5)</sup>	CDC <sup>(6)</sup>	Resposta tratamento <sup>(7)</sup>	Linfócitos (células/mm <sup>3</sup> )		Viremia HIV	
									T CD4 <sup>+</sup>	T CD8 <sup>+</sup>	Cópias/mm <sup>3</sup>	Log
082	F	35	Cauc	Hetero	5	Hetero	A2	Sem falha	789	818	Indetectável	Indetectável
083	M	44	Cauc	Hetero	5	Hetero	A3	Sem falha	744	701	Indetectável	Indetectável
084	M	46	Cauc	Hetero	3	Hetero	B3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
085	M	48	Cauc	Hetero	10	Hetero	C3	Sem falha	469	1087	Indetectável	Indetectável
087	M	42	Cauc	Hetero	11	Hetero	C3	Com falha	347	1598	233	2,4
088	F	37	Cauc	Bissexual	10	Hetero	C3	Sem falha	531	550	Indetectável	Indetectável
089	M	44	Pardo	Hetero	5	Hetero	C3	Sem falha	731	925	Indetectável	Indetectável
090	F	50	Cauc	Hetero	5	Hetero	A2	n.d.	380	345	Indetectável	Indetectável
091	F	35	Cauc	Hetero	16	Hetero	C3	Sem falha	730	895	Indetectável	Indetectável
092	F	33	Cauc	Hetero	17	Hetero	C3	Inclassificável	838	1045	Indetectável	Indetectável
093	F	38	Pardo	Hetero	5	Hetero	A2	Sem HAART	438	906	7.318	3,9
094	F	48	Cauc	Hetero	18	Hetero	C3	Inclassificável	273	748	918	3
095	M	34	Cauc	HSH	8	Homo	C3	Sem falha	456	1403	Indetectável	Indetectável
096	M	39	Pardo	Hetero	9	Homo	C3	Sem falha	660	898	Indetectável	Indetectável
097	M	61	Cauc	Hetero	5	Hetero	C3	Sem falha	293	823	Indetectável	Indetectável
098	F	40	Cauc	Hetero	10	Hetero	A2	Inclassificável	480	826	533	2,7
099	M	28	Cauc	Hetero	2	Hetero	C3	Sem falha	222	342	Indetectável	Indetectável
100	F	48	Cauc	Hetero	9	Hetero	A2	Sem falha	784	1010	Indetectável	Indetectável
101	M	48	Pardo	Hetero	9	Hetero	C3	Sem falha	525	1362	Indetectável	Indetectável
102	M	38	Cauc	Hetero	17	Hetero	C3	Sem falha	1073	1840	Indetectável	Indetectável
103	F	29	Cauc	Hetero	7	Hetero	A3	Sem HAART	191	512	24.886	4,4
104	M	44	Cauc	Bissexual	22	Homo	C3	Sem falha	579	3219	Indetectável	Indetectável
105	M	35	Cauc	Hetero	4	Hetero	A1	Sem HAART	775	1543	15.471	4,2
106	M	39	Cauc	Hetero	15	UDI	C3	n.d.	252	1075	9.403	4
107	F	58	Cauc	Hetero	23	Transfusão	B3	Sem falha	582	1349	Indetectável	Indetectável
108	M	39	Cauc	Hetero	13	Hetero	A2	Sem HAART	434	908	4.322	3,6
109	F	49	Pardo	Hetero	1	Hetero	C2	Sem HAART	534	1359	93.924	5

Índice EP001	Sexo <sup>(1)</sup>	Idade (anos)	Etnia <sup>(2)</sup>	Opção sexual declarada <sup>(3)</sup>	Anos HIV <sup>(4)</sup>	Via presumida contágio <sup>(5)</sup>	CDC <sup>(6)</sup>	Resposta tratamento <sup>(7)</sup>	Linfócitos (células/mm <sup>3</sup> )		Viremia HIV	
									T CD4 <sup>+</sup>	T CD8 <sup>+</sup>	Cópias/mm <sup>3</sup>	Log
110	F	56	Cauc	Hetero	10	Hetero	A2	Sem falha	965	631	Indetectável	Indetectável
111	F	35	Cauc	Hetero	1	Hetero	C3	Sem falha	228	658	Indetectável	Indetectável
112	F	42	Pardo	Hetero	9	Hetero	C3	Sem falha	170	664	Indetectável	Indetectável
113	M	40	Cauc	Hetero	6	Hetero	B3	Com falha	127	414	39.766	4,6
114	M	43	Cauc	HSH	4	Homo	A2	n.d.	518	751	330	2,5
115	M	34	Cauc	HSH	13	Homo	C3	Com falha	355	975	7.082	3,9
116	M	58	Cauc	Hetero	2	Hetero	C3	n.d.	467	657	Indetectável	Indetectável
117	M	54	Cauc	HSH	14	Homo	A1	n.d.	567	1884	697	2,8
118	F	47	Cauc	Hetero	10	Hetero	A2	Com falha	704	1521	11.746	4,1
119	M	38	Cauc	Hetero	15	Hetero	C3	Com falha	270	567	74.035	4,9
120	M	46	Cauc	Bissexual	1	Hetero	B3	n.d.	49	1287	265.149	5,4
121	F	32	Oriental	Hetero	0	Hetero	C3	Sem HAART	288	1082	7.439	3,9
122	M	33	Cauc	HSH	2	Homo	A3	Sem HAART	5	204	54.569	4,7
123	M	65	Cauc	Bissexual	2	Homo	A2	Sem HAART	369	2550	166.136	5,2
124	M	31	Cauc	Hetero	5	Hetero	n.d.	n.d.	104	417	266	2,4
125	F	17	Afro	Hetero	1	Hetero	B2	Sem HAART	290	526	51.587	4,7
126	M	33	Oriental	Hetero	2	Hetero	C3	Sem falha	478	792	Indetectável	Indetectável
127	M	24	Cauc	Hetero	2	Hetero	A1	Sem HAART	500	1435	5.087	3,7
128	F	43	Cauc	Hetero	1	Hetero	A2	Inclassificável	318	600	122	2,1
129	F	41	Afro	Hetero	9	Hetero	C3	Sem falha	727	872	Indetectável	Indetectável
130	F	33	Cauc	Hetero	5	Hetero	A2	Sem falha	947	1394	Indetectável	Indetectável
131	M	48	Cauc	HSH	11	Hetero	A1	n.d.	1127	1068	Indetectável	Indetectável
132	F	52	Pardo	Hetero	13	Hetero	A2	Sem falha	801	1009	Indetectável	Indetectável
133	F	46	Pardo	Hetero	0	Hetero	B3	Inclassificável	120	493	83	1,9
134	F	26	Afro	Hetero	5	Hetero	A2	Sem falha	788	1087	Indetectável	Indetectável
135	F	48	Cauc	Hetero	6	Hetero	C2	Sem falha	628	1089	Indetectável	Indetectável
137	M	36	Cauc	Hetero	13	Hetero	C3	Sem falha	127	385	Indetectável	Indetectável



Índice EP001	Sexo <sup>(1)</sup>	Idade (anos)	Etnia <sup>(2)</sup>	Opção sexual declarada <sup>(3)</sup>	Anos HIV <sup>(4)</sup>	Via presumida contágio <sup>(5)</sup>	Resposta tratamento <sup>(7)</sup>	Linfócitos (células/mm <sup>3</sup> )		Viremia HIV	
								T CD4 <sup>+</sup>	T CD8 <sup>+</sup>	Cópias/mm <sup>3</sup>	Log
138	M	39	Afro	Hetero	10	Hetero	n.d.	498	797	318	2,5
139	M	45	Cauc	Hetero	15	Hetero	Sem falha	568	1155	Indetectável	Indetectável
140	M	35	Afro	Bissexual	1	Homo	Inclassificável	172	643	Indetectável	Indetectável
141	F	26	Pardo	Hetero	5	Hetero	Inclassificável	121	254	270.081	5,4
142	M	35	Cauc	Bissexual	1	Homo	Sem falha	142	403	Indetectável	Indetectável
143	F	29	Cauc	Hetero	11	Hetero	n.d.	777	1550	972	3
144	M	39	Afro	Hetero	4	Hetero	n.d.	349	971	Indetectável	Indetectável
145	F	46	Cauc	Hetero	15	Hetero	n.d.	423	3378	Indetectável	Indetectável
146	M	43	Cauc	Hetero	9	UDI	Sem falha	641	1494	Indetectável	Indetectável
147	F	45	Cauc	Hetero	4	Hetero	Com falha	549	1518	15.198	4,2
148	F	29	Pardo	Hetero	9	Hetero	Com falha	260	804	410	2,6
149	M	51	Cauc	Hetero	12	Hetero	Inclassificável	360	459	Indetectável	Indetectável
150	F	41	Pardo	Hetero	5	Hetero	Sem HAART	460	799	1.185	3,1
151	M	48	Cauc	Bissexual	1	Hetero	n.d.	189	640	n.d.	n.d.
152	M	28	Pardo	Bissexual	9	Hetero	n.d.	104	579	n.d.	n.d.
153	M	48	Pardo	Hetero	8	Hetero	n.d.	72	392	Indetectável	Indetectável
154	M	36	Pardo	Bissexual	7	Homo	n.d.	96	1789	n.d.	n.d.
155	M	41	Cauc	Bissexual	n.d.	Hetero	Com falha	735	1381	117.115	5,1
156	M	46	Pardo	HSH	2	Homo	n.d.	287	2607	37.697	4,6
157	F	32	Cauc	Hetero	7	Hetero	Sem falha	302	610	Indetectável	Indetectável
158	M	49	Cauc	Hetero	20	Hetero	Sem falha	649	789	Indetectável	Indetectável
159	F	35	Afro	Hetero	2	Hetero	n.d.	763	1317	7.247	3,9
160	M	37	Cauc	HSH	2	Homo	Inclassificável	252	901	Indetectável	Indetectável

(<sup>1</sup>) M: masculino, F: feminino; (<sup>2</sup>) Cauc: caucasianos, Afro: afro-descendente; (<sup>3</sup>) Hetero: heterossexuais, HSH: homem que relação sexual com homem; (<sup>4</sup>) Tempo estimado de infecção (em anos completos); (<sup>5</sup>) Hetero: relação heterossexual, Homo: relação homossexual, Transfusão: transfusão sanguínea, UDIs: compartilhamento de agulhas e seringas contaminadas por usuários de drogas injetáveis, Vertical: transmissão vertical. (<sup>6</sup>) Classificação do estágio da infecção

pelo HIV segundo os Centros de Controle de Doenças dos EUA. <sup>(7)</sup> Sem HAART: pacientes sem tratamento antirretroviral há pelo menos 6 meses; Sem falha: pacientes sob tratamento antirretroviral e sem falha terapêutica virológica (viremia HIV inferior a 50 cópias/mL após pelo menos 6 meses utilizando continuamente o mesmo esquema de drogas); Com falha: pacientes sob tratamento antirretroviral e com falha terapêutica virológica (viremia HIV detectável/superior a 50 cópias/mL após pelo menos 6 meses utilizando tratamento antirretroviral continuamente)

Tabela 2 – Informações relevantes sobre os experimentos de qPCR para a pesquisa do EBV nas amostras dos pacientes portadores do HIV.

EBV	Momento 0					Momento 1					Momento 2					Momento 3				
	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Cópias/10 <sup>6</sup> cells	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Cópias/10 <sup>6</sup> cells	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Cópias/10 <sup>6</sup> cells	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Cópias/10 <sup>6</sup> cells
1	-3,62	0,89	0,999	1A	6,34E+04	-3,34	0,99	0,996	1N	7,41E+02	-3,39	0,97	0,998	1U	8,66E+03	-3,45	0,95	0,998	1Y	2,01E+04
2	-3,62	0,89	0,999	1A	1,34E+03	-3,34	0,99	0,996	1N	0,00E+00	-3,39	0,97	0,998	1U	0,00E+00	-3,45	0,95	0,998	1Y	3,62E+02
3	-3,62	0,89	0,999	1A	2,37E+03	-3,34	0,99	0,996	1N	4,44E+02	-3,39	0,97	0,998	1U	3,78E+02	-3,45	0,95	0,998	1Y	1,04E+03
4	-3,62	0,89	0,999	1A	1,46E+04	-3,34	0,99	0,996	1N	3,59E+03	-3,39	0,97	0,998	1U	8,98E+03	-3,45	0,95	0,998	1Y	1,94E+03
5	-3,49	0,94	0,998	1A,1L*	1,61E+03	-3,34	0,99	0,996	1N	1,41E+02	-3,39	0,97	0,998	1U	8,29E+02	-3,45	0,95	0,998	1Y	5,87E+02
6	-3,62	0,89	0,999	1A	1,18E+03	-3,34	0,99	0,996	1N	1,39E+02	-3,39	0,97	0,998	1U	0,00E+00	-3,45	0,95	0,998	1Y	0,00E+00
7	-3,62	0,89	0,999	1A	1,34E+03	-3,34	0,99	0,996	1N	0,00E+00	-3,39	0,97	0,998	1U	1,29E+03	-3,46	0,94	0,998	1Z	0,00E+00
8	-3,62	0,89	0,999	1A	2,65E+04	-3,34	0,99	0,996	1N	9,61E+03	-3,39	0,97	0,998	1U	3,26E+04	-3,46	0,94	0,998	1Z	1,36E+04
10	-3,62	0,89	0,999	1A	0,00E+00	-3,34	0,99	0,996	1N	0,00E+00	-3,39	0,97	0,998	1U	0,00E+00	-3,46	0,94	0,998	1Z	0,00E+00
11	-3,62	0,89	0,999	1A	4,63E+03	-3,34	0,99	0,996	1N	7,56E+02	-3,39	0,97	0,998	1U	2,89E+03	-3,46	0,94	0,998	1Z	6,87E+02
12	-3,62	0,89	0,999	1A	1,57E+03	-3,47	0,94	0,999	1O	1,67E+03	-3,39	0,97	0,998	1U	1,05E+04	-3,46	0,94	0,998	1Z	4,42E+03
13	-3,62	0,89	0,999	1A	0,00E+00	-3,47	0,94	0,999	1O	4,50E+02	-3,39	0,97	0,998	1U	0,00E+00	-3,46	0,94	0,998	1Z	0,00E+00
14	-3,62	0,89	0,999	1A	1,62E+04	-3,47	0,94	0,999	1O	6,39E+03	-3,39	0,97	0,998	1U	1,58E+04	-3,46	0,94	0,998	1Z	7,38E+03
15	-3,32	1,00	0,993	1A, 1J*	8,75E+02	-3,47	0,94	0,999	1O	2,10E+03	-3,39	0,97	0,998	1U	2,67E+03	-3,46	0,94	0,998	1Z	2,10E+03
16	-3,62	0,89	0,999	1A,1L*	3,91E+02	-3,47	0,94	0,999	1O	4,30E+02	-3,39	0,97	0,998	1U,1E	3,12E+02	-3,46	0,94	0,998	1Z,1E	1,13E+02
17	-3,62	0,89	0,999	1A	2,86E+04	-3,47	0,94	0,999	1O	5,05E+03	-3,39	0,97	0,998	1U	3,41E+04	-3,46	0,94	0,998	1Z	1,72E+04
18	-3,62	0,89	0,999	1A	9,51E+03	-3,47	0,94	0,999	1O	2,42E+03	-3,39	0,97	0,998	1Y	2,67E+03	Perda de seguimento				
19	-3,32	1,00	0,993	1A, 1J*	4,47E+02	-3,47	0,94	0,999	1O	4,89E+02	-3,39	0,97	0,998	1U	1,11E+04	-3,46	0,94	0,998	1Z	2,41E+02
20	-3,62	0,89	0,999	1A	1,73E+04	-3,47	0,94	0,999	1O	8,28E+03	-3,39	0,97	0,998	1U	1,74E+04	-3,46	0,94	0,998	1Z	1,05E+04
21	-3,62	0,89	0,999	1A	3,86E+03	-3,47	0,94	0,999	1O	1,32E+03	-3,39	0,97	0,998	1U	1,37E+04	-3,46	0,94	0,998	1Z	8,77E+03
22	-3,62	0,89	0,999	1A	3,73E+03	-3,47	0,94	0,999	1O	3,86E+03	-3,39	0,97	0,998	1U	9,33E+03	-3,46	0,94	0,998	1Z	1,02E+04
23	-3,47	0,94	0,997	1A, 1I*	0,00E+00	-3,47	0,94	0,999	1O	1,63E+02	-3,39	0,97	0,998	1U	0,00E+00	-3,46	0,94	0,998	1Z	0,00E+00

EBV	Momento 0					Momento 1					Momento 2					Momento 3				
	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Cópias/10 <sup>6</sup> cells	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Cópias/10 <sup>6</sup> cells	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Cópias/10 <sup>6</sup> cells	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Cópias/10 <sup>6</sup> cells
24	-3,62	0,89	0,999	1A	2,33E+04	-3,47	0,94	0,999	1O	7,29E+03	-3,39	0,97	0,998	1U	1,07E+04	-3,46	0,94	0,998	1Z	2,95E+03
25	-3,47	0,94	0,997	1A, 1I*	0,00E+00	-3,51	0,93	0,998	1O, 1I*	0,00E+00	-3,39	0,97	0,998	1U	0,00E+00	-3,46	0,94	0,998	1Z	0,00E+00
26	-3,62	0,89	0,999	1A	4,13E+03	-3,47	0,94	0,999	1O	3,36E+03	-3,39	0,97	0,998	1U	1,08E+04	Perda de seguimento				
27	-3,62	0,89	0,999	1A	2,74E+03	-3,47	0,94	0,999	1O	6,79E+02	-3,39	0,97	0,998	1U	1,58E+03	-3,46	0,94	0,998	1Z	1,15E+03
28	-3,32	1,00	0,993	1A, 1J*	2,25E+03	-3,47	0,94	0,999	1O	6,70E+02	Perda de seguimento					Perda de seguimento				
29	-3,50	0,93	0,999	1B	0,00E+00	-3,51	0,93	0,999	1O, 1I*	0,00E+00	-3,39	0,97	0,998	1U	0,00E+00	-3,46	0,94	0,998	1Z	0,00E+00
30	-3,50	0,93	0,999	1B	2,40E+04	-3,47	0,94	0,999	1O	2,68E+03	-3,39	0,97	0,998	1U	4,18E+03	-3,46	0,94	0,998	1Z, 1E'	0,00E+00
31	-3,50	0,93	0,999	1B, 1J*	4,36E+03	-3,47	0,94	0,999	1O	4,48E+02	-3,56	0,91	0,997	1V	1,91E+03	-3,46	0,94	0,998	1Z	9,89E+02
32	-3,50	0,93	0,999	1B, 1I*	3,58E+02	-3,47	0,94	0,999	1O	1,82E+02	-3,56	0,91	0,997	1V	0,00E+00	-3,46	0,94	0,998	1Z	1,54E+02
33	-3,47	0,94	0,997	1B, 1I*	0,00E+00	-3,47	0,94	0,999	1O	2,38E+02	-3,56	0,91	0,997	1V	0,00E+00	-3,46	0,94	0,998	1Z	1,21E+03
34	-3,47	0,94	0,997	1B	0,00E+00	-3,47	0,94	0,999	1O	0,00E+00	-3,56	0,91	0,997	1V, 1E'	0,00E+00	-3,46	0,94	0,998	1Z	0,00E+00
35	-3,50	0,93	0,999	1B	2,65E+04	-3,47	0,94	0,999	1O	2,10E+03	-3,56	0,91	0,997	1V	5,29E+03	-3,46	0,94	0,998	1Z	4,08E+03
36	-3,32	1,00	0,993	1B, 1J*	6,90E+02	-3,47	0,94	0,999	1O	1,51E+03	-3,56	0,91	0,997	1V	6,54E+03	-3,46	0,94	0,998	1Z	1,25E+04
37	-3,50	0,93	0,999	1B	0,00E+00	-3,51	0,93	0,998	1O, 1I*	1,31E+02	Perda de seguimento					Perda de seguimento				
38	-3,32	1,00	0,993	1B, 1J*	9,29E+01	-3,51	0,93	0,998	1O, 1I*	2,27E+02	-3,56	0,91	0,997	1V	2,85E+02	Perda de seguimento				
39	-3,50	0,93	0,999	1B	1,09E+04	-3,47	0,94	0,999	1O	3,41E+03	-3,56	0,91	0,997	1V	5,20E+03	-3,46	0,94	0,998	1Z	3,20E+03
40	-3,32	1,00	0,993	1B, 1J*	1,22E+02	-3,47	0,94	0,999	1O	2,35E+02	-3,56	0,91	0,997	1V	1,20E+03	-3,46	0,94	0,998	1Z, 1E'	3,95E+01
41	-3,50	0,93	0,999	1B	2,01E+04	-3,40	0,97	0,999	1P	1,57E+04	-3,56	0,91	0,997	1V	9,65E+04	-3,58	0,90	0,988	1Z	2,82E+04
42	-3,50	0,93	0,999	1B	5,69E+02	-3,40	0,97	0,999	1P, 1I*	0,00E+00	-3,56	0,91	0,997	1V	0,00E+00	-3,58	0,90	0,988	1Z	0,00E+00
43	-3,50	0,93	0,999	1B, 1J*	1,38E+04	Perda de seguimento					-3,56	0,91	0,997	1V	1,60E+04	-3,51	0,93	0,999	1D'	2,60E+04
44	-3,50	0,93	0,999	1B	0,00E+00	-3,40	0,97	0,999	1P, 1I*	0,00E+00	-3,56	0,91	0,997	1V	0,00E+00	-3,58	0,90	0,988	1Z	0,00E+00
45	-3,32	1,00	0,993	1B, 1J*	3,75E+02	-3,40	0,97	0,999	1P	4,62E+02	-3,56	0,91	0,997	1V, 1E'	2,01E+02	-3,58	0,90	0,988	1A'	0,00E+00
46	-3,43	0,96	0,997	1B, 1K*	0,00E+00	-3,40	0,97	0,999	1P	2,05E+02	-3,56	0,91	0,997	1V	4,14E+02	-3,58	0,90	0,988	1A', 1E'	0,00E+00
47	-3,43	0,96	0,997	1B, 1K*	0,00E+00	-3,40	0,97	0,999	1P	1,11E+04	-3,56	0,91	0,997	1V, 1E'	3,36E+02	Perda de seguimento				
48	-3,43	0,96	0,997	1B	1,48E+03	-3,40	0,97	0,999	1P	1,04E+04	-3,56	0,91	0,997	1V	7,73E+02	-3,58	0,90	0,988	1A'	8,10E+03
49	-3,50	0,93	0,999	1B	2,44E+03	-3,40	0,97	0,999	1P	0,00E+00	-3,56	0,91	0,997	1V, 1E'	2,46E+02	-3,58	0,90	0,988	1A'	2,59E+02
50	-3,43	0,96	0,997	1B, 1K*	1,51E+03	-3,40	0,97	0,999	1P	8,73E+02	-3,56	0,91	0,997	1V	8,80E+02	-3,58	0,90	0,988	1A'	2,16E+03
51	-3,50	0,93	0,999	1B, 1K*	7,85E+02	-3,40	0,97	0,999	1P	4,78E+02	-3,56	0,91	0,997	1V, 1E'	5,47E+02	-3,58	0,90	0,988	1A'	1,06E+03
52	-3,50	0,93	0,999	1B	0,00E+00	-3,40	0,97	0,999	1P, 1I*	2,97E+02	-3,56	0,91	0,997	1V, 1E'	0,00E+00	-3,58	0,90	0,988	1A'	1,00E+03
53	-3,50	0,93	0,999	1B	0,00E+00	-3,40	0,97	0,999	1P	0,00E+00	-3,56	0,91	0,997	1V	0,00E+00	-3,58	0,90	0,988	1A'	0,00E+00
54	-3,43	0,96	0,997	1B, 1K*	7,30E+02	-3,40	0,97	0,999	1P	3,78E+02	-3,56	0,91	0,997	1V	0,00E+00	-3,58	0,90	0,988	1Z, 1E'	3,00E+02
55	-3,50	0,93	0,999	1B	0,00E+00	-3,40	0,97	0,999	1P	0,00E+00	Perda de seguimento					Perda de seguimento				

EBV	Momento 0					Momento 1					Momento 2					Momento 3				
	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Cópias/10 <sup>6</sup> cels	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Cópias/10 <sup>6</sup> cels	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Cópias/10 <sup>6</sup> cels	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Cópias/10 <sup>6</sup> cels
56	-3,50	0,93	0,999	1B	3,77E+03	-3,40	0,97	0,999	1P	6,69E+03	-3,56	0,91	0,997	1V	0,00E+00	-3,58	0,90	0,988	1A'	3,70E+02
57	-3,32	1,00	0,993	1C,1J*	0,00E+00	-3,51	0,93	0,999	1P,1T*	4,16E+02	-3,56	0,91	0,997	1V	6,30E+02	-3,58	0,90	0,988	1A'	0,00E+00
58	-3,51	0,93	0,996	1C	0,00E+00	-3,40	0,97	0,999	1P	0,00E+00	-3,56	0,91	0,997	1X,1E'	2,36E+02	-3,58	0,90	0,988	1A'	0,00E+00
59	-3,44	0,95	0,995	1C,1M*	2,83E+02	-3,40	0,97	0,999	1P	2,38E+02	-3,56	0,91	0,997	1X	8,59E+02	-3,58	0,90	0,988	1A'	1,02E+03
60	-3,44	0,95	0,995	1C,1M*	3,14E+02	-3,51	0,93	0,998	1P,1T*	0,00E+00	-3,56	0,91	0,997	1X	6,68E+03	-3,58	0,90	0,988	1A'	5,26E+02
61	-3,51	0,93	0,996	1C	4,83E+03	-3,40	0,97	0,999	1P	4,12E+03	-3,56	0,91	0,997	1X	2,18E+05	-3,58	0,90	0,988	1A'	1,08E+05
62	-3,51	0,93	0,996	1C	6,56E+04	-3,40	0,97	0,999	1P	5,34E+03	-3,45	0,95	0,999	1X	1,68E+04	-3,58	0,90	0,988	1A'	
63	-3,51	0,93	0,996	1C	3,27E+03	-3,40	0,97	0,999	1P	1,36E+04	-3,45	0,95	0,999	1X						
64	-3,51	0,93	0,996	1C	1,72E+04															
65	-3,32	1,00	0,993	1C,1J*	2,95E+02	-3,40	0,97	0,999	1P	0,00E+00	-3,45	0,95	0,999	1X,1E'	1,84E+02	-3,58	0,90	0,988	1A'	0,00E+00
66	-3,51	0,93	0,996	1C	2,26E+04	-3,40	0,97	0,999	1P	6,23E+04	-3,45	0,95	0,999	1X	6,33E+03	-3,58	0,90	0,988	1A'	5,29E+04
67	-3,51	0,93	0,996	1C	2,87E+02	-3,51	0,93	0,998	1P,1T*	0,00E+00	-3,51	0,93	0,999	1D'	0,00E+00					
68	-3,51	0,93	0,996	1C	3,98E+02	-3,40	0,97	0,999	1P	9,50E+02	-3,45	0,95	0,999	1X	2,02E+03	-3,58	0,90	0,988	1A'	1,03E+04
69	-3,51	0,93	0,996	1C	1,08E+04	-3,47	0,94	0,999	1P	2,60E+04	-3,45	0,95	0,999	1X	3,63E+03	-3,58	0,90	0,988	1A'	2,33E+03
70	-3,51	0,93	0,996	1C	7,48E+03	-3,40	0,97	0,999	1P	4,34E+03	-3,45	0,95	0,999	1X	1,33E+03	-3,58	0,90	0,988	1A'	0,00E+00
71	-3,51	0,93	0,996	1C	5,26E+04	-3,40	0,97	0,999	1P	3,71E+04	-3,45	0,95	0,999	1X	2,46E+04	-3,58	0,90	0,988	1A'	4,19E+03
72	-3,51	0,93	0,996	1C	7,16E+03	-3,40	0,97	0,999	1P	3,77E+03	-3,45	0,95	0,999	1X	5,66E+03	-3,58	0,90	0,988	1A'	1,06E+05
73	-3,51	0,93	0,996	1C	7,20E+03	-3,50	0,93	0,999	1Q	1,24E+03	-3,45	0,95	0,999	1X	9,76E+02	-3,58	0,90	0,988	1A',1E'	0,00E+00
74	-3,51	0,93	0,996	1C	2,02E+02	-3,50	0,93	0,999	1Q	2,84E+02	-3,45	0,95	0,999	1X,1E'	5,00E+02	-3,58	0,90	0,988	1A'	1,22E+02
75	-3,43	0,96	0,997	1C,1K*	0,00E+00	-3,51	0,93	0,998	1Q,1T*	4,58E+02	-3,45	0,95	0,999	1X	0,00E+00	-3,53	0,92	0,9991	1A'	0,00E+00
76	-3,51	0,93	0,996	1C	5,77E+03	-3,50	0,93	0,999	1Q	4,32E+03										
77	-3,51	0,93	0,996	1C	4,91E+02	-3,51	0,93	0,998	1Q,1T*	3,95E+02	-3,45	0,95	0,999	1X,1E'	5,25E+01	-3,58	0,90	0,988	1A'	2,56E+02
78	-3,51	0,93	0,996	1C	0,00E+00	-3,50	0,93	0,999	1Q	0,00E+00	-3,45	0,95	0,999	1X	0,00E+00	-3,52	0,92	0,996	1B'	0,00E+00
79	-3,43	0,96	0,997	1C,1K*	4,80E+01	-3,50	0,93	0,999	1Q	1,08E+03	-3,45	0,95	0,999	1X	1,70E+02	-3,53	0,92	0,9991	1B',1E'	0,00E+00
80	-3,51	0,93	0,996	1C	1,95E+03	-3,50	0,93	0,999	1Q	3,57E+03	-3,45	0,95	0,999	1X	1,91E+03	-3,51	0,93	0,999	1D"	1,41E+03
81	-3,51	0,93	0,996	1C	2,75E+03	-3,50	0,93	0,999	1Q	1,98E+03	-3,45	0,95	0,999	1X	2,83E+03	-3,52	0,92	0,996	1B'	2,60E+03
82	-3,51	0,93	0,996	1C	2,50E+02	-3,50	0,93	0,999	1Q	3,63E+02	-3,45	0,95	0,999	1X,1E'	0,00E+00	-3,53	0,92	0,9991	1B'	0,00E+00
83	-3,51	0,93	0,996	1C	3,28E+02	-3,51	0,93	0,998	1Q,1T*	7,28E+02	-3,45	0,95	0,999	1X	5,77E+02	-3,52	0,92	0,996	1B'	2,14E+02
84	-3,51	0,93	0,996	1C	1,26E+03	-3,51	0,93	0,998	1Q,1T*	1,12E+03	-3,45	0,95	0,999	1X	2,00E+03	-3,52	0,92	0,996	1B'	7,59E+02
85	-3,61	0,89	0,998	1D	1,35E+04	-3,50	0,93	0,999	1Q	6,25E+03										
87	-3,61	0,89	0,998	1D	4,90E+03	-3,50	0,93	0,999	1Q	3,93E+03	-3,45	0,95	0,999	1X	1,05E+03	-3,52	0,92	0,996	1B'	9,32E+02
88	-3,43	0,96	0,997	1D,1K*	1,40E+03	-3,50	0,93	0,999	1Q	0,00E+00	-3,45	0,95	0,999	1X	1,02E+03	-3,52	0,92	0,996	1B',1F'	7,75E+02

EBV	Momento 0					Momento 1					Momento 2					Momento 3				
	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Cópias/10 <sup>6</sup> cells	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Cópias/10 <sup>6</sup> cells	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Cópias/10 <sup>6</sup> cells	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Cópias/10 <sup>6</sup> cells
89	-3,61	0,89	0,998	1D	0,00E+00	-3,50	0,93	0,999	1Q	0,00E+00	-3,45	0,95	0,999	1X	0,00E+00	-3,51	0,93	0,999	1D'	0,00E+00
90	-3,61	0,89	0,998	1D	4,06E+04	-3,50	0,93	0,999	1Q	2,00E+04	-3,45	0,95	0,999	1X	4,40E+04	-3,52	0,92	0,996	1B'	0,00E+00
91	-3,61	0,89	0,998	1D	1,12E+03	-3,50	0,93	0,999	1Q	7,80E+02	-3,45	0,95	0,999	1X	1,03E+03	-3,52	0,92	0,996	1B'	1,35E+03
92	-3,44	0,95	0,995	1D,1M*	0,00E+00	-3,50	0,93	0,999	1Q	3,71E+02	-3,45	0,95	0,999	1X	0,00E+00	-3,52	0,92	0,996	1B',1F'	2,58E+02
93	-3,61	0,89	0,998	1D	8,45E+02					Perda de seguimento					Perda de seguimento					Perda de seguimento
94	-3,61	0,89	0,998	1D	3,46E+03	-3,50	0,93	0,999	1Q	4,66E+02	-3,45	0,95	0,999	1X1E'	2,35E+02	-3,52	0,92	0,996	1B',1F'	1,34E+02
95	-3,61	0,89	0,998	1D	7,61E+03	-3,50	0,93	0,999	1Q	9,28E+03	-3,45	0,95	0,999	1X	5,49E+03	-3,51	0,93	0,999	1D'	2,95E+04
96	-3,61	0,89	0,998	1D	0,00E+00	-3,50	0,93	0,999	1Q	0,00E+00	-3,44	0,95	0,999	1W	0,00E+00	-3,52	0,92	0,996	1B'	0,00E+00
97	-3,61	0,89	0,998	1D	3,78E+03	-3,50	0,93	0,999	1Q	1,65E+03	-3,44	0,95	0,999	1W	2,47E+03	-3,52	0,92	0,996	1B'	2,05E+03
98	-3,61	0,89	0,998	1D	3,20E+03	-3,50	0,93	0,999	1Q	0,00E+00	-3,44	0,95	0,999	1W	1,48E+02					Perda de seguimento
99	-3,61	0,89	0,998	1D	2,37E+03	-3,50	0,93	0,999	1Q	2,33E+03	-3,44	0,95	0,999	1W,1E'	6,17E+02	-3,52	0,92	0,996	1B',1F'	4,72E+02
100	-3,43	0,96	0,997	1D,1K*	2,88E+02	-3,50	0,93	0,999	1Q	0,00E+00	-3,44	0,95	0,999	1W	0,00E+00	-3,52	0,92	0,996	1B',1F'	1,49E+02
101	-3,43	0,96	0,997	1D,1K*	0,00E+00	-3,50	0,93	0,999	1Q	0,00E+00	-3,44	0,95	0,999	1W,1E'	1,42E+02	-3,52	0,92	0,996	1B'	0,00E+00
102	-3,61	0,89	0,998	1D	1,19E+03	-3,47	0,94	0,996	1Q	6,26E+02	-3,44	0,95	0,999	1W	1,53E+02	-3,52	0,92	0,996	1B',1F'	1,81E+02
103	-3,61	0,89	0,998	1D	2,48E+04	-3,48	0,94	0,998	1R	1,53E+03	-3,44	0,95	0,999	1W	3,13E+03	-3,52	0,92	0,996	1B'	1,59E+03
104	-3,61	0,89	0,998	1D	1,90E+04	-3,48	0,94	0,998	1R	6,61E+03	-3,44	0,95	0,999	1W	4,37E+03	-3,52	0,92	0,996	1B'	5,86E+03
105	-3,61	0,89	0,998	1D	2,58E+04	-3,48	0,94	0,998	1R	1,59E+05	-3,44	0,95	0,999	1W	2,55E+04					Perda de seguimento
106	-3,61	0,89	0,998	1D	6,04E+03	-3,48	0,94	0,998	1R	0,00E+00					Perda de seguimento					Perda de seguimento
107	-3,61	0,89	0,998	1D	7,90E+03	-3,48	0,94	0,998	1R	5,01E+03	-3,44	0,95	0,999	1W	9,60E+02	-3,52	0,92	0,996	1B'	2,48E+03
108	-3,44	0,95	0,995	1D,1M*	3,51E+03	-3,48	0,94	0,998	1R	1,41E+04	-3,44	0,95	0,999	1W	6,20E+03					Perda de seguimento
109	-3,61	0,89	0,998	1D	6,60E+03	-3,48	0,94	0,998	1R	1,78E+04	-3,44	0,95	0,999	1W	1,58E+04	-3,52	0,92	0,996	1B'	7,02E+03
110	-3,61	0,89	0,998	1D	1,54E+03	-3,48	0,94	0,998	1R	7,40E+02	-3,44	0,95	0,999	1W	2,07E+03	-3,51	0,93	0,999	1D'	1,69E+03
111	-3,61	0,89	0,998	1D	1,75E+03	-3,48	0,94	0,998	1R	6,89E+02	-3,44	0,95	0,999	1W	4,34E+02	-3,52	0,92	0,996	1B'	0,00E+00
112	-3,61	0,89	0,998	1D	0,00E+00	-3,48	0,94	0,998	1R	2,32E+03	-3,44	0,95	0,999	1W	3,38E+02	-3,52	0,92	0,996	1B',1F'	4,26E+02
113	-3,53	0,92	0,998	1E,1L*	5,51E+04	-3,48	0,94	0,998	1R	4,33E+04	-3,44	0,95	0,999	1W	3,99E+04	-3,52	0,92	0,996	1B'	3,49E+04
114	-3,53	0,92	0,998	1E	1,04E+04	-3,48	0,94	0,998	1R,1T*	3,44E+04	-3,44	0,95	0,999	1W	6,00E+03	-3,52	0,92	0,996	1B'	8,82E+03
115	-3,53	0,92	0,998	1E	5,02E+03	-3,48	0,94	0,998	1R	9,78E+03	-3,44	0,95	0,999	1W	5,11E+03	-3,51	0,93	0,999	1D'	5,17E+03
116	-3,53	0,92	0,998	1E	1,57E+03	-3,48	0,94	0,998	1R	1,57E+03					Perda de seguimento					Perda de seguimento
117	-3,53	0,92	0,998	1E	0,00E+00	-3,48	0,94	0,998	1R	0,00E+00	-3,44	0,95	0,999	1W,1E'	0,00E+00	-3,52	0,92	0,996	1B'	0,00E+00
118	-3,53	0,92	0,998	1E	9,57E+03	-3,48	0,94	0,998	1R	1,02E+04	-3,44	0,95	0,999	1W	8,30E+03	-3,52	0,92	0,996	1B'	6,41E+03
119	-3,53	0,92	0,998	1E	8,56E+04	-3,48	0,94	0,998	1R	9,10E+04	-3,44	0,95	0,999	1W	4,65E+04	-3,53	0,92	0,998	1C'	7,15E+04
120	-3,53	0,92	0,998	1E	0,00E+00	-3,47	0,94	0,996	1R	3,14E+03	-3,44	0,95	0,999	1W	4,53E+02	-3,53	0,92	0,998	1C'	6,66E+02

EBV	Momento 0					Momento 1					Momento 2					Momento 3				
	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Cópias/10 <sup>6</sup> cells	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Cópias/10 <sup>6</sup> cells	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Cópias/10 <sup>6</sup> cells	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Cópias/10 <sup>6</sup> cells
121	-3,53	0,92	0,998	1E	8,75E+04	-3,48	0,94	0,998	1R	3,62E+04	-3,44	0,95	0,999	1W	7,93E+03	-3,53	0,92	0,998	1C'	2,74E+04
122	-3,53	0,92	0,998	1E	0,00E+00	-3,48	0,94	0,998	1R	0,00E+00	Perda de seguimento					Perda de seguimento				
123	-3,53	0,92	0,998	1E	1,44E+04	Perda de seguimento					Perda de seguimento					Perda de seguimento				
124	-3,53	0,92	0,998	1E	1,92E+03	-3,48	0,94	0,998	1R	6,63E+02	-3,44	0,95	0,999	1W	6,31E+02	-3,53	0,92	0,998	1C'	0,00E+00
125	-3,53	0,92	0,998	1E	2,91E+03	-3,48	0,94	0,998	1R	1,75E+04	-3,45	0,95	0,998	1Y	1,67E+03	Perda de seguimento				
126	-3,53	0,92	0,998	1E	5,18E+03	-3,48	0,94	0,998	1R	3,84E+03	-3,44	0,95	0,999	1W	4,10E+03	Perda de seguimento				
127	-3,53	0,92	0,998	1E	0,00E+00	-3,48	0,94	0,998	1R	1,66E+03	-3,44	0,95	0,999	1W	0,00E+00	-3,53	0,92	0,998	1C'	0,00E+00
128	-3,53	0,92	0,998	1E	2,74E+02	-3,48	0,94	0,998	1R	0,00E+00	-3,44	0,95	0,999	1W,1E'	0,00E+00	-3,53	0,92	0,998	1C'	0,00E+00
129	-3,53	0,92	0,998	1E	2,00E+03	-3,48	0,94	0,998	1R	1,83E+03	-3,44	0,95	0,999	1W	1,72E+03	-3,53	0,92	0,998	1C',1F'	7,09E+02
130	-3,44	0,95	0,995	1G,1M*	4,05E+02	-3,48	0,94	0,998	1R	0,00E+00	-3,45	0,95	0,998	1W,1E'	0,00E+00	-3,53	0,92	0,998	1C'	0,00E+00
131	-3,40	0,97	0,999	1G	3,07E+02	-3,48	0,94	0,998	1R	1,68E+03	-3,45	0,95	0,998	1Y	1,34E+03	-3,53	0,92	0,998	1C'	1,16E+04
132	-3,40	0,97	0,999	1G	5,00E+03	-3,48	0,94	0,998	1R	1,15E+04	-3,45	0,95	0,998	1Y	5,56E+03	-3,53	0,92	0,998	1C'	3,22E+04
133	-3,40	0,97	0,999	1G	6,50E+02	-3,48	0,94	0,998	1R	8,09E+02	-3,45	0,95	0,998	1Y	4,72E+02	-3,53	0,92	0,998	1C',1F'	5,01E+02
134	-3,40	0,97	0,999	1G	4,10E+02	-3,44	0,95	0,995	1S	0,00E+00	-3,45	0,95	0,998	1Y	0,00E+00	Perda de seguimento				
135	-3,66	0,88	0,997	1F,1M*	0,00E+00	-3,44	0,95	0,995	1S	2,58E+02	-3,45	0,95	0,998	1Y	3,56E+02	-3,53	0,92	0,998	1C',1F'	0,00E+00
137	-3,66	0,88	0,997	1F,1M*	2,23E+02	-3,44	0,95	0,995	1S	0,00E+00	-3,45	0,95	0,998	1Y,1E'	0,00E+00	-3,53	0,92	0,998	1C'	0,00E+00
138	-3,66	0,88	0,997	1F	1,67E+03	-3,44	0,95	0,995	1S	4,88E+03	-3,45	0,95	0,998	1Y	2,16E+03	-3,53	0,92	0,998	1C'	8,72E+03
139	-3,66	0,88	0,997	1F,1M*	6,05E+02	-3,44	0,95	0,995	1S	0,00E+00	-3,45	0,95	0,998	1Y	0,00E+00	-3,53	0,92	0,998	1C'	0,00E+00
140	-3,66	0,88	0,997	1F	2,09E+02	-3,50	0,93	0,999	1S	1,13E+03	-3,51	0,93	0,999	1D',1E'	4,10E+02	Perda de seguimento				
141	-3,66	0,88	0,997	1F	3,92E+02	-3,44	0,95	0,995	1S	7,57E+04	-3,45	0,95	0,998	1Y	1,23E+05	Perda de seguimento				
142	-3,66	0,88	0,997	1F	0,00E+00	-3,44	0,95	0,995	1S	0,00E+00	-3,45	0,95	0,998	1Y	0,00E+00	-3,53	0,92	0,998	1C'	0,00E+00
143	-3,66	0,88	0,997	1F	1,75E+03	-3,44	0,95	0,995	1S	2,30E+04	-3,45	0,95	0,998	1Y	1,22E+04	Perda de seguimento				
144	-3,38	0,98	0,991	1H	0,00E+00	-3,44	0,95	0,995	1S	0,00E+00	-3,45	0,95	0,998	1Y	0,00E+00	-3,51	0,93	0,999	1D'	0,00E+00
145	-3,40	0,97	0,999	1H	1,26E+03	-3,44	0,95	0,995	1S	1,02E+04	-3,45	0,95	0,998	1Y	6,21E+03	Perda de seguimento				
146	-3,38	0,98	0,991	1H,1L*	2,37E+02	-3,44	0,95	0,995	1S	3,79E+02	Perda de seguimento					Perda de seguimento				
147	-3,38	0,98	0,991	1H	2,44E+02	-3,44	0,95	0,995	1S	8,23E+03	Perda de seguimento					Perda de seguimento				
148	-3,38	0,98	0,991	1H,1L*	9,76E+02	-3,44	0,95	0,995	1S	9,54E+02	Perda de seguimento					Perda de seguimento				
149	-3,38	0,98	0,991	1H	0,00E+00	-3,44	0,95	0,995	1S	1,16E+03	-3,53	0,92	0,999	1C'	4,33E+02	Perda de seguimento				
150	-3,49	0,94	0,998	1H,1L*	5,20E+03	-3,44	0,95	0,995	1S	1,08E+04	-3,45	0,95	0,998	1Y	9,33E+03	Perda de seguimento				
151	-3,38	0,98	0,991	1H	0,00E+00	-3,44	0,95	0,995	1S	0,00E+00	-3,45	0,95	0,998	1Y	0,00E+00	Perda de seguimento				
152	-3,49	0,94	0,998	1H,1L*	3,33E+03	-3,44	0,95	0,995	1S	9,18E+03	Perda de seguimento					Perda de seguimento				
153	-3,38	0,98	0,991	1H	1,12E+03	-3,44	0,95	0,995	1S	6,31E+02	-3,45	0,95	0,998	1Y,1E'	0,00E+00	Perda de seguimento				

EBV	Momento 0					Momento 1					Momento 2					Momento 3				
	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Cópias/10 <sup>6</sup> cels	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Cópias/10 <sup>6</sup> cels	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Cópias/10 <sup>6</sup> cels	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Cópias/10 <sup>6</sup> cels
154	-3,38	0,98	0,991	1H	9,82E+02	-3,44	0,95	0,995	1S	1,85E+05	-3,45	0,95	0,998	1Y	5,48E+02	-3,53	0,92	0,998	1B'	3,14E+03
155	-3,47	0,94	0,997	1I	3,05E+03	-3,51	0,93	0,998	1T	9,03E+04	Perda de seguimento					Perda de seguimento				
156	-3,47	0,94	0,997	1I	1,62E+04	Perda de seguimento					Perda de seguimento					Perda de seguimento				
157	-3,47	0,94	0,997	1I	0,00E+00	-3,51	0,93	0,998	1T	0,00E+00	-3,45	0,95	0,998	1W	0,00E+00	Perda de seguimento				
158	-3,47	0,94	0,997	1I	5,16E+03	-3,51	0,93	0,998	1T	1,01E+04	-3,45	0,95	0,998	1W	2,04E+04	Perda de seguimento				
159	-3,47	0,94	0,997	1I	2,68E+03	-3,50	0,93	0,999	1T	1,91E+03	Perda de seguimento					Perda de seguimento				
160	-3,47	0,94	0,997	1I	6,72E+02	-3,51	0,93	0,998	1T	3,46E+02	Perda de seguimento					Perda de seguimento				

<sup>(1)</sup> Eficiência da reação, \* amostras reavaliadas, r<sup>2</sup> linearidade da reação. Foram excluídas amostras dos casos índices EP01-009 (paciente com história progressa de Linfoma de Hodgkin), e EP01-086 (paciente com Sarcoma de Kaposi), EP01-136 (Recrutamento duplicado: igual ao paciente índice EP01-028). Carga viral foi medida em cópias virais/10<sup>6</sup> PBMC.

Tabela 3 – Informações relevantes sobre os experimentos de qPCR para a pesquisa do KSHV/HHV-8 nas amostras dos pacientes portadores do HIV.

KSHV	Momento 0					Momento 1					Momento 2					Momento 3				
	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Cópias/10 <sup>6</sup> cels	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Cópias/10 <sup>6</sup> cels	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Cópias/10 <sup>6</sup> cels	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Cópias/10 <sup>6</sup> cels
1	-3,37	0,98	0,998	2A	0	-3,66	0,89	0,996	2I	0	-3,57	0,90	0,994	2O	0	-3,41	0,96	0,995	2Y	0
2	-3,37	0,98	0,998	2A	0	-3,66	0,89	0,996	2I	0	-3,57	0,90	0,994	2O	0	-3,49	0,93	0,998	2U	0
3	-3,37	0,98	0,998	2A	0	-3,66	0,89	0,996	2I	0	-3,57	0,90	0,994	2O	0	-3,49	0,93	0,998	2U	0
4	-3,37	0,98	0,998	2A	0	-3,66	0,89	0,996	2I	0	-3,57	0,90	0,994	2O	0	-3,39	0,99	0,995	2V	0
5	-3,37	0,98	0,998	2A	0	-3,66	0,89	0,996	2I	0	-3,57	0,90	0,994	2O	0	-3,49	0,93	0,998	2U	0
6	-3,37	0,98	0,998	2A	0	-3,66	0,89	0,996	2I	0	-3,57	0,90	0,994	2O	0	-3,49	0,93	0,998	2U	0
7	-3,37	0,98	0,998	2A	0	-3,66	0,89	0,996	2I	0	-3,57	0,90	0,994	2O	0	-3,49	0,93	0,998	2U	0
8	-3,37	0,98	0,998	2A	0	-3,66	0,89	0,996	2I	0	-3,57	0,90	0,994	2O	0	-3,49	0,93	0,998	2U	0
10	-3,37	0,98	0,998	2A	0	-3,66	0,89	0,996	2I	0	-3,57	0,90	0,994	2O	0	-3,39	0,97	0,997	2S	0
11	-3,58	0,90	0,996	2B	0	-3,66	0,89	0,996	2I	0	-3,57	0,90	0,994	2O	0	-3,49	0,93	0,998	2U	0
12	-3,58	0,90	0,996	2B	0	-3,66	0,89	0,996	2I	0	-3,57	0,90	0,994	2O	0	-3,49	0,93	0,998	2U	0
13	-3,58	0,90	0,996	2B	0	-3,66	0,89	0,996	2I	0	-3,57	0,90	0,994	2O	0	-3,49	0,93	0,998	2T	0
14	-3,58	0,90	0,996	2B	0	-3,66	0,89	0,996	2I	0	-3,57	0,90	0,994	2O	0	-3,42	0,96	0,994	2W	0
15	-3,58	0,90	0,996	2B	0	-3,66	0,89	0,996	2I	0	-3,57	0,90	0,994	2O	0	-3,49	0,93	0,998	2U	0
16	-3,58	0,90	0,996	2B	0	-3,66	0,89	0,996	2I	0	-3,57	0,90	0,994	2O	0	-3,39	0,97	0,997	2S	0
17	-3,58	0,90	0,996	2B	0	-3,66	0,89	0,996	2I	0	-3,57	0,90	0,994	2O	0	-3,39	0,97	0,997	2S	0
18	-3,58	0,90	0,996	2B	0	-3,66	0,89	0,996	2I	0	-3,57	0,90	0,994	2O	0	Perda de seguimento				

KSHV	Momento 0					Momento 1					Momento 2					Momento 3					
	Eps	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Cópias/10 <sup>6</sup> cels	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Cópias/10 <sup>6</sup> cels	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Cópias/10 <sup>6</sup> cels	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Cópias/10 <sup>6</sup> cels
19		-3,58	0,90	0,996	2B	0	-3,66	0,89	0,996	2I	0	-3,57	0,90	0,994	2O	0	-3,49	0,93	0,998	2U	0
20		-3,58	0,90	0,996	2B	0	-3,66	0,89	0,996	2I	0	-3,57	0,90	0,994	2O	0	-3,49	0,93	0,998	2U	0
21		-3,64	0,88	0,996	2C	0	-3,66	0,89	0,996	2I	0	-3,57	0,90	0,994	2O	0	-3,42	0,96	0,994	2W	0
22		-3,64	0,88	0,996	2C	0	-3,66	0,89	0,996	2I	0	-3,57	0,90	0,994	2O	0	-3,49	0,93	0,998	2T	0
23		-3,64	0,88	0,996	2C	0	-3,66	0,89	0,996	2I	0	-3,57	0,90	0,994	2O	0	-3,49	0,93	0,998	2U	0
24		-3,64	0,88	0,996	2C	0	-3,66	0,89	0,996	2I	0	-3,57	0,90	0,994	2O	0	-3,39	0,97	0,997	2S	0
25		-3,64	0,88	0,996	2C	0	-3,66	0,89	0,996	2I	0	-3,56	0,91	0,994	2P	0	-3,41	0,96	0,995	2Y	0
26		-3,64	0,88	0,996	2C	0	-3,66	0,89	0,996	2I	0	-3,56	0,91	0,994	2P	0	Perda de seguimento				
27		-3,64	0,88	0,996	2C	0	-3,66	0,89	0,996	2I	0	-3,56	0,91	0,994	2P	0	-3,49	0,93	0,998	2T	0
28		-3,64	0,88	0,996	2C	0	-3,66	0,89	0,996	2I	0	Perda de seguimento					Perda de seguimento				
29		-3,64	0,88	0,996	2C	0	-3,66	0,89	0,996	2I	0	-3,56	0,91	0,994	2P	0	-3,49	0,93	0,998	2T	0
30		-3,64	0,88	0,996	2C	0	-3,37	0,98	0,998	2J	0	-3,56	0,91	0,994	2P	0	-3,39	0,99	0,995	2V	0
31		-3,64	0,88	0,996	2C	0	-3,37	0,98	0,998	2J	0	-3,56	0,91	0,994	2P	0	-3,49	0,93	0,998	2T	0
32		-3,64	0,88	0,996	2C	0	-3,37	0,98	0,998	2J	0	-3,56	0,91	0,994	2P	0	-3,39	0,99	0,995	2V	0
33		-3,64	0,88	0,996	2C	0	-3,37	0,98	0,998	2J	0	-3,56	0,91	0,994	2P	0	-3,39	0,97	0,997	2S	0
34		-3,64	0,88	0,996	2C	0	-3,37	0,98	0,998	2J	0	-3,56	0,91	0,994	2P	0	-3,42	0,96	0,994	2W	0
35		-3,64	0,88	0,996	2C	0	-3,37	0,98	0,998	2J	0	-3,56	0,91	0,994	2P	0	-3,49	0,93	0,998	2T	0
36		-3,64	0,88	0,996	2C	0	-3,37	0,98	0,998	2J	0	-3,56	0,91	0,994	2P	0	-3,41	0,96	0,995	2Y	0
37		-3,64	0,88	0,996	2C	0	-3,37	0,98	0,998	2J	0	Perda de seguimento					Perda de seguimento				
38		-3,64	0,88	0,996	2C	0	-3,37	0,98	0,998	2J	0	-3,56	0,91	0,994	2P	0	Perda de seguimento				
39		-3,64	0,88	0,996	2C	0	-3,37	0,98	0,998	2J	0	-3,56	0,91	0,994	2P	0	-3,39	0,99	0,995	2V	0
40		-3,64	0,88	0,996	2C	0	-3,37	0,98	0,998	2J	0	-3,56	0,91	0,994	2P	0	-3,39	0,97	0,997	2S	0
41		-3,59	0,91	0,997	2D	0	-3,37	0,98	0,998	2J	0	-3,56	0,91	0,994	2P	0	-3,39	0,99	0,995	2V	0
42		-3,59	0,91	0,997	2D	0	-3,37	0,98	0,998	2J	0	-3,56	0,91	0,994	2P	0	-3,39	0,97	0,997	2S	0
43		-3,59	0,91	0,997	2D	0	-3,37	0,98	0,998	2J	0	-3,56	0,91	0,994	2P	0	-3,39	0,97	0,997	2S	0
44		-3,59	0,91	0,997	2D	0	-3,37	0,98	0,998	2J	0	-3,56	0,91	0,994	2P	0	-3,49	0,93	0,998	2T	0
45		-3,59	0,91	0,997	2D	0	-3,37	0,98	0,998	2J	0	-3,56	0,91	0,994	2P	0	-3,39	0,97	0,997	2S	0
46		-3,59	0,91	0,997	2D	0	-3,37	0,98	0,998	2J	0	-3,56	0,91	0,994	2P	0	-3,49	0,93	0,998	2T	0
47		-3,59	0,91	0,997	2D	0	-3,36	0,99	0,998	2M	0	-3,39	0,99	0,995	2V	0	Perda de seguimento				
48		-3,59	0,91	0,997	2D	0	-3,37	0,98	0,998	2J	0	-3,56	0,91	0,994	2P	0	-3,49	0,93	0,998	2T	0
49		-3,59	0,91	0,997	2D	0	-3,37	0,98	0,998	2J	0	-3,56	0,91	0,994	2P	0	-3,49	0,93	0,998	2T	0
50		-3,59	0,91	0,997	2D	0	-3,37	0,98	0,998	2J	0	-3,56	0,91	0,994	2P	0	-3,39	0,97	0,997	2S	0



KSHV	Momento 0					Momento 1					Momento 2					Momento 3				
	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Cópias/10 <sup>6</sup> cels	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Cópias/10 <sup>6</sup> cels	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Cópias/10 <sup>6</sup> cels	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Cópias/10 <sup>6</sup> cels
51	-3,57	0,91	0,999	2E	0	-3,37	0,98	0,998	2J	0	-3,56	0,91	0,994	2P	0	-3,39	0,97	0,997	2S	0
52	-3,57	0,91	0,999	2E	0	-3,37	0,98	0,998	2J	0	-3,56	0,91	0,994	2P	0	-3,39	0,97	0,997	2S	0
53	-3,57	0,91	0,999	2E	0	-3,37	0,98	0,998	2J	0	-3,56	0,91	0,994	2P	0	-3,39	0,99	0,995	2V	0
54	-3,57	0,91	0,999	2E	0	-3,37	0,98	0,998	2J	0	-3,56	0,91	0,994	2P	0	-3,39	0,99	0,995	2V	0
55	-3,57	0,91	0,999	2E	0	-3,37	0,98	0,998	2J	0	-3,56	0,91	0,994	2P	0	-3,39	0,99	0,995	2V	0
56	-3,57	0,91	0,999	2E	0	-3,36	0,99	0,998	2M	0	-3,56	0,91	0,994	2P	0	-3,39	0,97	0,997	2S	0
57	-3,57	0,91	0,999	2E	0	-3,37	0,98	0,998	2J	0	-3,56	0,91	0,994	2P	0	-3,39	0,97	0,997	2S	0
58	-3,57	0,91	0,999	2E	0	-3,37	0,98	0,998	2J	0	-3,56	0,91	0,994	2P	0	-3,49	0,93	0,998	2T	0
59	-3,57	0,91	0,999	2E	0	-3,37	0,98	0,998	2J	0	-3,56	0,91	0,994	2P	0	-3,39	0,99	0,995	2V	0
60	-3,57	0,91	0,999	2E	0	-3,37	0,98	0,998	2J	0	-3,62	0,89	0,998	2Q	0	-3,49	0,93	0,998	2T	0
61	-3,57	0,91	0,999	2E	0	-3,37	0,98	0,998	2J	0	-3,62	0,89	0,998	2Q	0	-3,39	0,97	0,997	2S	0
62	-3,57	0,91	0,999	2E	0	-3,37	0,98	0,998	2J	0	-3,62	0,89	0,998	2Q	0	-3,39	0,97	0,997	2S	0
63	-3,57	0,91	0,999	2E	0	-3,37	0,98	0,998	2J	0	-3,39	0,99	0,995	2V	0	-3,39	0,97	0,997	2S	0
64	-3,57	0,91	0,999	2E	0	-3,42	0,96	0,998	2K	0	-3,62	0,89	0,998	2Q	0	-3,39	0,99	0,995	2V	0
65	-3,57	0,91	0,999	2E	0	-3,42	0,96	0,998	2K	0	-3,62	0,89	0,998	2Q	0	-3,39	0,99	0,995	2V	0
66	-3,57	0,91	0,999	2E	0	-3,42	0,96	0,998	2K	0	-3,62	0,89	0,998	2Q	0	-3,39	0,99	0,995	2V	0
67	-3,57	0,91	0,999	2E	0	-3,36	0,99	0,998	2M	0	-3,41	0,96	0,995	2Y	0	-3,39	0,99	0,995	2V	0
68	-3,57	0,91	0,999	2E	0	-3,42	0,96	0,998	2K	0	-3,62	0,89	0,998	2Q	0	-3,39	0,99	0,995	2V	0
69	-3,57	0,91	0,999	2E	0	-3,42	0,96	0,998	2K	0	-3,62	0,89	0,998	2Q	0	-3,39	0,99	0,995	2V	0
70	-3,57	0,91	0,999	2E	0	-3,42	0,96	0,998	2K	0	-3,62	0,89	0,998	2Q	0	-3,49	0,93	0,998	2T	0
71	-3,57	0,91	0,999	2E	0	-3,42	0,96	0,998	2K	0	-3,62	0,89	0,998	2Q	0	-3,49	0,93	0,998	2T	0
72	-3,57	0,91	0,999	2E	0	-3,42	0,96	0,998	2K	0	-3,62	0,89	0,998	2Q	0	-3,49	0,93	0,998	2T	0
73	-3,57	0,91	0,999	2E	0	-3,42	0,96	0,998	2K	0	-3,62	0,89	0,998	2Q	0	-3,49	0,93	0,998	2T	0
74	-3,57	0,91	0,999	2E	0	-3,42	0,96	0,998	2K	0	-3,62	0,89	0,998	2Q	0	-3,42	0,96	0,994	2W	0
75	-3,57	0,91	0,999	2E	0	-3,42	0,96	0,998	2K	0	-3,62	0,89	0,998	2Q	0	-3,49	0,93	0,998	2T	0
76	-3,57	0,91	0,999	2E	0	-3,42	0,96	0,998	2K	0	-3,62	0,89	0,998	2Q	0	-3,49	0,93	0,998	2T	0
77	-3,42	0,96	0,998	2F	0	-3,42	0,96	0,998	2K	0	-3,62	0,89	0,998	2Q	0	-3,49	0,93	0,998	2T	0
78	-3,42	0,96	0,998	2F	0	-3,42	0,96	0,998	2K	0	-3,62	0,89	0,998	2Q	0	-3,49	0,93	0,998	2T	0
79	-3,42	0,96	0,998	2F	0	-3,42	0,96	0,998	2K	0	-3,62	0,89	0,998	2Q	0	-3,49	0,93	0,998	2T	0
80	-3,42	0,96	0,998	2F	0	-3,42	0,96	0,998	2K	0	-3,62	0,89	0,998	2Q	0	-3,49	0,93	0,998	2T	0
81	-3,42	0,96	0,998	2F	0	-3,42	0,96	0,998	2K	0	-3,62	0,89	0,998	2Q	0	-3,39	0,99	0,995	2V	0
82	-3,42	0,96	0,998	2F	0	-3,42	0,96	0,998	2K	0	-3,62	0,89	0,998	2Q	0	-3,49	0,93	0,998	2T	0

KSHV	Momento 0					Momento 1					Momento 2					Momento 3				
	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Cópias/10 <sup>6</sup> cels	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Cópias/10 <sup>6</sup> cels	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Cópias/10 <sup>6</sup> cels	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Cópias/10 <sup>6</sup> cels
83	-3,42	0,96	0,998	2F	0	-3,42	0,96	0,998	2K	0	-3,62	0,89	0,998	2Q	0	-3,49	0,93	0,998	2T	0
84	-3,42	0,96	0,998	2F	0	-3,42	0,96	0,998	2K	0	-3,62	0,89	0,998	2Q	0	-3,49	0,93	0,998	2T	0
85	-3,42	0,96	0,998	2F	0	-3,42	0,96	0,998	2K	0	Perda de seguimento					Perda de seguimento				
87	-3,42	0,96	0,998	2F	0	-3,66	0,87	0,994	2L	0	-3,62	0,89	0,998	2Q	0	-3,54	0,92	0,994	2X	0
88	-3,42	0,96	0,998	2F	0	-3,66	0,87	0,994	2L	0	-3,62	0,89	0,998	2Q	0	-3,49	0,93	0,998	2T	0
89	-3,42	0,96	0,998	2F	0	-3,66	0,87	0,994	2L	0	-3,62	0,89	0,998	2Q	0	-3,49	0,93	0,998	2T	0
90	-3,42	0,96	0,998	2F	0	-3,66	0,87	0,994	2L	0	-3,62	0,89	0,998	2Q	0	-3,49	0,93	0,998	2U	0
91	-3,42	0,96	0,998	2F	0	-3,66	0,87	0,994	2L	0	-3,62	0,89	0,998	2Q	0	-3,49	0,93	0,998	2U	0
92	-3,42	0,96	0,998	2F	0	-3,66	0,87	0,994	2L	0	-3,62	0,89	0,998	2Q	0	-3,49	0,93	0,998	2U	0
93	-3,42	0,96	0,998	2F	0	Perda de seguimento					-3,62	0,89	0,998	2Q	0	-3,49	0,93	0,998	2U	0
94	-3,42	0,96	0,998	2F	0	-3,66	0,87	0,994	2L	0	-3,33	1,00	0,996	2R	0	-3,49	0,93	0,998	2U	0
95	-3,42	0,96	0,998	2F	0	-3,66	0,87	0,994	2L	0	-3,33	1,00	0,996	2R	0	-3,49	0,93	0,998	2U	0
96	-3,42	0,96	0,998	2F	0	-3,66	0,87	0,994	2L	0	-3,33	1,00	0,996	2R	0	-3,54	0,92	0,994	2X	0
97	-3,42	0,96	0,998	2F	0	-3,66	0,87	0,994	2L	0	-3,33	1,00	0,996	2R	0	-3,49	0,93	0,998	2U	0
98	-3,42	0,96	0,998	2F	0	-3,66	0,87	0,994	2L	0	-3,33	1,00	0,996	2R	0	Perda de seguimento				
99	-3,42	0,96	0,998	2F	0	-3,66	0,87	0,994	2L	0	-3,33	1,00	0,996	2R	0	-3,41	0,96	0,995	2Y	0
100	-3,42	0,96	0,998	2F	0	-3,66	0,87	0,994	2L	0	-3,33	1,00	0,996	2R	0	-3,39	0,99	0,995	2V	0
101	-3,42	0,96	0,998	2F	0	-3,66	0,87	0,994	2L	0	-3,33	1,00	0,996	2R	0	-3,39	0,99	0,995	2V	0
102	-3,42	0,96	0,998	2F	0	-3,66	0,87	0,994	2L	0	-3,33	1,00	0,996	2R	0	-3,41	0,96	0,995	2Y	0
103	-3,42	0,96	0,998	2F	0	-3,66	0,87	0,994	2L	0	-3,33	1,00	0,996	2R	0	-3,49	0,93	0,998	2U	0
104	-3,42	0,96	0,998	2F	0	-3,66	0,87	0,994	2L	0	-3,33	1,00	0,996	2R	0	-3,49	0,93	0,998	2U	0
105	-3,62	0,89	0,996	2F	0	-3,66	0,87	0,994	2L	0	-3,33	1,00	0,996	2R	0	-3,49	0,93	0,998	2U	0
106	-3,62	0,89	0,996	2G	0	-3,66	0,87	0,994	2L	0	Perda de seguimento					Perda de seguimento				
107	-3,62	0,89	0,996	2G	0	-3,66	0,87	0,994	2L	0	-3,33	1,00	0,996	2R	0	-3,49	0,93	0,998	2U	0
108	-3,62	0,89	0,996	2G	0	-3,66	0,87	0,994	2L	0	-3,33	1,00	0,996	2R	0	Perda de seguimento				
109	-3,62	0,89	0,996	2G	0	-3,66	0,87	0,994	2L	0	-3,33	1,00	0,996	2R	0	-3,49	0,93	0,998	2U	0
110	-3,62	0,89	0,996	2G	0	-3,66	0,87	0,994	2L	0	-3,33	1,00	0,996	2R	0	-3,49	0,93	0,998	2U	0
111	-3,62	0,89	0,996	2G	0	-3,66	0,87	0,994	2L	0	-3,33	1,00	0,996	2R	0	-3,49	0,93	0,998	2U	0
112	-3,62	0,89	0,996	2G	0	-3,66	0,87	0,994	2L	0	-3,33	1,00	0,996	2R	0	-3,39	0,99	0,995	2V	0
113	-3,62	0,89	0,996	2G	0	-3,66	0,87	0,994	2L	0	-3,33	1,00	0,996	2R	0	-3,49	0,93	0,998	2U	0
114	-3,62	0,89	0,996	2G	0	-3,66	0,87	0,994	2L	0	-3,33	1,00	0,996	2R	0	-3,41	0,96	0,995	2Y	0
115	-3,62	0,89	0,996	2G	0	-3,66	0,87	0,994	2L	1283,657	-3,54	0,92	0,994	2X	0	-3,54	0,92	0,994	2X	0

KSHV	Momento 0				Momento 1				Momento 2				Momento 3										
	Slope	Efic.(1)	r²	Figura	Cópias/10⁶ cels	Slope	Efic.(1)	r²	Figura	Cópias/10⁶ cels	Slope	Efic.(1)	r²	Figura	Cópias/10⁶ cels	Slope	Efic.(1)	r²	Figura	Cópias/10⁶ cels			
116	-3,62	0,89	0,996	2G	0	-3,66	0,87	0,994	2L	0	-3,33	1,00	0,996	2R	0	-3,49	0,93	0,998	2U	0			
117	-3,62	0,89	0,996	2G	0	-3,66	0,87	0,994	2L	0	-3,33	1,00	0,996	2R	0	-3,49	0,93	0,998	2U	0			
118	-3,62	0,89	0,996	2G	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	-3,33	1,00	0,996	2R	0	-3,49	0,93	0,998	2U	0			
119	-3,62	0,89	0,996	2G	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	-3,33	1,00	0,996	2R	0	-3,49	0,93	0,998	2U	0			
120	-3,62	0,89	0,996	2G	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	-3,33	1,00	0,996	2R	0	-3,49	0,93	0,998	2U	0			
121	-3,62	0,89	0,996	2G	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	-3,33	1,00	0,996	2R	0					0			
122	-3,62	0,89	0,996	2G	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	Perda de seguimiento				Perda de seguimiento				Perda de seguimiento				
123	-3,62	0,89	0,996	2G	0	Perda de seguimiento				Perda de seguimiento				Perda de seguimiento				Perda de seguimiento					
124	-3,62	0,89	0,996	2G	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	-3,33	1,00	0,996	2R	0	-3,39	0,99	0,995	2V	0			
125	-3,62	0,89	0,996	2G	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	-3,41	0,96	0,995	2Y	0	Perda de seguimiento				Perda de seguimiento			
126	-3,62	0,89	0,996	2G	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	-3,33	1,00	0,996	2R	0	Perda de seguimiento				Perda de seguimiento			
127	-3,62	0,89	0,996	2G	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	-3,33	1,00	0,996	2R	0	-3,54	0,92	0,994	2X	0			
128	-3,62	0,89	0,996	2G	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	-3,33	1,00	0,996	2R	0	-3,49	0,93	0,998	2U	0			
129	-3,62	0,89	0,996	2G	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	-3,39	0,99	0,995	2V	0	-3,54	0,92	0,994	2X	0			
130	-3,62	0,89	0,996	2G	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	-3,39	0,97	0,997	2S	0	-3,54	0,92	0,994	2X	0			
131	-3,62	0,89	0,996	2G	0	-3,36	0,99	0,998	2M	0	-3,39	0,97	0,997	2S	0	-3,41	0,96	0,995	2Y	0			
132	-3,58	0,90	0,984	2H	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	-3,39	0,97	0,997	2S	0	-3,41	0,96	0,995	2Y	0			
133	-3,58	0,90	0,984	2H	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	-3,39	0,99	0,995	2V	0	-3,49	0,93	0,998	2U	0			
134	-3,58	0,90	0,984	2H	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	-3,39	0,97	0,997	2S	0	Perda de seguimiento				Perda de seguimiento			
135	-3,58	0,90	0,984	2H	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	-3,39	0,97	0,997	2S	0	-3,39	0,99	0,995	2V	0			
137	-3,58	0,90	0,984	2H	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	-3,39	0,97	0,997	2S	0	-3,41	0,96	0,995	2Y	0			
138	-3,58	0,90	0,984	2H	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	-3,39	0,97	0,997	2S	0	-3,42	0,96	0,994	2W	0			
139	-3,58	0,90	0,984	2H	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	-3,39	0,97	0,997	2S	0	-3,41	0,96	0,995	2Y	0			
140	-3,58	0,90	0,984	2H	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	-3,39	0,97	0,997	2S	0	Perda de seguimiento				Perda de seguimiento			
141	-3,58	0,90	0,984	2H	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	-3,39	0,99	0,995	2V	0	Perda de seguimiento				Perda de seguimiento			
142	-3,58	0,90	0,984	2H	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	-3,39	0,97	0,997	2S	0	-3,42	0,96	0,994	2W	0			
143	-3,58	0,90	0,984	2H	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	-3,39	0,97	0,997	2S	0	Perda de seguimiento				Perda de seguimiento			
144	-3,58	0,90	0,984	2H	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	-3,41	0,96	0,995	2Y	0	-3,41	0,96	0,995	2Y	0			
145	-3,58	0,90	0,984	2H	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	-3,41	0,96	0,995	2Y	0	Perda de seguimiento				Perda de seguimiento			
146	-3,58	0,90	0,984	2H	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	Perda de seguimiento				Perda de seguimiento				Perda de seguimiento				
147	-3,58	0,90	0,984	2H	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	Perda de seguimiento				Perda de seguimiento				Perda de seguimiento				
148	-3,58	0,90	0,984	2H	0	-3,36	0,99	0,998	2M	0	Perda de seguimiento				Perda de seguimiento				Perda de seguimiento				

KSHV	Momento 0					Momento 1					Momento 2					Momento 3				
	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Cópias/10 <sup>6</sup> cels	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Cópias/10 <sup>6</sup> cels	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Cópias/10 <sup>6</sup> cels	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Cópias/10 <sup>6</sup> cels
Eps	-3,58	0,90	0,984	2H	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	-3,41	0,96	0,995	2Y	0	Perda de seguimento				
149	-3,58	0,90	0,984	2H	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	-3,41	0,96	0,995	2Y	0	Perda de seguimento				
150	-3,58	0,90	0,984	2H	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	-3,39	0,97	0,992	2S	0	Perda de seguimento				
151	-3,58	0,90	0,984	2H	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	Perda de seguimento				
152	-3,58	0,90	0,984	2H	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	Perda de seguimento				
153	-3,58	0,90	0,984	2H	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	Perda de seguimento				
154	-3,58	0,90	0,984	2H	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	Perda de seguimento				
155	-3,58	0,90	0,984	2H	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	Perda de seguimento				
156	-3,58	0,90	0,984	2H	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	Perda de seguimento				
157	-3,58	0,90	0,984	2H	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	Perda de seguimento				
158	-3,58	0,90	0,984	2H	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	Perda de seguimento				
159	-3,58	0,90	0,984	2H	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	Perda de seguimento				
160	-3,58	0,90	0,984	2H	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	-3,39	0,97	0,992	2N	0	Perda de seguimento				

<sup>(1)</sup> Eficiência da reação, \* amostras reavaliadas, r<sup>2</sup> linearidade da reação. Foram excluídas amostras dos casos índices EP01-009 (paciente com história progressa de Linfoma de Hodgkin), e EP01-086 (paciente com Sarcoma de Kaposi), EP01-136 (Recrutamento duplicado: igual ao paciente índice EP01-028). Carga viral foi medida em cópias virais/10<sup>6</sup> PBMC.

Tabela 4 – Informações relevantes sobre os experimentos de qPCR para a estimativa do número de células correspondente à quantidade de DNA nas amostras dos pacientes portadores do HIV pela amplificação do ERV-3 humano.

ERV-3	Momento 0					Momento 1					Momento 2					Momento 3				
	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Número cels	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Número cels	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Número cels	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Número cels
1	-3,67	0,87	0,999	3A	6,24E+04	-3,58	0,90	0,999	3F	9,53E+04	-3,46	0,95	0,999	3K	1,02E+05	-3,76	0,84	0,999	3N	6,60E+04
2	-3,67	0,87	0,999	3A	3,25E+04	-3,58	0,90	0,999	3F	7,62E+04	-3,46	0,95	0,999	3K	6,71E+04	-3,76	0,84	0,999	3N	9,83E+04
3	-3,67	0,87	0,999	3A	2,11E+04	-3,58	0,90	0,999	3F	1,29E+05	-3,46	0,95	0,999	3K	1,31E+05	-3,76	0,84	0,999	3N	5,96E+04
4	-3,67	0,87	0,999	3A	3,56E+04	-3,58	0,90	0,999	3F	5,24E+04	-3,46	0,95	0,999	3K	7,82E+04	-3,76	0,84	0,999	3N	1,03E+05
5	-3,67	0,87	0,999	3A	4,50E+04	-3,58	0,90	0,999	3F	4,33E+04	-3,46	0,95	0,999	3K	9,46E+04	-3,76	0,84	0,999	3N	8,97E+04
6	-3,67	0,87	0,999	3A	3,57E+04	-3,58	0,90	0,999	3F	3,90E+04	-3,46	0,95	0,999	3K	9,24E+04	-3,76	0,84	0,999	3N	1,51E+05
7	-3,67	0,87	0,999	3A	3,63E+04	-3,58	0,90	0,999	3F	2,06E+05	-3,46	0,95	0,999	3K	6,96E+04	-3,76	0,84	0,999	3N	7,17E+04
8	-3,67	0,87	0,999	3A	7,02E+04	-3,58	0,90	0,999	3F	1,16E+05	-3,46	0,95	0,999	3K	9,58E+04	-3,48	0,94	0,997	3O	5,17E+04
10	-3,67	0,87	0,999	3A	4,41E+04	-3,58	0,90	0,999	3F	2,91E+04	-3,46	0,95	0,999	3K	9,58E+04	-3,48	0,94	0,997	3O	5,17E+04
11	-3,67	0,87	0,999	3A	4,41E+04	-3,58	0,90	0,999	3F	2,91E+04	-3,46	0,95	0,999	3K	9,58E+04	-3,48	0,94	0,997	3O	5,17E+04
12	-3,67	0,87	0,999	3A	7,02E+04	-3,58	0,90	0,999	3F	1,16E+05	-3,46	0,95	0,999	3K	9,58E+04	-3,48	0,94	0,997	3O	5,17E+04
13	-3,67	0,87	0,999	3A	7,02E+04	-3,58	0,90	0,999	3F	1,16E+05	-3,46	0,95	0,999	3K	9,58E+04	-3,48	0,94	0,997	3O	5,17E+04

ERV-3	Momento 0						Momento 1						Momento 2						Momento 3					
	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Número cels		Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Número cels		Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Número cels		Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Número cels	
14	-3,67	0,87	0,999	3A	3,05E+04		-3,58	0,90	0,999	3F	1,11E+05		-3,46	0,95	0,999	3K	1,41E+05		-3,48	0,94	0,997	3O	1,11E+05	
15	-3,67	0,87	0,999	3A	5,68E+04		-3,58	0,90	0,999	3F	3,22E+05		-3,46	0,95	0,999	3K	1,98E+05		-3,48	0,94	0,997	3O	1,73E+05	
16	-3,60	0,90	0,998	3E	6,45E+04		-3,58	0,90	0,999	3F	1,98E+05		-3,46	0,95	0,999	3K	1,01E+05		-3,48	0,94	0,997	3O	1,31E+05	
17	-3,67	0,87	0,999	3A	5,71E+04		-3,58	0,90	0,999	3F	1,69E+05		-3,46	0,95	0,999	3K	1,38E+05		-3,48	0,94	0,997	3O	3,02E+05	
18	-3,67	0,87	0,999	3A	6,50E+04		-3,58	0,90	0,999	3F	1,90E+05		-3,46	0,95	0,999	3K	2,29E+05					NR		
19	-3,67	0,87	0,999	3A	6,88E+04		-3,58	0,90	0,999	3F	1,39E+05		-3,46	0,95	0,999	3K	2,25E+05		-3,48	0,94	0,997	3O	1,35E+05	
20	-3,67	0,87	0,999	3A	3,31E+04		-3,58	0,90	0,999	3F	1,93E+05		-3,46	0,95	0,999	3K	6,50E+04		-3,48	0,94	0,997	3O	1,87E+05	
21	-3,67	0,87	0,999	3A	3,67E+04		-3,58	0,90	0,999	3F	9,10E+04		-3,46	0,95	0,999	3K	1,08E+05		-3,48	0,94	0,997	3O	5,53E+04	
22	-3,67	0,87	0,999	3A	3,62E+04		-3,58	0,90	0,999	3F	1,49E+05		-3,46	0,95	0,999	3K	8,61E+04		-3,48	0,94	0,997	3O	2,99E+05	
23				NR			-3,58	0,90	0,999	3F	7,86E+04					NR						NR		
24	-3,67	0,87	0,999	3A	6,67E+04		-3,58	0,90	0,999	3F	1,50E+05		-3,46	0,95	0,999	3K	1,31E+05		-3,48	0,94	0,997	3O	2,01E+05	
25				NR						NR						NR						NR		
26	-3,67	0,87	0,999	3A	7,24E+04		-3,58	0,90	0,999	3F	9,98E+04		-3,46	0,95	0,999	3K	1,37E+05					NR		
27	-3,67	0,87	0,999	3A	7,74E+04		-3,58	0,90	0,999	3F	2,09E+05		-3,46	0,95	0,999	3K	1,18E+05		-3,48	0,94	0,997	3O	2,71E+05	
28	-3,67	0,87	0,999	3A	3,30E+04		-3,58	0,90	0,999	3F	7,30E+04					NR						NR		
29				NR						NR						NR						NR		
30	-3,67	0,87	0,999	3A	8,27E+04		-3,58	0,90	0,999	3F	1,16E+05		-3,46	0,95	0,999	3K	8,81E+04					NR		
31	-3,67	0,87	0,999	3A	7,06E+04		-3,58	0,90	0,999	3F	6,27E+04		-3,46	0,95	0,999	3K	1,12E+05		-3,48	0,94	0,997	3O	1,58E+05	
32	-3,60	0,90	0,998	3E	1,25E+05		-3,58	0,90	0,999	3F	1,59E+05					NR			-3,48	0,94	0,997	3O	3,00E+05	
33				NR			-3,40	0,97	0,998	3F	8,50E+04					NR			-3,48	0,94	0,997	3O	1,00E+05	
34				NR						NR						NR						NR		
35	-3,67	0,87	0,999	3A	4,82E+04		-3,58	0,90	0,999	3F	1,33E+05		-3,46	0,95	0,999	3K	1,24E+05		-3,48	0,94	0,997	3O	1,68E+05	
36	-3,67	0,87	0,999	3A	2,81E+04		-3,58	0,90	0,999	3F	4,01E+04		-3,46	0,95	0,999	3K	6,43E+04		-3,48	0,94	0,997	3O	6,97E+04	
37				NR			-3,58	0,90	0,999	3F	1,09E+05					NR						NR		
38	-3,60	0,90	0,998	3E	7,77E+04		-3,58	0,90	0,999	3F	4,54E+04		-3,46	0,95	0,999	3K	1,37E+05					NR		
39	-3,67	0,87	0,999	3A	3,16E+04		-3,58	0,90	0,999	3F	1,10E+05		-3,46	0,95	0,999	3K	9,52E+04		-3,48	0,94	0,997	3O	8,19E+04	
40	-3,67	0,87	0,999	3A	9,30E+04		-3,58	0,90	0,999	3F	1,01E+05		-3,46	0,95	0,999	3K	1,51E+05		-3,48	0,94	0,997	3O	1,98E+05	
41	-3,67	0,87	0,999	3A	8,03E+04		-3,58	0,90	0,999	3F	1,91E+05		-3,46	0,95	0,999	3K	1,27E+05		-3,48	0,94	0,997	3O	1,31E+05	
42	-3,74	0,85	0,996	3B	1,06E+05					NR						NR			-3,55	0,91	0,999	3Q	1,18E+05	
43	-3,74	0,85	0,996	3B	3,23E+04					NR			-3,61	0,89	0,997	3L	1,11E+05		-3,48	0,94	0,997	3O	7,49E+04	
44				NR						NR						NR						NR		
45	-3,60	0,90	0,998	3E	7,69E+04		-3,58	0,90	0,999	3F	1,44E+05		-3,61	0,89	0,997	3L	1,80E+05		-3,55	0,91	0,999	3Q	9,17E+04	

ERV-3	Momento 0					Momento 1					Momento 2					Momento 3				
	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Número cels	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Número cels	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Número cels	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Número cels
46				N.R.		-3,58	0,90	0,999	3F	6,15E+04	-3,61	0,89	0,997	3L	1,68E+05					
47				N.R.		-3,58	0,90	0,999	3F	7,03E+04	-3,61	0,89	0,997	3L	1,94E+05					
48	-3,74	0,85	0,996	3B	6,17E+04	-3,58	0,90	0,999	3F	3,47E+04	-3,61	0,89	0,997	3L	2,29E+05	-3,48	0,94	0,997	3O	1,34E+05
49	-3,74	0,85	0,996	3B	9,64E+04				N.R.		-3,61	0,89	0,997	3L	1,76E+05	-3,48	0,94	0,997	3O	8,79E+04
50	-3,74	0,85	0,996	3B	6,94E+04	-3,82	0,83	0,997	3G	1,35E+05	-3,61	0,89	0,997	3L	1,27E+05	-3,48	0,94	0,997	3O	1,35E+05
51	-3,74	0,85	0,996	3B	4,48E+04	-3,82	0,83	0,997	3G	1,25E+05	-3,61	0,89	0,997	3L	5,77E+04	-3,48	0,94	0,997	3O	3,24E+04
52				N.R.		-3,82	0,83	0,997	3G	5,71E+04				N.R.		-3,48	0,94	0,997	3O	6,09E+04
53				N.R.					N.R.					N.R.						
54	-3,74	0,85	0,996	3B	6,70E+04	-3,82	0,83	0,997	3G	5,16E+04	-3,61	0,89	0,997	3L	9,57E+04	-3,48	0,94	0,997	3O	1,16E+05
55				N.R.					N.R.					N.R.						
56	-3,74	0,85	0,996	3B	9,16E+04	-3,82	0,83	0,997	3G	8,78E+04	-3,61	0,89	0,997	3L	1,35E+05					
57				N.R.		-3,82	0,83	0,997	3G	5,48E+04				N.R.		-3,48	0,94	0,997	3O	9,52E+04
58				N.R.					N.R.		-3,61	0,89	0,997	3L	9,57E+04					
59	-3,60	0,90	0,998	3E	9,56E+04	-3,82	0,83	0,997	3G	8,62E+04	-3,61	0,89	0,997	3L	1,35E+05					
60	-3,60	0,90	0,998	3E	6,95E+04				N.R.		-3,61	0,89	0,997	3L	3,69E+04	-3,48	0,94	0,997	3O	6,22E+04
61	-3,74	0,85	0,996	3B	9,99E+04	-3,82	0,83	0,997	3G	1,26E+05	-3,61	0,89	0,997	3L	3,47E+05	-3,48	0,94	0,997	3O	2,53E+05
62	-3,74	0,85	0,996	3B	7,92E+04	-3,82	0,83	0,997	3G	1,18E+05	-3,61	0,89	0,997	3L	1,66E+05	-3,48	0,94	0,997	3O	7,33E+04
63	-3,74	0,85	0,996	3B	1,37E+05	-3,82	0,83	0,997	3G	5,50E+04	-3,61	0,89	0,997	3L	6,25E+04					
64	-3,74	0,85	0,996	3B	2,54E+04				N.R.					N.R.						
65	-3,60	0,90	0,998	3E	6,42E+04				N.R.		-3,61	0,89	0,997	3L	1,10E+05					
66	-3,74	0,85	0,996	3B	1,08E+05	-3,82	0,83	0,997	3G	1,07E+05	-3,61	0,89	0,997	3L	2,02E+05	-3,48	0,94	0,997	3O	1,99E+05
67	-3,74	0,85	0,996	3B	1,27E+05				N.R.					N.R.						
68	-3,74	0,85	0,996	3B	7,46E+04	-3,82	0,83	0,997	3G	1,42E+05	-3,61	0,89	0,997	3L	1,37E+05	-3,48	0,94	0,997	3O	7,02E+04
69	-3,74	0,85	0,996	3B	6,06E+04	-3,82	0,83	0,997	3G	1,82E+04	-3,61	0,89	0,997	3L	1,75E+05	-3,48	0,94	0,997	3O	1,09E+05
70	-3,74	0,85	0,996	3B	3,65E+04	-3,82	0,83	0,997	3G	7,05E+04	-3,61	0,89	0,997	3L	5,54E+04					
71	-3,74	0,85	0,996	3B	8,32E+04	-3,82	0,83	0,997	3G	1,89E+05	-3,61	0,89	0,997	3L	1,12E+05	-3,48	0,94	0,997	3O	1,81E+05
72	-3,74	0,85	0,996	3B	7,75E+04	-3,36	0,99	0,999	3J	7,59E+04	-3,61	0,89	0,997	3L	1,23E+05	-3,72	0,86	0,996	3P	1,26E+05
73	-3,74	0,85	0,996	3B	3,34E+04	-3,36	0,99	0,999	3J	5,08E+04	-3,61	0,89	0,997	3L	1,28E+05					
74	-3,74	0,85	0,996	3B	8,88E+04	-3,82	0,83	0,997	3G	1,04E+05	-3,61	0,89	0,997	3L	1,06E+05	-3,72	0,86	0,996	3P	2,37E+05
75				N.R.		-3,82	0,83	0,997	3G	8,62E+04				N.R.		-3,72	0,86	0,996	3P	6,47E+04
76	-3,74	0,85	0,996	3B	1,02E+05	-3,82	0,83	0,997	3G	1,92E+05				N.R.						
77	-3,74	0,85	0,996	3B	1,11E+05	-3,82	0,83	0,997	3G	5,16E+04	-3,61	0,89	0,997	3L	3,49E+05	-3,72	0,86	0,996	3P	3,00E+05

ERV-3	Momento 0					Momento 1					Momento 2					Momento 3				
	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Número cels	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Número cels	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Número cels	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Número cels
78				N.R.					N.R.					N.R.					N.R.	
79	-3,74	0,85	0,996	3B	8,61E+04	-3,82	0,83	0,997	3G	6,88E+04	-3,61	0,89	0,997	3L	2,63E+05	-3,72	0,86	0,996	3P	2,10E+05
80	-3,74	0,85	0,996	3B	1,14E+05	-3,82	0,83	0,997	3G	4,64E+04	-3,61	0,89	0,997	3L	1,82E+05	-3,72	0,86	0,996	3P	8,56E+04
81	-3,74	0,85	0,996	3B	4,81E+04	-3,82	0,83	0,997	3G	5,74E+04	-3,61	0,89	0,997	3L	1,34E+05	-3,72	0,86	0,996	3P	8,56E+04
82	-3,74	0,85	0,996	3B	8,09E+04	-3,82	0,83	0,997	3G	7,19E+04				N.R.		-3,72	0,86	0,996	3P	7,82E+04
83	-3,74	0,85	0,996	3B	7,53E+04	-3,82	0,83	0,997	3G	4,69E+04	-3,61	0,89	0,997	3L	1,45E+05	-3,72	0,86	0,996	3P	1,94E+05
84	-3,74	0,85	0,996	3B	5,01E+04	-3,82	0,83	0,997	3G	5,26E+04	-3,51	0,93	0,997	3M	1,16E+05	-3,72	0,86	0,996	3P	6,12E+04
85	-3,74	0,85	0,996	3B	1,20E+05	-3,82	0,83	0,997	3G	9,53E+04				N.R.					N.R.	
87		0,84	0,999	3C	8,03E+04	-3,82	0,83	0,997	3G	1,10E+05	-3,51	0,93	0,997	3M	2,09E+05	-3,72	0,86	0,996	3P	8,36E+04
88	-3,79	0,84	0,999	3C	6,08E+04				N.R.		-3,51	0,93	0,997	3M	1,05E+05	-3,72	0,86	0,996	3P	8,77E+04
89				N.R.					N.R.					N.R.					N.R.	
90	-3,79	0,84	0,999	3C	6,96E+04	-3,82	0,83	0,997	3G	5,60E+04	-3,51	0,93	0,997	3M	1,60E+05				N.R.	
91	-3,79	0,84	0,999	3C	4,69E+04	-3,82	0,83	0,997	3G	4,64E+04	-3,51	0,93	0,997	3M	8,94E+04	-3,72	0,86	0,996	3P	5,71E+04
92				N.R.		-3,82	0,83	0,997	3G	1,71E+05				N.R.		-3,72	0,86	0,996	3P	9,35E+04
93	-3,79	0,84	0,999	3C	9,44E+04				N.R.					N.R.					N.R.	
94	-3,79	0,84	0,999	3C	5,57E+04	-3,82	0,83	0,997	3G	1,02E+05	-3,51	0,93	0,997	3M	1,26E+05	-3,72	0,86	0,996	3P	1,22E+05
95	-3,79	0,84	0,999	3C	1,09E+05	-3,82	0,83	0,997	3G	1,11E+05	-3,51	0,93	0,997	3M	9,63E+04	-3,72	0,86	0,996	3P	1,33E+04
96				N.R.					N.R.					N.R.					N.R.	
97	-3,79	0,84	0,999	3C	9,05E+04	-3,82	0,83	0,997	3G	9,56E+04	-3,51	0,93	0,997	3M	1,27E+05	-3,72	0,86	0,996	3P	1,16E+05
98	-3,79	0,84	0,999	3C	8,53E+04				N.R.		-3,51	0,93	0,997	3M	2,36E+05				N.R.	
99	-3,79	0,84	0,999	3C	1,02E+05	-3,82	0,83	0,997	3G	1,42E+05	-3,51	0,93	0,997	3M	8,75E+04	-3,72	0,86	0,996	3P	9,18E+04
100	-3,79	0,84	0,999	3C	1,16E+05				N.R.					N.R.		-3,72	0,86	0,996	3P	2,23E+05
101				N.R.					N.R.		-3,51	0,93	0,997	3M	1,33E+05				N.R.	
102	-3,79	0,84	0,999	3C	1,63E+05	-3,82	0,83	0,997	3G	9,29E+04	-3,51	0,93	0,997	3M	2,94E+05	-3,72	0,86	0,996	3P	1,41E+05
103	-3,79	0,84	0,999	3C	3,94E+04	-3,82	0,83	0,997	3G	3,84E+04	-3,51	0,93	0,997	3M	5,29E+04	-3,72	0,86	0,996	3P	8,96E+04
104	-3,79	0,84	0,999	3C	1,83E+05	-3,48	0,94	0,998	3H	1,09E+05	-3,51	0,93	0,997	3M	2,17E+05	-3,72	0,86	0,996	3P	2,44E+05
105	-3,79	0,84	0,999	3C	1,39E+05	-3,48	0,94	0,998	3H	1,74E+02	-3,51	0,93	0,997	3M	3,29E+05				N.R.	
106	-3,79	0,84	0,999	3C	5,64E+04				N.R.					N.R.					N.R.	
107	-3,79	0,84	0,999	3C	9,37E+04	-3,48	0,94	0,998	3H	5,21E+04	-3,51	0,93	0,997	3M	2,17E+05	-3,72	0,86	0,996	3P	1,97E+05
108	-3,79	0,84	0,999	3C	6,52E+04	-3,48	0,94	0,998	3H	2,53E+04	-3,51	0,93	0,997	3M	6,81E+04				N.R.	
109	-3,79	0,84	0,999	3C	1,11E+05	-3,48	0,94	0,998	3H	6,67E+04	-3,51	0,93	0,997	3M	9,16E+04	-3,72	0,86	0,996	3P	1,52E+05
110	-3,79	0,84	0,999	3C	8,69E+04	-3,48	0,94	0,998	3H	7,53E+04	-3,51	0,93	0,997	3M	1,18E+05	-3,72	0,86	0,996	3P	5,61E+04

ERV-3	Momento 0					Momento 1					Momento 2					Momento 3				
	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Número cels	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Número cels	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Número cels	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Número cels
Eps	-3,79	0,84	0,999	3C	8,50E+04	-3,48	0,94	0,998	3H	3,31E+04	-3,51	0,93	0,997	3M	2,10E+05	N.R				
111																				
112																				
113	-3,79	0,84	0,999	3C	3,56E+04	-3,48	0,94	0,998	3H	2,41E+04	-3,51	0,93	0,997	3M	7,63E+04	-3,72	0,86	0,996	3P	9,25E+04
114	-3,79	0,84	0,999	3C	6,62E+04	-3,48	0,94	0,998	3H	9,16E+04	-3,51	0,93	0,997	3M	1,24E+05	-3,72	0,86	0,996	3P	7,77E+04
115	-3,79	0,84	0,999	3C	1,28E+05	-3,48	0,94	0,998	3H	7,71E+04	-3,51	0,93	0,997	3M	1,67E+05	-3,72	0,91	0,995	3Q	1,36E+05
116	-3,79	0,84	0,999	3C	1,36E+05	-3,48	0,94	0,998	3H	8,06E+04	-3,51	0,93	0,997	3M		-3,72	0,91	0,995	3Q	4,32E+04
117																				
118	-3,79	0,84	0,999	3C	7,33E+04	-3,48	0,94	0,998	3H	4,01E+04	-3,51	0,93	0,997	3M	1,71E+05	-3,72	0,86	0,996	3Q	1,25E+05
119	-3,79	0,84	0,999	3C	7,02E+04	-3,48	0,94	0,998	3H	5,06E+04	-3,51	0,93	0,997	3M	2,10E+05	-3,72	0,86	0,996	3P	1,09E+05
120																				
121	-3,79	0,84	0,999	3C	7,06E+04	-3,48	0,94	0,998	3H	7,08E+04	-3,51	0,93	0,997	3M	7,20E+04	-3,72	0,86	0,996	3P	1,04E+05
122																				
123	-3,79	0,84	0,999	3C	9,36E+04	-3,48	0,94	0,998	3H	2,97E+04	-3,76	0,84	0,999	3N	6,50E+04					
124	-3,79	0,84	0,999	3C	3,08E+04	-3,48	0,94	0,998	3H	5,20E+04	-3,76	0,84	0,999	3N	6,12E+04					
125	-3,82	0,83	0,999	3D	9,44E+04	-3,48	0,94	0,998	3H	6,18E+04	-3,76	0,84	0,999	3N	1,03E+05					
126	-3,82	0,83	0,999	3D	1,46E+05	-3,48	0,94	0,998	3H	1,58E+05										
127																				
128	-3,82	0,83	0,999	3D	5,34E+04	-3,48	0,94	0,998	3H	3,68E+04	-3,76	0,84	0,999	3N	1,01E+05	-3,72	0,91	0,995	3Q	1,16E+05
129	-3,82	0,83	0,999	3D	6,47E+04	-3,48	0,94	0,998	3H											
130	-3,60	0,90	0,998	3D	6,89E+04															
131	-3,82	0,83	0,999	3D	9,65E+04	-3,48	0,94	0,998	3H	1,92E+04	-3,76	0,84	0,999	3N	7,99E+04	-3,72	0,91	0,995	3Q	5,58E+04
132	-3,82	0,83	0,999	3D	7,02E+04	-3,48	0,94	0,998	3H	7,12E+04	-3,76	0,84	0,999	3N	1,17E+05	-3,72	0,91	0,995	3Q	4,84E+04
133	-3,82	0,83	0,999	3D	5,90E+04	-3,48	0,94	0,998	3H	3,14E+04	-3,76	0,84	0,999	3N	8,66E+04	-3,72	0,91	0,995	3Q	3,64E+04
134	-3,82	0,83	0,999	3D	1,40E+05															
135																				
137	-3,82	0,83	0,999	3D	4,00E+04	-3,48	0,94	0,998	3H	1,01E+05	-3,76	0,84	0,999	3N	1,60E+05					
138	-3,82	0,83	0,999	3D	5,93E+04	-3,48	0,94	0,998	3H	4,44E+04	-3,76	0,84	0,999	3N	1,61E+05	-3,72	0,91	0,995	3Q	5,17E+04
139	-3,82	0,83	0,999	3D	9,79E+04															
140	-3,82	0,83	0,999	3D	1,26E+05	-3,36	0,99	0,999	3J	1,22E+05	-3,76	0,84	0,999	3N	4,18E+04					
141	-3,82	0,83	0,999	3D	1,11E+05	-3,48	0,94	0,998	3H	1,04E+05	-3,76	0,84	0,999	3N	8,67E+04					
142																				
143	-3,82	0,83	0,999	3D	2,15E+05	-3,48	0,94	0,998	3H	7,28E+04	-3,76	0,84	0,999	3N	9,58E+04					



ERV-3	Momento 0					Momento 1					Momento 2					Momento 3				
	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Número cels	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Número cels	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Número cels	Slope	Efic. <sup>(1)</sup>	r <sup>2</sup>	Figura	Número cels
144				N.R.					N.R.					N.R.					N.R.	
145	-3,82	0,83	0,999	3D	1,37E+05	-3,48	0,94	0,998	3H	1,44E+05	-3,76	0,84	0,999	3N	1,64E+05				N.R.	
146	-3,82	0,83	0,999	3D	1,42E+05	-3,48	0,94	0,998	3H	1,18E+05				N.R.					N.R.	
147	-3,82	0,83	0,999	3D	7,46E+04	-3,48	0,94	0,998	3H	6,77E+04				N.R.					N.R.	
148	-3,60	0,90	0,998	3E	4,11E+04	-3,48	0,94	0,998	3H	3,88E+04				N.R.					N.R.	
149				N.R.		-3,40	0,97	0,998	3I	1,20E+05	-3,76	0,84	0,999	3N	1,11E+05				N.R.	
150	-3,82	0,83	0,999	3D	7,39E+04	-3,40	0,97	0,998	3I	7,62E+04	-3,76	0,84	0,999	3N	1,01E+05				N.R.	
151				N.R.					N.R.					N.R.					N.R.	
152	-3,82	0,83	0,999	3D	5,25E+04	-3,40	0,97	0,998	3I	4,19E+04				N.R.					N.R.	
153	-3,82	0,83	0,999	3D	2,15E+04	-3,40	0,97	0,998	3I	6,56E+04				N.R.					N.R.	
154	-3,82	0,83	0,999	3D	8,13E+04	-3,40	0,97	0,998	3I	1,92E+02	-3,76	0,84	0,999	3N	8,66E+04	-3,72	0,91	0,995	3Q	4,85E+04
155	-3,82	0,83	0,999	3D	1,13E+05	-3,40	0,97	0,998	3I	7,86E+04				N.R.					N.R.	
156	-3,82	0,83	0,999	3D	1,04E+05				N.R.					N.R.					N.R.	
157				N.R.					N.R.					N.R.					N.R.	
158	-3,82	0,83	0,999	3D	6,82E+04	-3,40	0,97	0,998	3I	1,24E+05	-3,76	0,84	0,999	3N	1,38E+05				N.R.	
159	-3,82	0,83	0,999	3D	7,63E+04	-3,36	0,99	0,999	3J	6,84E+04				N.R.					N.R.	
160	-3,82	0,83	0,999	3D	7,07E+04	-3,40	0,97	0,998	3I	1,04E+05				N.R.					N.R.	

<sup>(1)</sup> Eficiência da reação, e r<sup>2</sup> linearidade da reação. Foram excluídas amostras dos casos índices EP01-009 (paciente com história progressa de Linfoma de Hodgkin), e EP01-086 (paciente com Sarcoma de Kaposi), EP01-136 (Recrutamento duplicado: igual ao paciente índice EP01-028). N.R – reação não realizada (amostra com carga viral para o EBV indetectável ou perda de seguimento)

Figura 1 – Gráficos de amplificação de BGFL-5 do EBV por qPCR para a quantificação da carga viral nas amostras de PBMC de portadores do HIV.

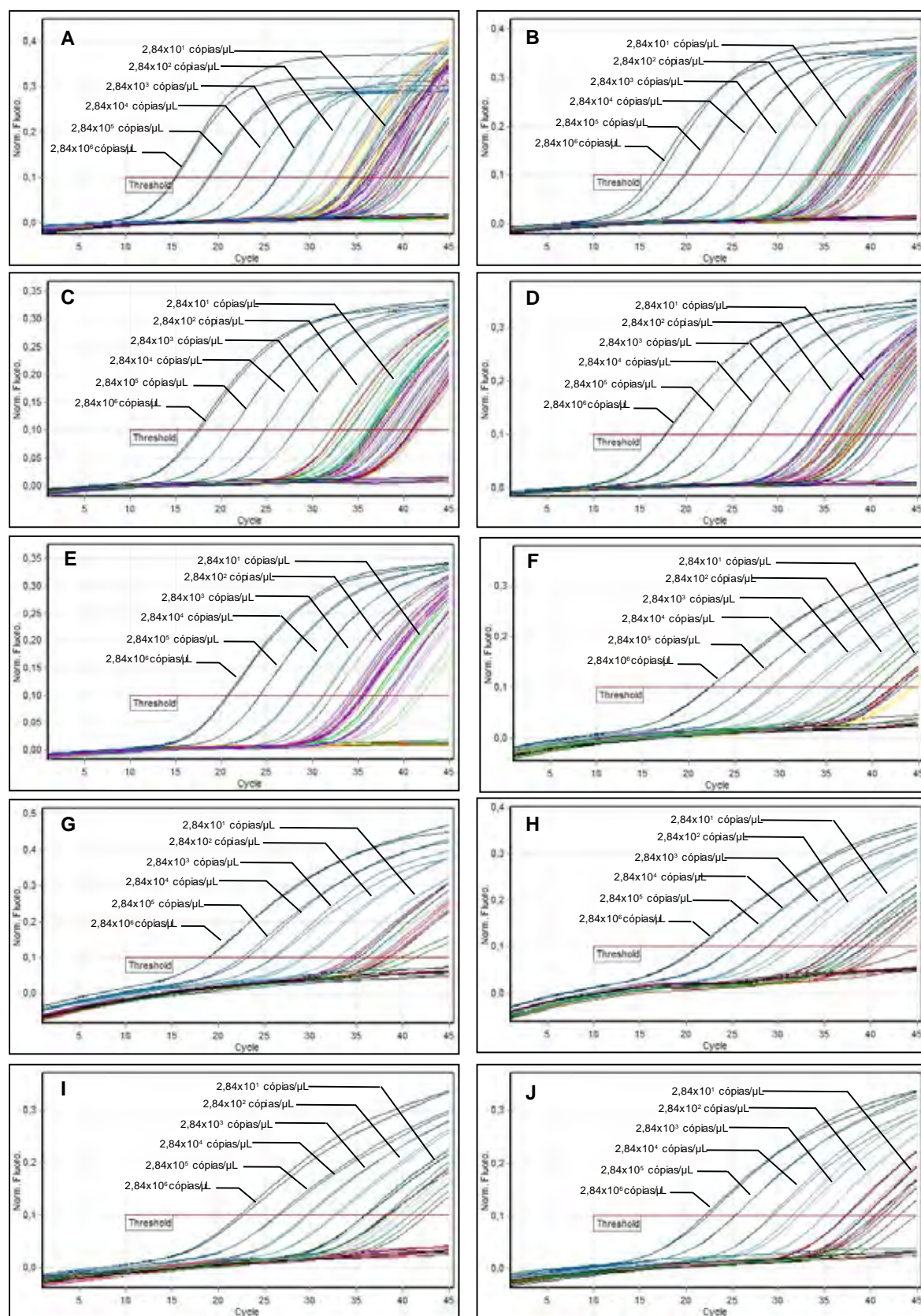


Figura 1- Continuação

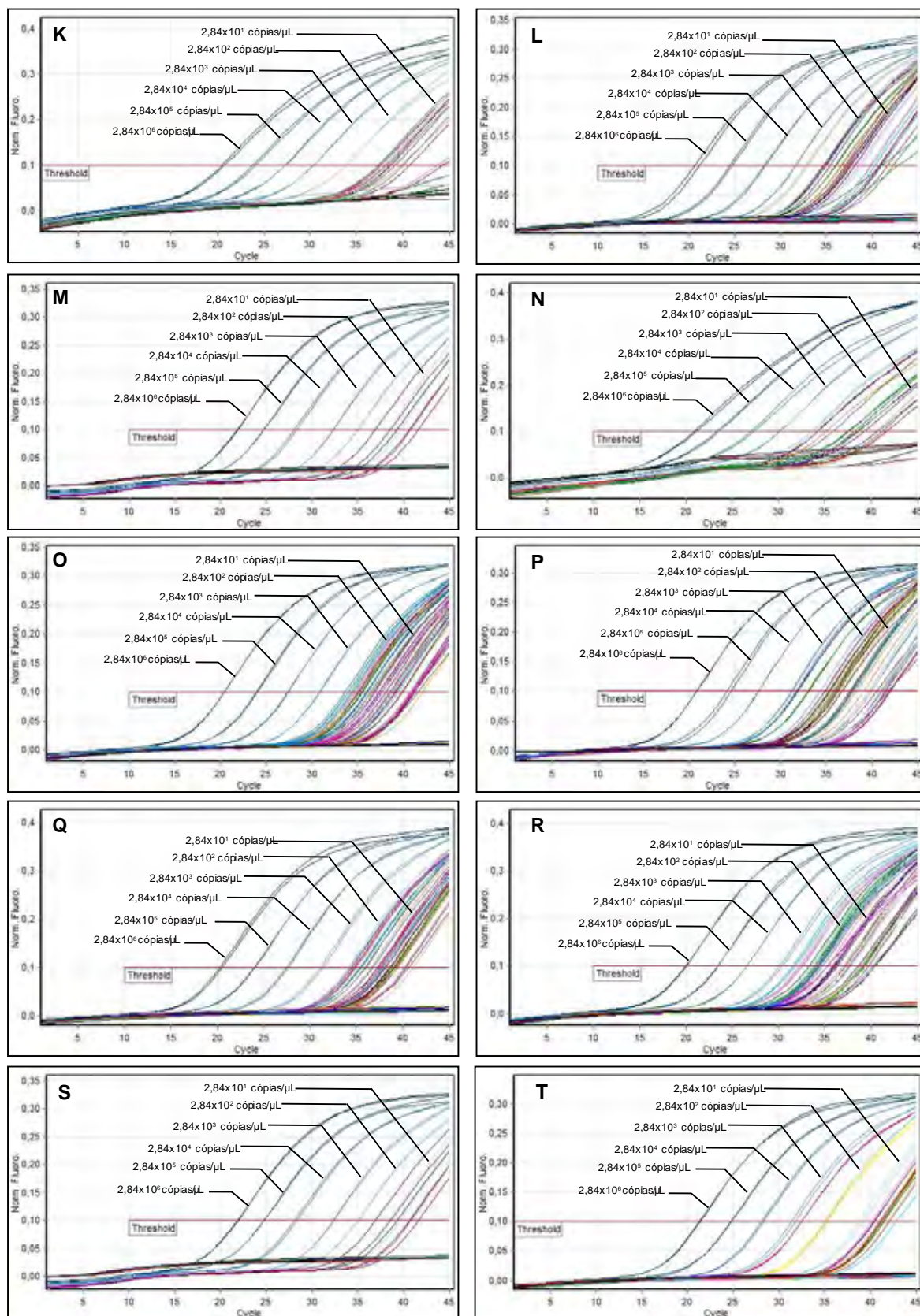




Figura 1- Continuação

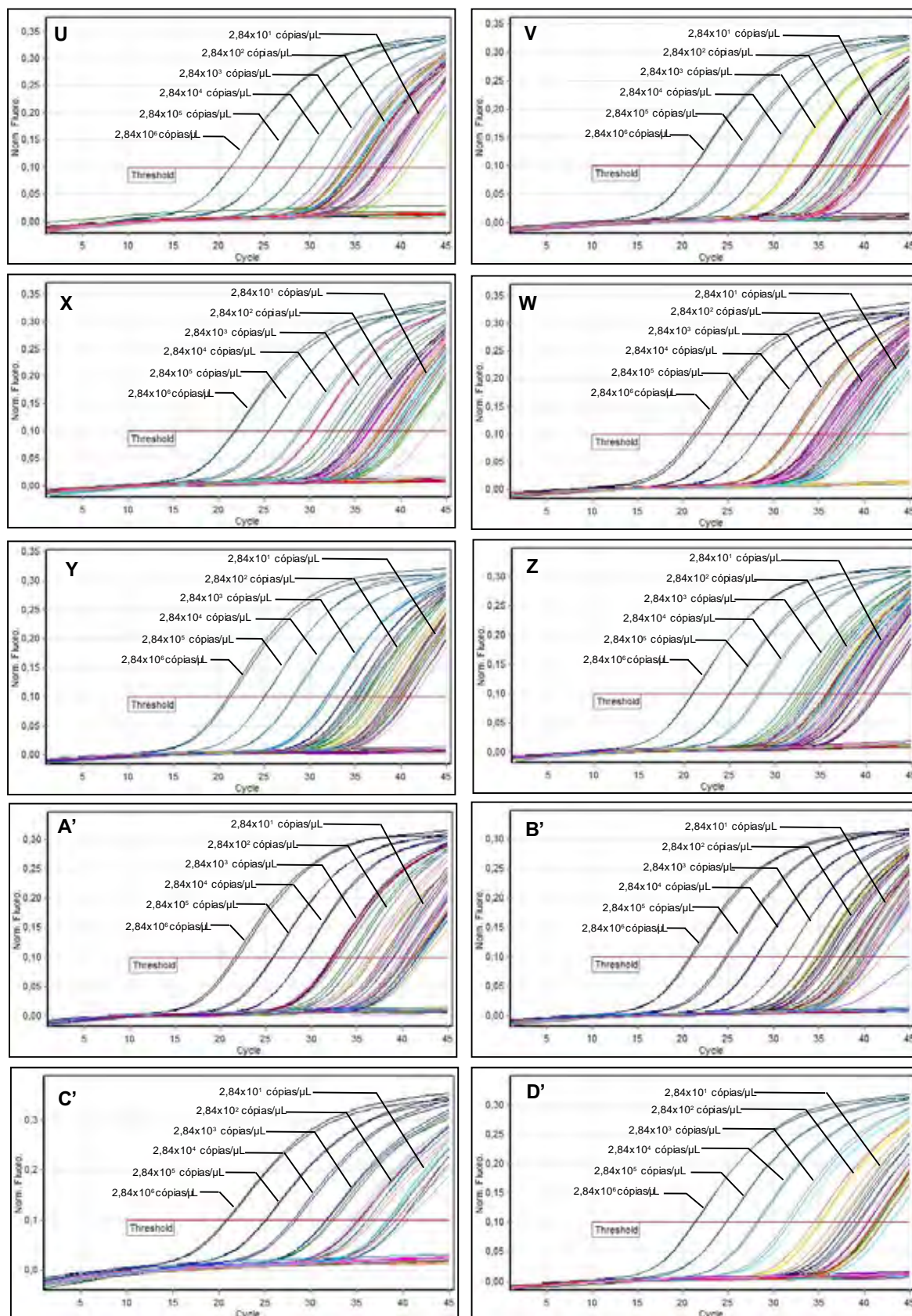


Figura 1- Continuação

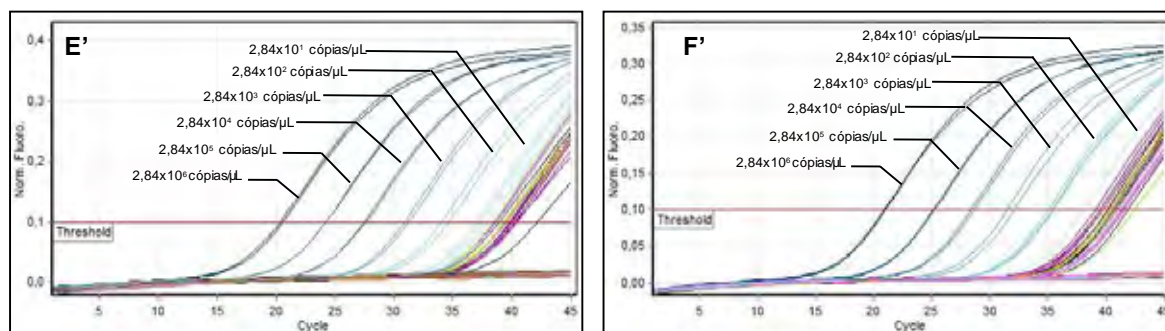


Figura 2 – Gráficos de amplificação de segmento da ORF-73 por qPCR para a quantificação da carga viral nas amostras de PBMC de portadores do HIV.

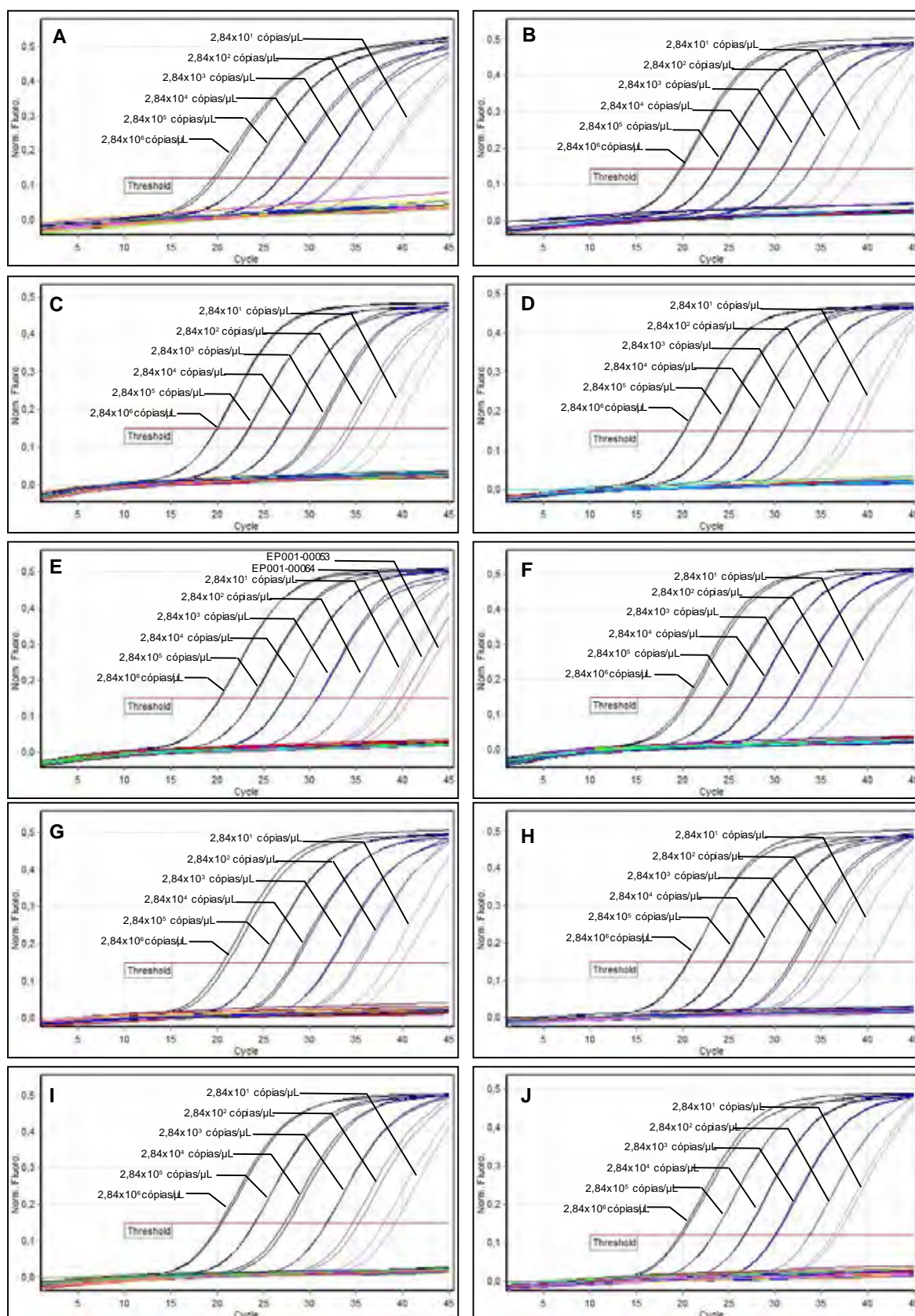




Figura 2 - Continuação

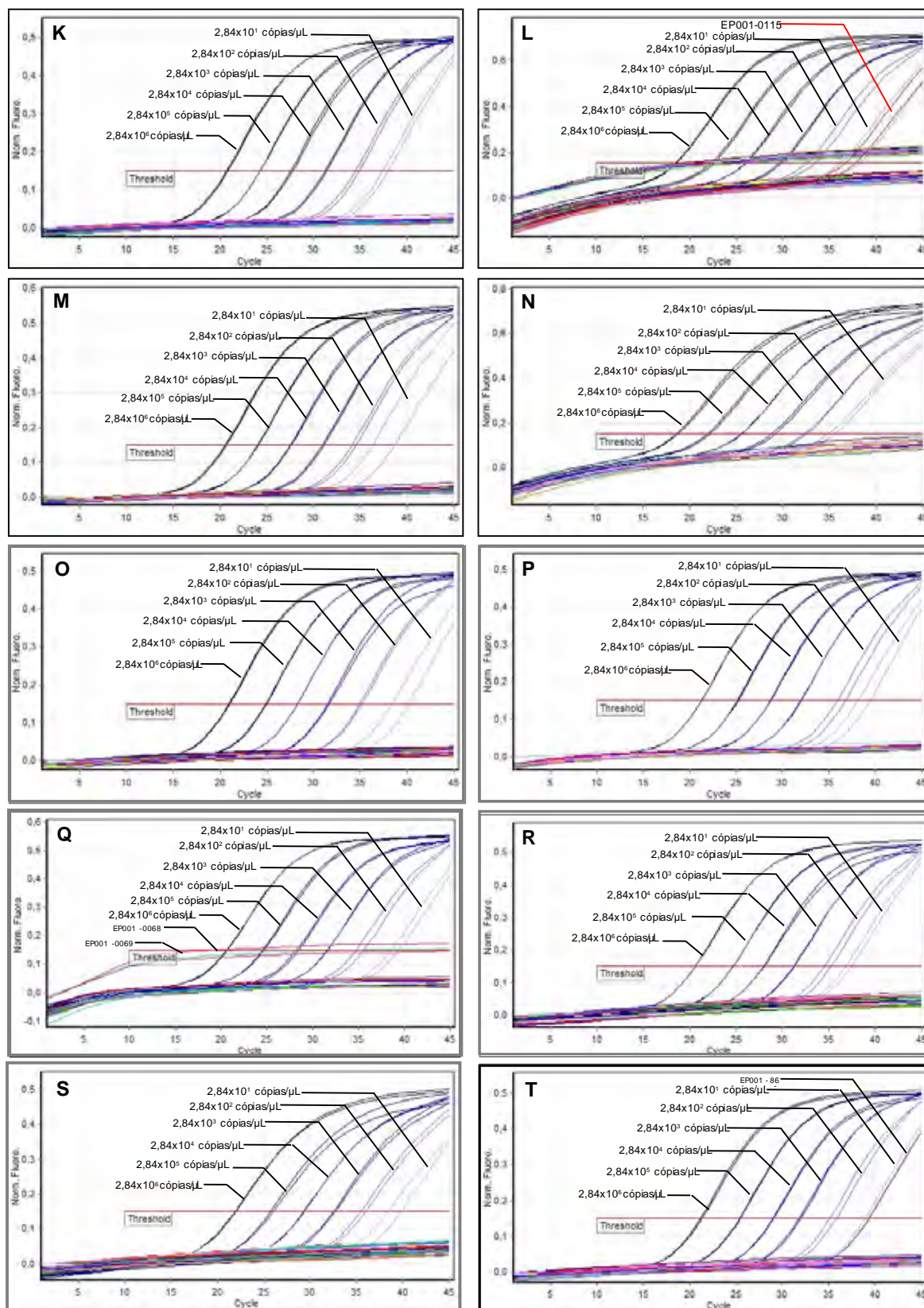


Figura 2 - Continuação

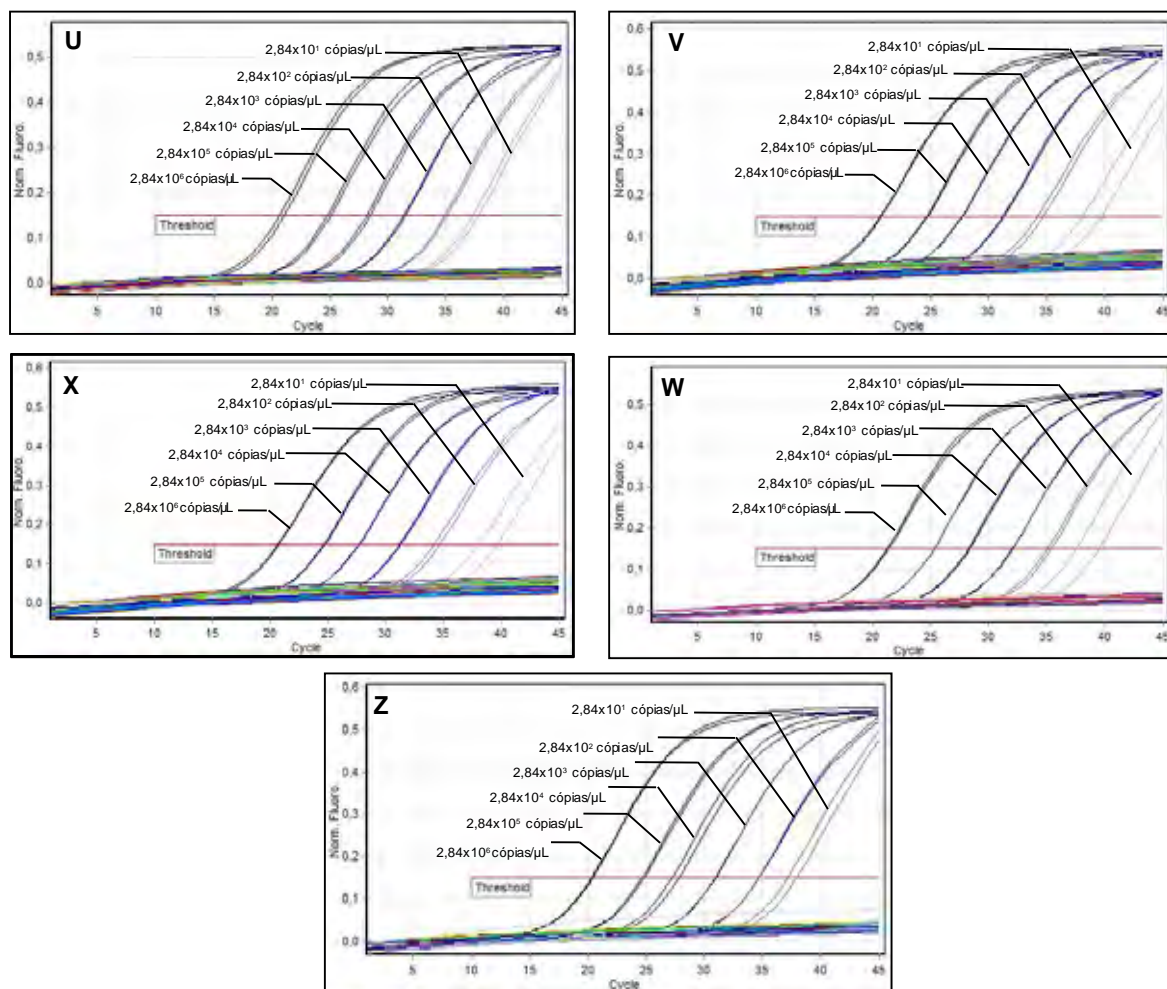




Figura 3 – Gráficos de amplificação do ERV-3 humano por qPCR, para a estimativa do número de células correspondente à quantidade de DNA nas amostras avaliadas.

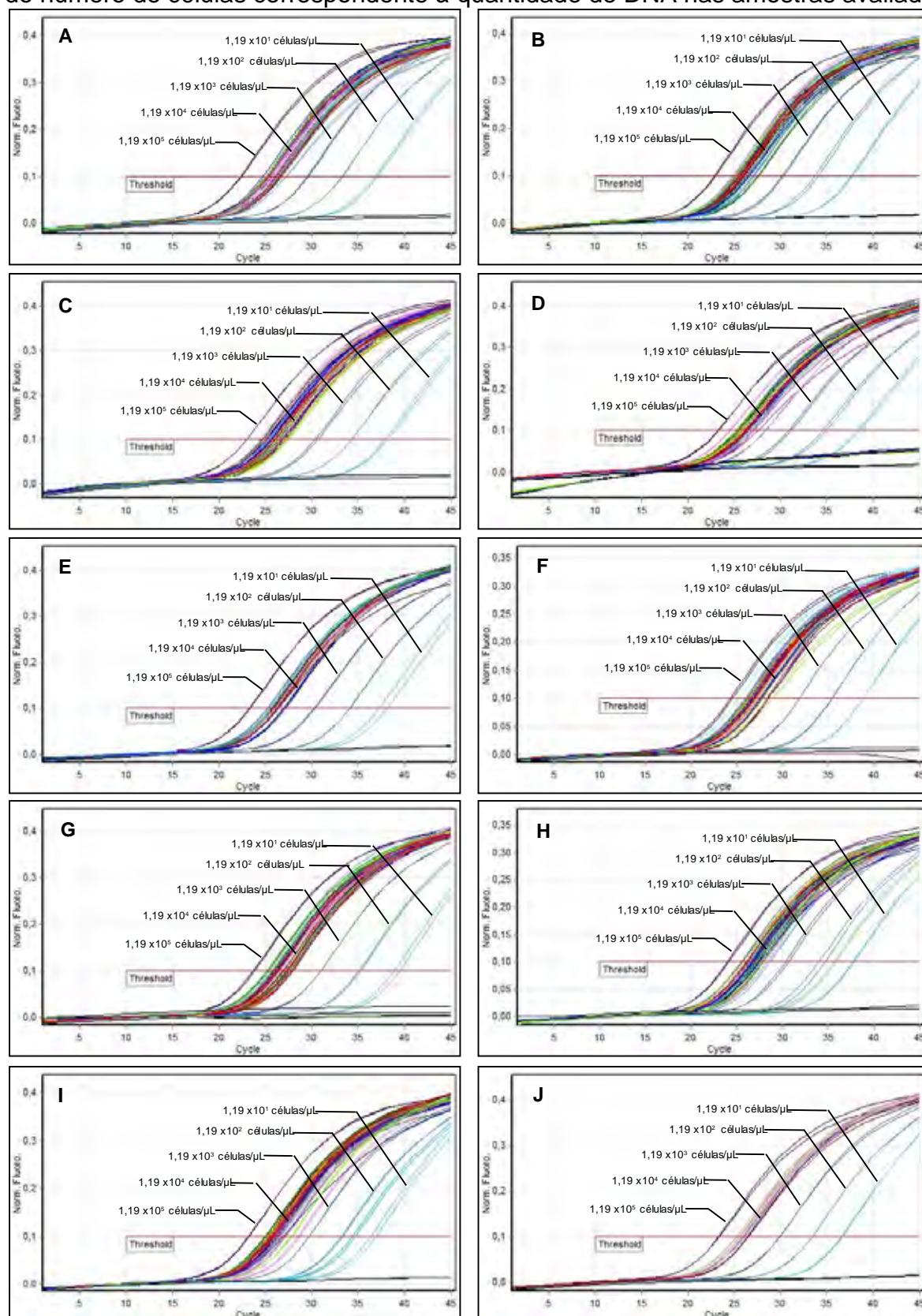


Figura 3 – Continuação

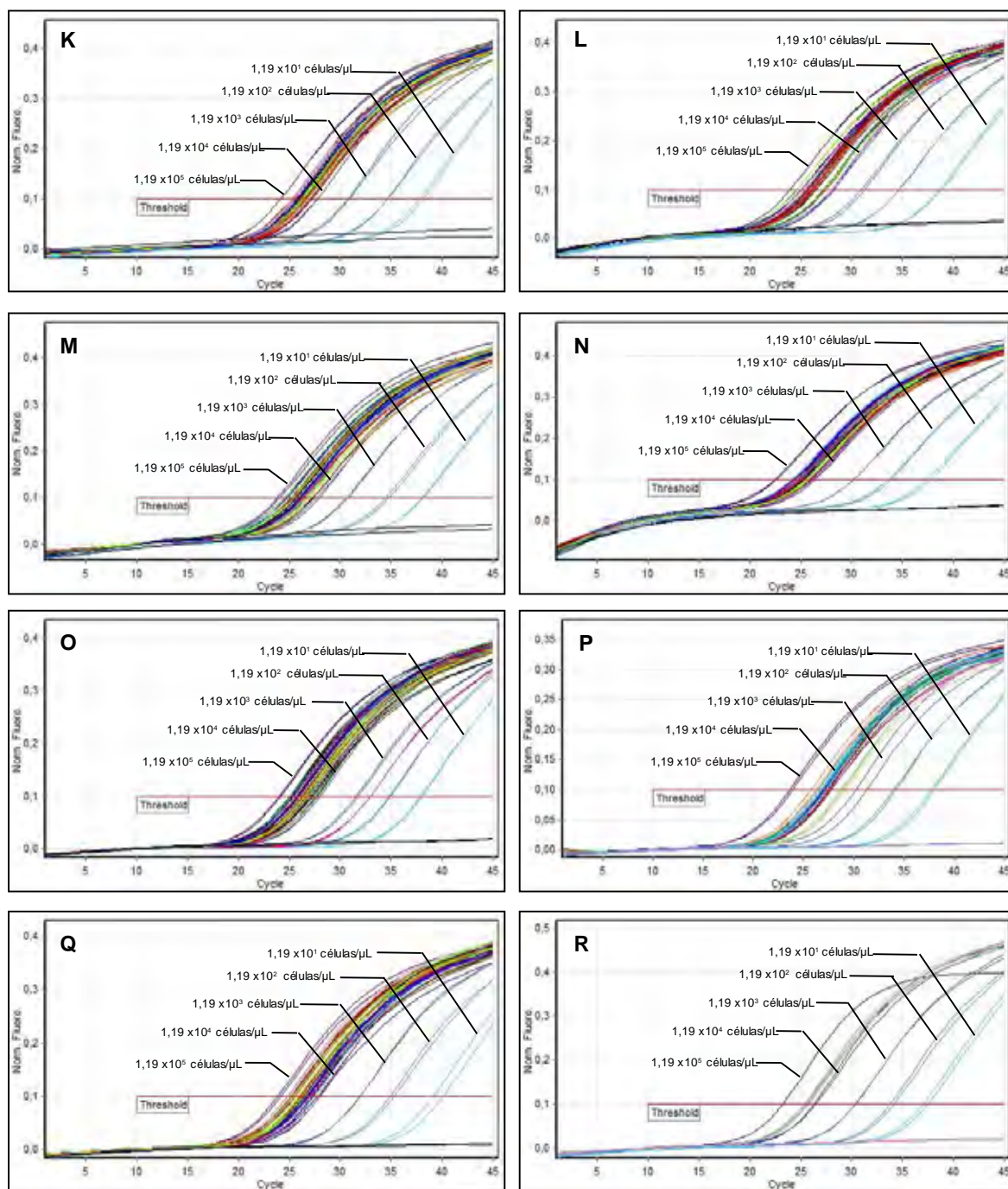




Figura 4 – Parecer favorável do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu – Unesp.

 **Universidade Estadual Paulista**  
**Faculdade de Medicina de Botucatu**

Distrito Rubião Junior, s/nº - Botucatu - S.P.  
CEP: 18.618-970  
Fone/Fax: (0xx14) 3811-6143  
e-mail secretaria: capellup@fmb.unesp.br  
e-mail coordenação: tsarden@fmb.unesp.br

 Registrado no Ministério da Saúde em 30 de abril de 1997

Botucatu, 01 de setembro de 2008 Of. 374/08-CEP


Ilustríssimo Senhor  
Prof. Dr. Deilson Elgui de Oliveira  
Departamento de Patologia  
Faculdade de Medicina de Botucatu

Prezado Dr. Deilson,

De ordem do Senhor Coordenador deste CEP, informo que o Projeto de Pesquisa "Infecção por gamaherpêsvírus e polimorfismos de nucleotídeos únicos (SNPs) em genes codificadores de citocinas em pacientes portadores de HIV-1", a ser coordenado por Vossa Senhoria, com a colaboração dos Drs. Alexandre Naime Barbosa, Ana Paula Ferraz da Silva, Ana Rachel de Oliveira Léda, Domingos Alves Meira, Lenice do Rosário de Souza, Ricardo Antonio Moreira de Barros Almeida e Suzane Ramos da Silva, com a participação Leila Bertoni Giron, recebeu do relator parecer favorável, aprovado em reunião de 01/09/2008.

Situação do Projeto: **APROVADO**. Apresentar Relatório Final de Atividades ao final da execução deste projeto.

Atenciosamente,

  
Alberto Santos Capelluppi  
Secretário do CEP.