



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO



**Expressão de proteínas recombinantes de HTLV-1 e HTLV-2 em
sistema heterólogo – *Pichia pastoris* e *Escherichia coli***

Nicole Castro Silva Nicolela

**Ribeirão Preto
2022**

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Expressão de proteínas recombinantes de HTLV-1 e HTLV-2 em
sistema heterólogo – *Pichia pastoris* e *Escherichia coli***

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências e Biotecnologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP para obtenção do Título de Mestre.

Área de concentração: Bioagentes e Biotecnologia Aplicados à Farmácia.

Orientada: Nicole Castro Silva Nicolela

Orientadora: Profa. Dra. Elisa Maria de Sousa Russo

Versão corrigida da Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências e Biotecnologia no dia 09/11/2022. A versão original encontra-se disponível na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP.

Ribeirão Preto
2022

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por se fazer presente em todas as formas e momentos.

Aos meus pais, Maria de Lourdes e Francisco, pela dedicação, amor, zelo e apoio incondicionais, persistentes e absolutos. Agradeço ao meu irmão, Marcelo, pelas conversas, caronas e por todo o apoio. Tenho muita sorte de ter em minha família meus maiores e mais decisivos incentivadores.

Agradeço ao meu marido Raimundo, por todo o amor e companheirismo diários, estando ao meu lado em todos os momentos, me apoiando, ouvindo e incentivando sempre. Obrigada por me desafiar e por ser meu alicerce.

À querida professora Elisa, agradeço a oportunidade e paciência, e por toda a acessibilidade, dedicação e orientação que sempre me ofereceu.

Às companheiras de lab, Rayane e Allana, agradeço a amizade sincera que levarei da experiência do mestrado para a vida. Foi uma longa caminhada e vocês trouxeram leveza e alegria aos meus dias. Agradeço em especial a ajuda com os assuntos de bioinformática e ELISA.

Agradeço também à Giovanna, à Aline e ao Luiz por toda a ajuda diária, pelos experimentos compartilhados e pelo aprendizado. Somente boas lembranças e saudade ficarão. Obrigada a todos os demais colegas, que me ensinaram de alguma forma a ser melhor como pessoa e como pesquisadora.

À Lilian, um anjo que se tornou uma amiga, por toda a ajuda com este trabalho, hospitalidade e amizade.

Agradeço aos amigos de sempre pelo companheirismo, em especial Camila e Justin, pela presença constante em minha jornada de autodescoberta; Nat e Helena Gruber, pela amizade antiga e persistente; e um muito obrigada especial a Frank, que está sempre disponível a ouvir e aconselhar, e a dividir alegrias, angústias e aprendizado. Obrigada!

Agradeço à Universidade de São Paulo, à Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto e aos seus professores, pela oportunidade e ensinamentos ímpares.

Agraço ao CNPq, pela oportunidade de realizar parte deste trabalho com bolsa.

Agradeço à Univesp, pela grande oportunidade de aprendizado ao me tornar Facilitadora de Aprendizagem EaD, contribuindo também para meu sustento durante a realização deste mestrado.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

*“No meio do caminho tinha uma pedra
Tinha uma pedra no meio do caminho
Tinha uma pedra
No meio do caminho tinha uma pedra.
Nunca me esquecerei desse acontecimento
Na vida de minhas retinas tão fatigadas.
Nunca me esquecerei que no meio do caminho
Tinha uma pedra
Tinha uma pedra no meio do caminho
No meio do caminho tinha uma pedra.”*

(Carlos Drummond de Andrade)

RESUMO

NICOLELA, N. C. S. **Expressão de proteínas recombinantes de HTLV-1 e HTLV-2 em sistema heterólogo – *Pichia pastoris* e *Escherichia coli***. 2022. 152 f. Dissertação (Mestrado em Biociências e Biotecnologia). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2022.

O vírus linfotrópico das células T humanas (HTLV) é um vírus relacionado a diversas doenças incapacitantes, sobretudo à leucemia/linfoma das células T do adulto (LLTA) e à paraparesia espástica tropical ou mielopatia associada ao HTLV (PET/MAH). A infecção por esse retrovírus constitui um grave problema de saúde pública, sendo muitos os esforços realizados na tentativa de conter sua disseminação. A existência de métodos diagnósticos precisos, rápidos e acessíveis é essencial para identificar a presença desse retrovírus nos pacientes e permitir uma melhor abordagem no tratamento e controle das infecções. A busca de melhores produtos diagnósticos, processos e menores custos deve ser constante. No Brasil, há uma escassez de métodos de detecção que sejam capazes de distinguir entre a infecção por HTLV-1 e 2. Assim, faz-se necessário o desenvolvimento de um sistema de diagnóstico diferencial de origem nacional, de modo a possibilitar mão de obra e custos reduzidos para tal finalidade. As gp21, p24 e gp46 do HTLV são proteínas e glicoproteínas do envelope e capsídeo virais utilizadas como antígenos de captura em testes diagnósticos, tendo em vista que os primeiros anticorpos produzidos pelo organismo infectado por esses retrovírus são específicos para essas proteínas. Neste trabalho, foram produzidas as proteínas recombinantes gp21, p24 e gp46 de HTLV-1 utilizando como sistema de expressão a bactéria *E. coli* BL21(DE3) com o vetor de expressão pET28a. A proteína gp46 de HTLV-2 também foi alvo de estudo neste trabalho, sendo realizados ensaios de sua expressão em *P. pastoris*, com o vetor pPICzaA, abordagem que não foi bem-sucedida, sendo substituída também pelo sistema de bactéria *E. coli*. Três cepas foram testadas para a expressão da gp46 de HTLV-2 utilizando o vetor pET28a_1081: Rosetta(DE3), C43(DE3) e ArcticExpress(DE3), sendo a última o sistema selecionado para expressão da proteína na forma solúvel. As proteínas foram detectadas por SDS-PAGE e *Dot blotting*. As proteínas gp21 de HTLV-1, gp46 de HTLV-2, e p24 de HTLV-1 foram purificadas por IMAC. A expressão da gp46 de HTLV-2 também foi confirmada por *Western blotting*. Foi realizada a padronização das condições de expressão dessas proteínas com o intuito de otimizar o rendimento de sua produção. Um ensaio piloto de ELISA *in-house* sanduíche foi realizado com soros de pacientes positivos para HTLV-1 ou 2, visando-se verificar a reatividade entre os soros e as proteínas recombinantes. O teste mostrou inespecificidade e são necessários aprimoramentos para que as proteínas possam ser empregadas em um teste diagnóstico preciso e diferencial.

Palavras-chave: Proteínas; Expressão Recombinante; HTLV-1/2; Diagnóstico.

ABSTRACT

NICOLELA, N. C. S. **Expression of recombinant proteins of HTLV-1 and HTLV-2 in heterologous system – *Pichia pastoris* and *Escherichia coli***. 2022. 152 f. Dissertation (Master's Degree). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2022.

The human T-cell lymphotropic virus (HTLV) is a virus related to several disabling diseases, especially adult T-cell leukemia/lymphoma (ATL) and tropical spastic paraparesis or HTLV-associated myelopathy (TSP/HAM). Infection by this retrovirus is a serious public health problem, and many efforts have been made to contain its spread. Accurate, rapid, and affordable diagnostic methods are essential to identify the presence of this retrovirus in patients and to allow a better approach to treatment and infection control. The search for better diagnostic products, processes, and lower costs must be constant. In Brazil, there is a scarcity of detection methods that are able to distinguish between HTLV-1 and 2 infections. It is important to develop diagnosis system of national origin, to allow reduce labor and costs for this purpose. The HTLV gp21, p24 and gp46 are proteins and glycoproteins of the viral envelope and capsid which are used as capture antigens in diagnostic tests, considering that the first antibodies produced by the organism infected by these retroviruses are specific for these proteins. In this work the recombinant proteins gp21, p24 and gp46 of HTLV-1 were expressed using the bacteria *E. coli* BL21(DE3) and the expression vector pET28a. The gp46 protein from HTLV-2 was also the target of study in this work, and assays of its expression were performed in *P. pastoris*, with the expression vector pPICz α A, an approach that was not successful, being replaced also by the *E. coli* bacterium system. Three strains were tested for HTLV-2 gp46 expression using the pET28a-1081 expression vector: Rosetta(DE3), C43(DE3) and ArcticExpress(DE3), the last one being the system selected for protein expression in soluble form. The proteins were detected by SDS-PAGE and Dot blotting. HTLV-1 gp21, HTLV-2 gp46, and HTLV-1 p24 proteins were purified by IMAC. The expression of HTLV-2 gp46 was also confirmed by Western blotting. Standardization of the expression conditions of these proteins was performed in order to optimize the yield of their production. A pilot in-house sandwich ELISA test was carried out with sera from HTLV-1 or 2 positive patients, aiming to verify the reactivity between sera and recombinant proteins. The test showed nonspecificity and improvements are needed so that the proteins can be employed in an accurate and differential diagnostic test.

Keywords: Proteins; Recombinant Expression; HTLV-1/2; Diagnostic.

1 INTRODUÇÃO

1.1 HISTÓRICO HTLV

Em 1979, ocorreu a descoberta do primeiro retrovírus humano: o vírus linfotrópico de células T humana (HTLV, do inglês *Human T-Lymphotropic Virus*), que havia sido isolado do sangue periférico de pacientes diagnosticados com linfoma cutâneo de células T (POIESZ *et al.*, 1980). Subsequentemente, o vírus da leucemia de células T do adulto (ATLV, do inglês *Adult T-Cell Leukemia Virus*) foi isolado de pacientes com leucemia/linfoma de células T do adulto (LLTA) (HINUMA *et al.*, 1981; YOSHIDA; MIYOSHI, 1982).

Após análises comparativas entre o HTLV e o ATLTV, foi comprovado que ambos eram idênticos (POPOVIC *et al.*, 1982; WATANABE; SEIKI; YOSHIDA, 1984), sendo acordado manter a denominação HTLV em respeito à ordem cronológica de seu isolamento (WATANABE; SEIKI; YOSHIDA, 1983). Sua descrição ocorreu em 1980 (POIESZ *et al.*, 1980; GALLO, 2005), sendo o HTLV um dos únicos retrovírus conhecidos como agente etiológico de câncer em humanos (BRAOUDAKI; TZORTZATOU-STATHOPOULOU, 2011).

Em 1982, um paciente com leucemia de células pilosas (LCP) apresentou em seu soro anticorpos contra a proteína p24 de HTLV. No entanto, o vírus obtido desse paciente foi identificado como claramente distinto das cepas de HTLV isoladas previamente. Devido a isso, passou-se a denominar HTLV-1 o HTLV primeiramente identificado, enquanto o recém-isolado foi denominado HTLV-2 (KALYANARAMAN *et al.*, 1982). Posteriormente, o HTLV-2 foi novamente isolado de outro paciente com LCP (ROSENBLATT *et al.*, 1986).

Existem duas grandes hipóteses que dissertam acerca da origem geográfica do vírus, sendo ambas igualmente aceitas (DOOREN *et al.*, 1998). Uma afirma que o HTLV se dispersou devido à migração de paleomongoloides pelo Estreito de Bering, saindo da Ásia até a América do Norte, chegando à América do Sul e se estabelecendo tanto nos Andes quanto nas regiões Amazônicas (ZANINOVIC *et al.*, 1990). A outra vertente defende uma transmissão interespecíes de primatas não humanos a africanos. Essa teoria aponta o tráfico de escravos no século XVI como fator determinante no surgimento do vírus em países como Caribe, Estados Unidos e outros da América do Sul (GALLO, 1983; GESSAIN; GALLO; FRANCHINI, 1992).

A infecção por HTLV-1 pode causar doenças preocupantes como LLTA - uma forma grave da leucemia que não responde à quimioterapia (BITTENCOURT; FARRÉ, 2008) -, ou paraparesia espástica tropical, atualmente denominada mielopatia (PET/MAH) - uma doença neurológica, incapacitante e progressiva (CARNEIRO-PROIETTI *et al.*, 2002; BITTENCOURT; FARRÉ, 2008) -, sendo essa também causada pela infecção por HTLV-2 (HALL *et al.*, 1996; MURPHY *et al.*, 2004). Há trabalhos que indicam que a infecção por HTLV-2 também pode favorecer a ocorrência de doenças infecciosas como bronquite e infecção de bexiga e/ou rim (MURPHY *et al.*, 1999), infecção renal, artrite, asma e pneumonia (MODAHL *et al.*, 1997; MURPHY *et al.*, 2004).

Além dos HTLV-1 e 2, outros dois tipos, menos prevalentes, foram descobertos em 2005 na região central da África: os retrovírus HTLV-3 (CALATTINI *et al.*, 2005) e HTLV-4 (WOLFE *et al.*, 2005), mas a associação de doenças a eles ainda não foi confirmada, em virtude do limitado número de casos até agora identificados (CALATTINI *et al.*, 2005; MAHIEUX; GESSAIN, 2005, 2009; BRAOUDAKI; TZORTZATOUSTATHOPOULOU, 2011; GESSAIN *et al.*, 2013; ROLON; YAO, 2020).

1.2 CARACTERÍSTICAS DE HTLV-1 E HTLV-2

Os retrovírus HTLV-1/2 são vírus esféricos, envelopados de tamanho médio (100 – 120 nm) que pertencem às espécies de vírus linfotrópicos de células T de primatas (PTLV) tipos 1 e 2. Seu gênero é Deltaretrovirus, de família *Retroviridae* (POIESZ *et al.*, 1980; AUWAL; ROGO, 2018).

Apesar dos retrovírus HTLV-1 e HTLV-2 apresentarem grande homologia com sequências nucleotídicas com aproximadamente 70% de identidade (ROSENBERG *et al.*, 1998; CARNEIRO-PROIETTI *et al.*, 2002; NICOLÁS *et al.*, 2015) - consequência de serem vírus com taxa de replicação relativamente baixa (NICOLÁS *et al.*, 2015) -, e de ambos apresentarem propriedades moleculares e biológicas similares (ARAÚJO; HALL, 2004; CIMINALE *et al.*, 2014), esses vírus diferem em sua epidemiologia e sua patogenicidade. Não está claro por que apenas o HTLV-1 demonstra-se efetivamente oncogênico, ou tampouco por que o HTLV-2 é menos patogênico do que o HTLV-1 (NICOLÁS *et al.*, 2015).

A despeito das diferenças apresentadas entre os retrovírus, ambos são capazes de transformar células T humanas primárias em culturas celulares

(KANNIAN; GREEN, 2010), sendo essas o alvo da infecção pelos retrovírus HTLV. Contudo, o tropismo celular *in vivo* desses retrovírus também difere: enquanto o HTLV-1 apresenta um tropismo preferencial pelos linfócitos TCD4+ (RICHARDSON, *et al.*, 1990), o HTLV-2 infecta preferencialmente - em alguns casos, exclusivamente - os linfócitos TCD8+ (IJICHI, *et al.*, 1992; MURPHY, 1996; SANTOS; LIMA, 2005). Outras células do sistema imunológico, como os monócitos, os macrófagos e as células dendríticas, por exemplo, também podem ser afetadas (SANTOS; LIMA, 2005).

O genoma desses retrovírus é composto por duas moléculas de RNA idênticas de cadeia simples e positiva. Sua replicação envolve a transcrição reversa do RNA em DNA complementar, reação catalisada pela transcriptase reversa (TR) viral, possibilitando a inserção do material genético viral no DNA da célula hospedeira, originando o DNA proviral (MIZUTANI; TAMIN, 1970; RHO *et al.*, 1981; GALLO, 2005; WILLIAMS, 2019). Essa integração ocorre de maneira aleatória, portanto, difere entre os pacientes infectados (CATALAN-SOARES; PROIETTI; CARNEIRO-PROIETTI, 2001).

O HTLV apresenta seu genoma flanqueado por sequências denominadas *Long Terminal Repeats* (LTR), que são sequências repetitivas compostas por centenas ou milhares de nucleotídeos, que não codificam para proteínas, mas são importantes na garantia da correta integração do DNA proviral ao DNA cromossômico do hospedeiro, atuando também na regulação da transcrição do genoma do vírus (SODROSKI *et al.*, 1985). Também estão presentes os genes *gag*, *pol* e *env*, os quais codificam proteínas virais estruturais.

A poliproteína GAG, p55, codificada pelo gene *gag*, é clivada por uma protease retroviral, originando três proteínas independentes com papéis relacionados à montagem da partícula viral e infecção das células T (MAZUROV; HEIDECKER; DERSE, 2006; LYNGDOH *et al.*, 2019). As proteínas são: p19, p55 e p24. A p24, um dos alvos deste trabalho, é responsável pela formação do nucleocapsídeo durante a maturação viral (Figura 1).

O tamanho predito da p24 é de aproximadamente 24 kDa (LYNGDOH *et al.*, 2019); seu papel na infecção viral e suas características químicas que a fazem distinta das p24 de outros retrovírus (OROSZLAN *et al.*, 1982) tornaram seu uso no diagnóstico da infecção por HTLV atrativo (KURODA *et al.*, 1990), conforme será explicado nas seções 1.6 e 1.7 deste trabalho.

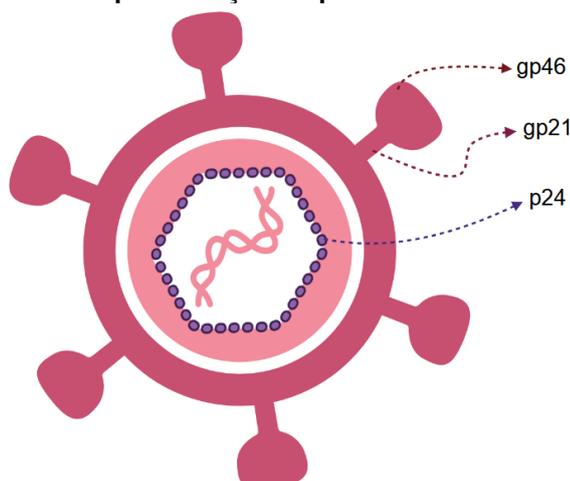
O gene *pol* codifica a poliproteína POL, que possui papel fundamental para a replicação viral, bem como para a integração do genoma viral ao do hospedeiro (LYNGDOH *et al.*, 2019), pois é clivada por uma protease, originando uma TR e uma integrase (KANNIAN; GREEN, 2010).

O gene *env* codifica a poliproteína ENV, denominada também gp62 (JONES *et al.*, 2011; LYNGDOH *et al.*, 2019). A gp62 é precursora de duas glicoproteínas de envelope: uma transmembranar (TM) e outra superficial (SU). A SU é responsável pela ligação do vírus à célula hospedeira, enquanto a TM possui o papel de ancorar o complexo SU-TM na superfície do vírion ou da célula infectada (DELAMARRE *et al.*, 1996).

Glicoproteínas são proteínas que possuem um ou mais carboidratos ligados covalentemente à sua estrutura. Esses carboidratos encontram-se ligados às proteínas por ligações glicosídicas do tipo N ou do tipo O e, uma vez ligados, passam a ser denominados “glicanos” (SARASWATHY; RAMALINGAM, 2011). A glicosilação constitui o processo de ligação covalente de oligossacarídeos às proteínas (SARASWATHY; RAMALINGAM, 2011), e é o tipo de modificação de proteínas mais estruturalmente complicado, diverso e mais abundante (WONG, 2005; TIAN; ZHANG, 2010), sendo encontrado na maioria dos organismos, desde vírus até mamíferos (SARASWATHY; RAMALINGAM, 2011). Trata-se de um tipo de modificação pós-traducional importante para a solubilidade e correto enovelamento das proteínas, além de desempenhar papéis importantes na adesão celular, motilidade e transdução de sinais (ONO *et al.*, 2000).

A glicoproteína de envelope TM é denominada gp21, apresentando cerca de 21 kDa; a proteína de envelope SU possui cerca de 46 kDa, sendo denominada gp46 (JONES *et al.*, 2011; LYNGDOH *et al.*, 2019). Ambas se encontram associadas de forma não covalente, o que permite a manutenção da flexibilidade do conjunto (COSKUN; SUTTON, 2005) (Figura 1). A gp62 possui cinco sítios de N-glicosilação, quatro presentes na gp46. Quando esses sítios estão preenchidos, essa poliproteína apresenta tamanho de 62 kDa (PIQUE *et al.*, 1992; HOSHINO, 2012).

Figura 1. Representação da partícula viral de HTLV.



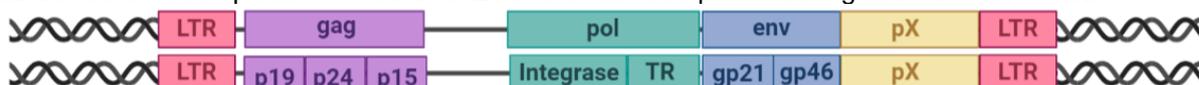
Fonte: Elaborado pela autora, criado com BioRender e adaptado de Zihlmann, Mazzaia e Alvarenga (2020).

O processo de maturação do vírus envolve a expressão das glicoproteínas gp21 e gp46 na superfície celular. É necessário que um peptídeo sinal direcione a gp62 ao retículo endoplasmático para que ocorra o processo de N-glicosilação, sem o qual não se verifica a formação do vírus (PIQUE *et al.*, 1992). Após esse processo, a gp62 é transportada para o Complexo de Golgi, onde proteases celulares a clivam, resultando na gp46 e na gp21 (PIQUE *et al.*, 1992; DELAMARRE *et al.*, 1996).

Comparado ao gene *env* de outros retrovírus, como por exemplo do HIV, o gene *env* de HTLV apresenta baixa tolerância a mutações uma vez que normalmente torna-se não funcional quando mutado – tratando-se, portanto, de um gene altamente conservado nesse retrovírus (PIQUE; TURSZ; DOKHELAR, 1990; PIQUE *et al.*, 1992).

Os retrovírus HTLV-1 e HTLV-2 mais se diferenciam um do outro no gene pX, observado primeiramente por Seiki *et al.* (1983). Esse gene é responsável por codificar as principais proteínas reguladoras, Tax e Rex (FERREIRA JÚNIOR; PLANELLES & ROSENBLATT, 1997; SANTOS; LIMA, 2005). Essas proteínas são muito relevantes não apenas à regulação viral, pois podem influenciar na transcrição e tradução realizados pela célula hospedeira, de modo que provavelmente interferem nos efeitos das doenças relacionadas ao HTLV, pois interferem, por exemplo, na carga viral presente no hospedeiro (FRANCHINI, 1995; FERREIRA JR.; PLANELLES & ROSENBLATT, 1997). A estrutura genômica do HTLV pode ser observada a seguir (Figura 2).

Figura 2. Representação esquemática do genoma de HTLV-1 e 2. As sequências LTR, em vermelho, flanqueiam os genes garantindo sua correta transcrição e integração ao DNA do hospedeiro. O gene *gag*, em roxo, codifica a poliproteína GAG, que é clivada originando proteínas da matriz (p19), capsídeo (p24) e nucleocapsídeo (p15). Em verde, o gene *pol*, que codifica a poliproteína POL, que é clivada em uma TR e uma integrase. O gene *env*, em azul, codifica a poliproteína ENV que é clivada resultando nas glicoproteínas do envelope transmembranar (gp21) e superficial (gp46). O gene pX, em amarelo, ainda não está completamente caracterizado e codifica as proteínas reguladoras Tax e Rex.



Fonte: Elaborado pela autora, criado com BioRender e adaptado de Barreto *et al.* (2017).

O HTLV-1 pode causar câncer por meio da expressão de oncogenes virais auxiliares, dentre eles o fator de transcrição de zíper de leucina básica do HTLV-1, relacionado à contínua expansão das células tumorais (MATSUOKA; JEANG, 2011). Nesse sentido, tem destaque a proteína Tax, um dos principais antígenos reconhecidos pelos linfócitos T citotóxicos (KANNAGI *et al.*, 1992), e responsável pela transcrição e progressão do ciclo celular (WOOTTON *et al.*, 2005) e pela regulação do genoma proviral, também induzindo a ativação de citocinas (MORI *et al.*, 1998), e modulando a transcrição de proto-oncogenes (FUJII; SASSONE-CORSI; VERMA, 1988). Sua atuação não ocorre por meio de sua ligação direta aos promotores, mas sim por meio de interações com outras proteínas dispostas na célula, que atuam como fatores de transcrição ou moduladores de funções celulares (MATSUOKA, 2002).

A transmissão do HTLV-1 pode ocorrer diversas rotas, as quais incluem transfusão sanguínea, relações sexuais, amamentação, via placenta e via parenteral pelo compartilhamento de agulhas e seringas contaminadas (PERRE; CARTOUX, 1995; PROIETTI *et al.*, 2005; BIGGAR *et al.*, 2006; ZHENG, 2010). As rotas de transmissão do HTLV-2 são as mesmas do HTLV-1, tendo sido demonstrado por estudos epidemiológicos que a via parenteral é a mais efetiva (SANTOS; LIMA, 2005; NICOLÁS *et al.*, 2015).

1.3 MECANISMO DE INFECÇÃO DE HTLV

A infecção da célula hospedeira é iniciada a partir da ligação da gp46 a receptores presentes na superfície dessa célula (JONES *et al.*, 2011; HOSHINO, 2012).

O primeiro receptor cuja relação com a entrada do HTLV na célula foi identificada são os proteoglicanos heparan-sulfato (HSPG). Piñon *et al.* (2003)

demonstraram que a remoção dessa molécula da superfície das células inibe a ligação da gp46 a elas e, portanto, a infecção de novas células.

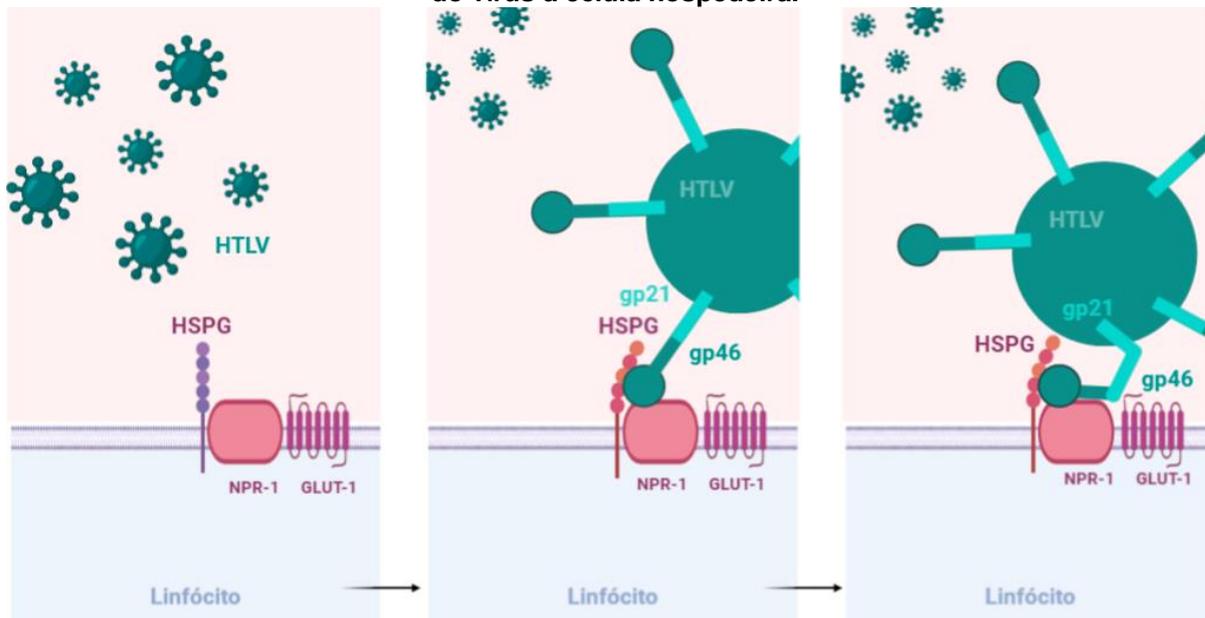
O transportador de glicose GLUT-1 também favorece a infecção por HTLV-1 e 2. Manel *et al.* (2003) verificaram que a presença do vírus inibe o transporte de glicose, identificando que as glicoproteínas do envelope viral ocupavam a posição desse carboidrato no transportador GLUT-1. Devido ao fato de o GLUT-1 ser amplamente difundido pelos tecidos, tal associação contribui para esclarecer a capacidade do HTLV de infectar tantos tipos diferentes de células. A expressão do GLUT-1 pelas células humanas confere a elas susceptibilidade à infecção tanto por HTLV-1 quanto por HTLV-2 (MANEL *et al.*, 2003; COSKUN; SUTTON, 2005).

A proteína neuropilina-1 (NRP-1), presente na superfície celular e cuja função é atuar como correceptora de fatores de crescimento endotelial, também facilita a entrada de HTLV nas células hospedeiras (GHEZ *et al.*, 2006), uma vez que o vírus se liga a ela mimetizando seu ligante (LAMBERT *et al.*, 2009). A superexpressão da NRP-1 aumenta a infecção por HTLV-1 e por HTLV-2, enquanto sua redução apresenta efeito contrário (GHEZ *et al.*, 2006).

A fixação do vírus na célula ocorre graças a interações da gp46 com HSPGs presentes na superfície celular. Isso favorece o encontro da gp46 com moléculas de NRP-1, e ambas se ligam de maneira estável, formando um complexo da gp46 com HSPG e NRP-1 (JONES *et al.*, 2011; HOSHINO, 2012).

A ligação da gp46 ao receptor resulta em uma isomerização da ligação dissulfeto entre gp46 e gp21 (WALLIN; EKSTRÖM & GAROFF, 2004; 2005), o que desencadeia uma mudança conformacional da gp21 que expõe o domínio de fusão entre essas proteínas (LAMB *et al.*, 2008), favorecendo sua ligação ao GLUT-1 da célula hospedeira, resultando na fusão da membrana viral com a membrana celular, permitindo ao vírus liberar no citoplasma todo o seu conteúdo (HOSHINO, 2005; JONES *et al.*, 2011; HOSHINO, 2012) (Figura 3).

Figura 3. Esquema simplificado da função das proteínas do envelope viral de HTLV na fusão do vírus à célula hospedeira.



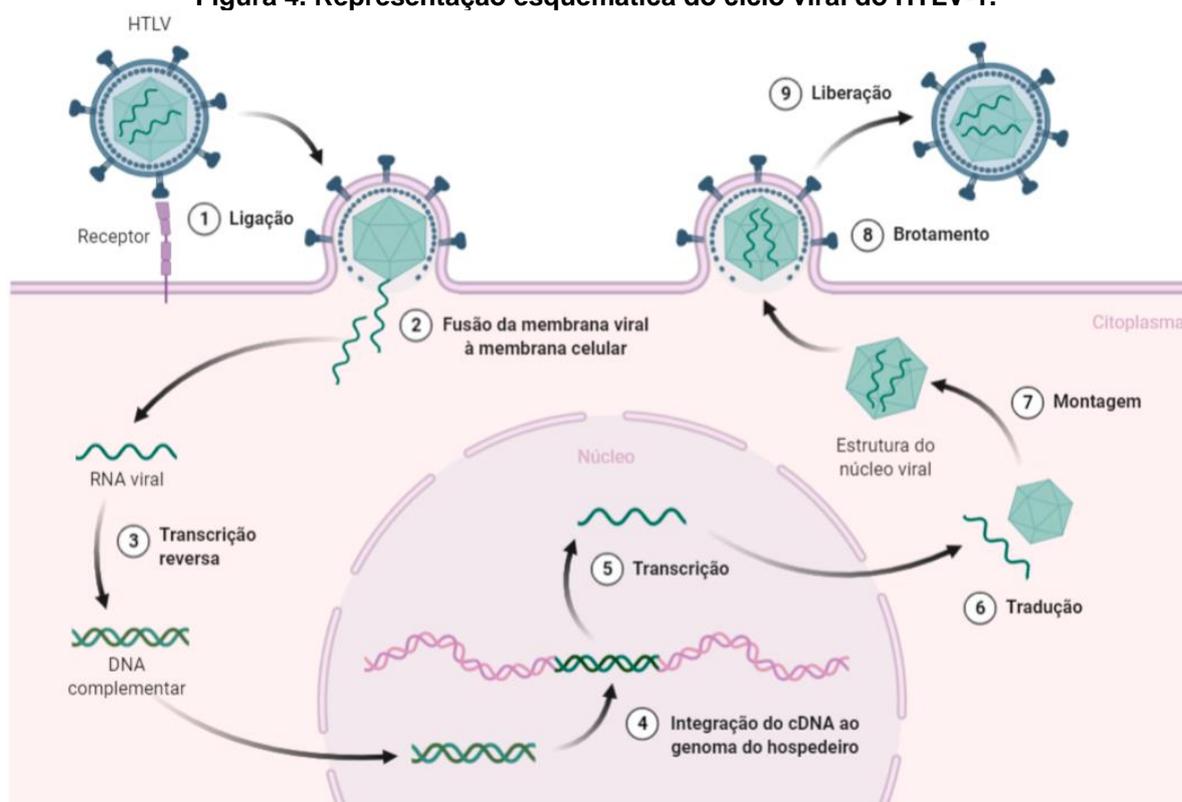
Fonte: Elaborado pela autora, criado com BioRender, baseado em Jones *et al.* (2011) e Hoshino (2012).

Como ocorre com os demais retrovírus, nesse momento, o material genético de RNA do HTLV é transcrito pela TR a DNA complementar, o qual migra para o núcleo e, pela ação de uma integrase viral, é integrado ao genoma da célula infectada (SEIKI *et al.*, 1984; GALLO, 2005).

O vírus HTLV é capaz de aproveitar a maquinaria da célula hospedeira para realizar a transcrição de seu RNA, tradução e montagem das proteínas virais necessárias à montagem de novas partículas virais, que emergem da célula por brotamento, sendo livres para infectar novas células e se replicar, concluindo o ciclo viral (SANTOS; LIMA, 2005) (Figura 4).

No início da infecção, devido ao fato de os linfócitos T infectados ainda apresentarem baixa carga viral, a replicação viral *in vivo* deve-se majoritariamente à propagação do RNA do HTLV pelo contato de células infectadas com células saudáveis em um processo denominado “sinapse virológica” (BANGHAM, 2003), sendo muito ineficiente a infecção de novas células por vírions (LE BLANC, 2001; MATSUOKA; JEANG, 2007).

Figura 4. Representação esquemática do ciclo viral do HTLV-1.



Fonte: Elaborado pela autora, criado com BioRender, adaptado de Santos e Lima (2005).

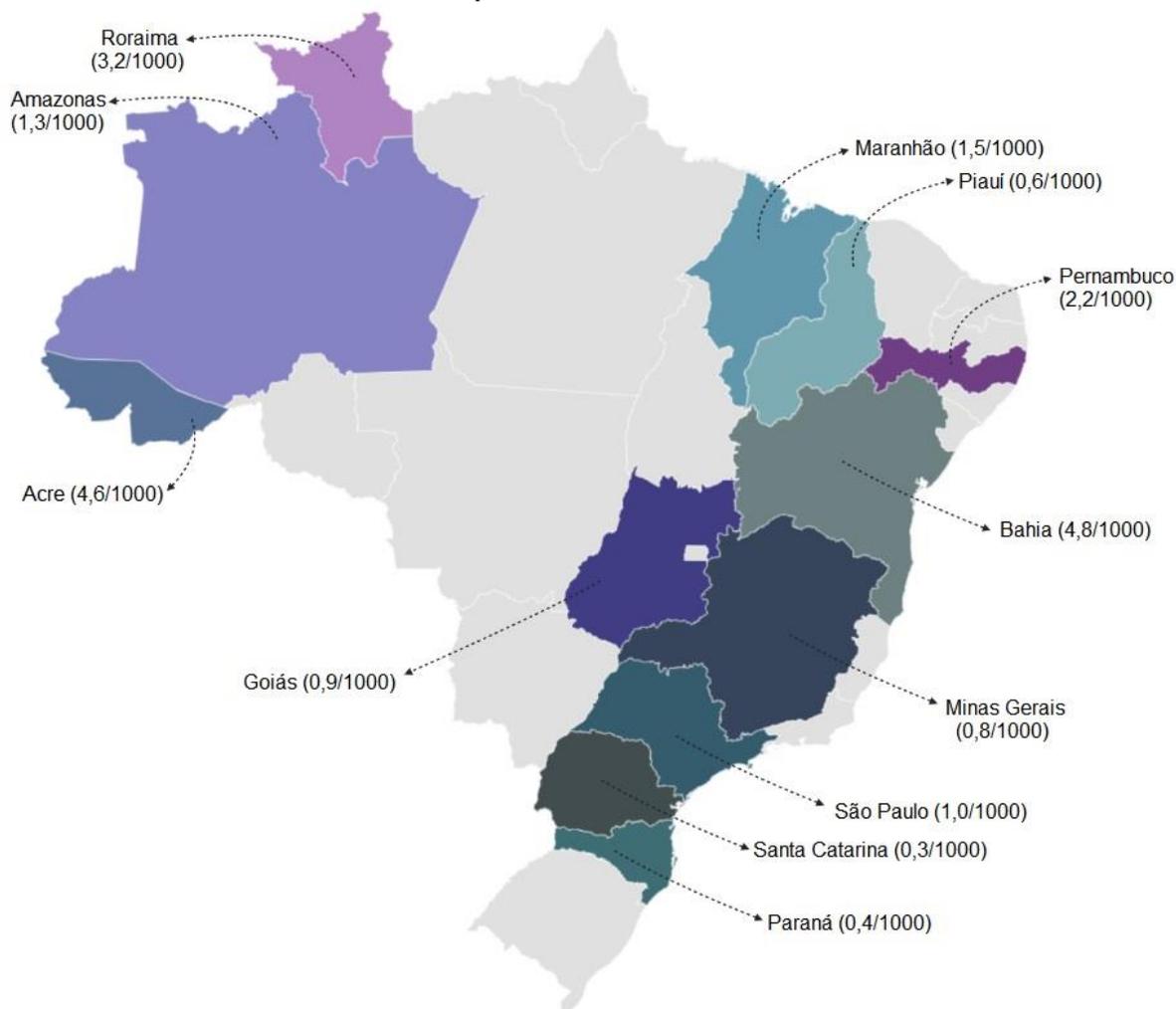
1.4 DADOS EPIDEMIOLÓGICOS NO BRASIL E NO MUNDO

No Brasil, o HTLV-1 foi encontrado pela primeira vez em 1986, em imigrantes japoneses em Campo Grande, no estado do Mato Grosso do Sul (KITAGAWA, 1986). Nos registros mais recentes disponíveis referentes à distribuição de HTLV-1, a América do Sul foi caracterizada como a principal área endêmica para infecção por HTLV-1 e suas doenças associadas (GESSAIN; CASSAR, 2012), sendo o Brasil considerado o país onde provavelmente há o maior número absoluto de pessoas convivendo com o vírus no mundo (BRASIL, 2020).

Estima-se que cerca de 800 mil pessoas estejam infectadas no Brasil (GESSAIN; CASSAR, 2012; BRASIL, 2020), tendo um estudo demonstrado que, a cada 100 indivíduos que doam sangue pela primeira vez, de um a dois são portadores de HTLV-1 ou HTLV-2, uma taxa maior do que a dos Estados Unidos e da Europa, sendo comparável à da África do Sul (CARNEIRO-PROIETTI *et al.*, 2012). Além disso, calcula-se que a prevalência geral do HTLV deve ser maior do que a prevalência de doadores de sangue (BRASIL, 2020). A cidade de Salvador – BA foi considerada epicentro da infecção por HTLV-1 no Brasil e a cidade com maior prevalência de

HTLV-1 do mundo (GESSAIN; CASSAR, 2012; NUNES, 2017; PEREIRA *et al.*, 2019), apresentando as regiões Norte e Nordeste os maiores índices de infecção (BRASIL, 2020) (Figura 5).

Figura 5. Taxas de prevalência da infecção por HTLV1/2 em doadores de sangue (a cada 1000) de 12 capitais de estados brasileiros.



Fonte: Elaborado pela autora, adaptado de Brasil (2020).

Devido à elevada prevalência, no Brasil, são realizados inquéritos sorológicos durante o pré-natal e a triagem para o HTLV em bancos de sangue obrigatória desde 1993 (BRASIL, 1993). A testagem também se tornou mandatória a partir de 2009, para doadores e receptores de órgãos, tecidos, células etc. (BRASIL, 2009) e desde 2011, para indivíduos doadores de gametas para reprodução assistida, sendo a soropositividade critério de exclusão em todos os casos (BRASIL, 2011). Contudo, um estudo em que foram analisadas amostras de doadores de três bancos de sangue durante três anos, identificou uma baixa especificidade com relação a falsos positivos

e negativos (CARNEIRO-PROIETTI *et al.*, 2012), demonstrando a necessidade de uso de métodos mais precisos nessa triagem, sobretudo em áreas com elevada prevalência do vírus.

Estimam-se ao menos 20 milhões de indivíduos infectados em todo o mundo (WILLEMS *et al.*, 2017), contudo, tais dados, além de obsoletos, levam em consideração apenas cerca de 1,5 bilhão da população mundial, ao analisarem apenas indivíduos de áreas conhecidamente endêmicas e que apresentam dados confiáveis, de modo que essa estimativa deve ser ainda superior (ECDC, 2015; GESSAIN; CASSAR, 2012; MURPHY, 2016).

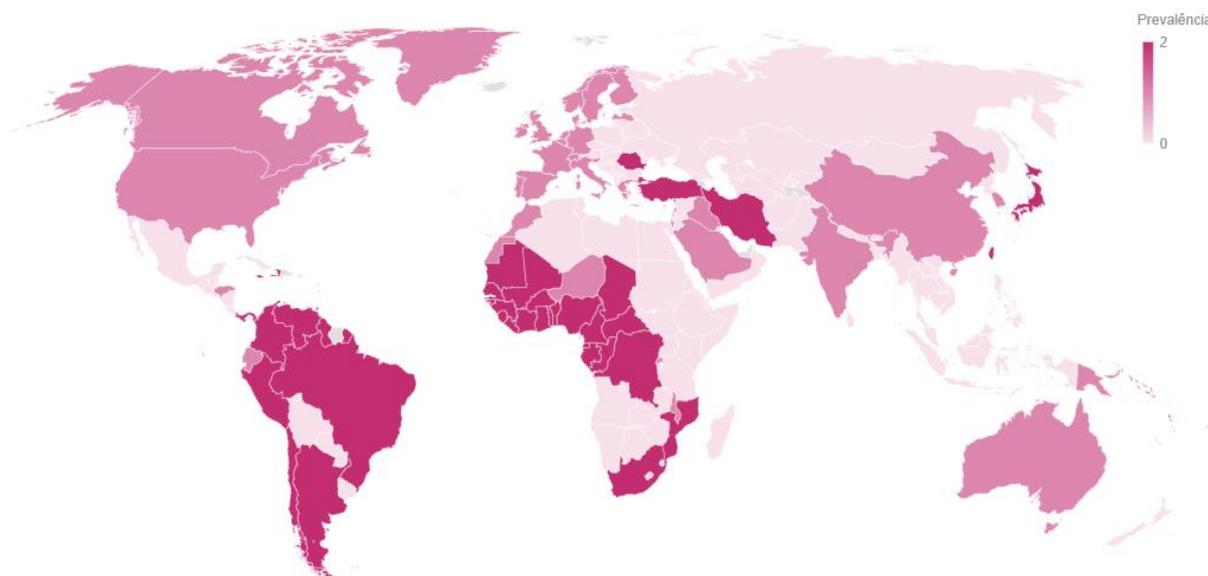
Calcula-se que as maiores concentrações de indivíduos infectados ocorram em países da África, com dois a quatro milhões de portadores, além das Américas Central e do Sul. No Japão, estima-se um milhão de portadores assintomáticos do vírus (PROIETTI *et al.*, 2005; GESSAIN; MAHIEUX, 2012), sendo o vírus endêmico em regiões do sudoeste desse país, nas ilhas do Caribe e no sul da África (ZHENG, 2010).

Em 2015, o *European Center for Disease Prevention and Control* (ECDC) publicou um estudo que reunia os dados mais recentes presentes na literatura, compilando uma lista de países e classificando-os como de alta ou baixa prevalência de HTLV-1, de acordo com os critérios a seguir:

- Países com alta prevalência de HTLV-1: aqueles em que um de 10.000 indivíduos que doaram sangue pela primeira vez testaram positivo para HTLV-1 e/ou mais de 1% da população adulta (maior de 18 anos) em geral é soropositiva;
- Países com baixa prevalência de HTLV-1: prevalência do vírus encontrada em uma taxa menor do que um a cada 10.000 indivíduos doadores de sangue pela primeira vez e/ou menor do que 1% na população adulta em geral;
- Países com falta de informações ou dados confiáveis sobre a prevalência de HTLV-1.

A seguir, apresenta-se o mapa mundial com os países com coloração cuja intensidade varia de acordo com a classificação pelo ECDC (2015) (Figura 6).

Figura 6. Prevalência do HTLV-1. Intensidade da prevalência do vírus varia de 0 a 2, sendo: **0** Países sem informações ou sem dados confiáveis acerca da prevalência do vírus, expostos no mapa em tom mais claro; **1** Países com prevalência de HTLV-1 considerada baixa, exibidos em tom intermediário no mapa; **2** Países com prevalência de HTLV-1 considerada alta, apresentados em tom mais escuro.



Fonte: Elaborado pela autora, adaptado de ECDC (2015) e Mosquera *et al.* (2020).

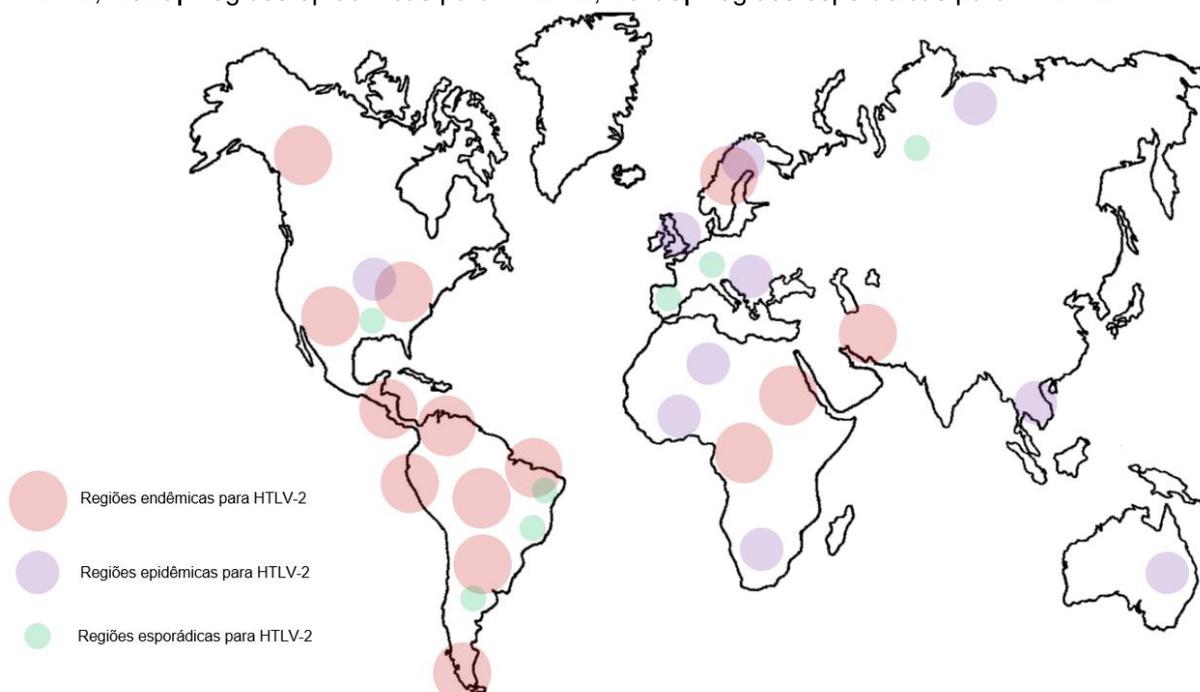
Assim como para HTLV-1, a epidemiologia de HTLV-2 não se encontra bem descrita atualmente, faltando dados confiáveis de diversos países. Contudo, sabe-se que se trata de um vírus endêmico em grupos ameríndios nativos (LAIRMORE *et al.*, 1990) presentes principalmente na região amazônica do Brasil (BRAÇO *et al.*, 2019) e de outros países da América do Sul (ALVA *et al.*, 2012; CARDONA-ARIAS *et al.*, 2019), além da América Central (ISHAK *et al.*, 1995; SWITZER *et al.*, 1995; EGAN *et al.*, 1999; SALEMI *et al.*, 1999; ROUCOUX; MURPHY, 2004; MOSQUERA *et al.*, 2020), e que também está presente em diversos países da África (MAUCLERE *et al.*, 2011; VERMEULEN *et al.*, 2019), como Cabo Verde (DIOP *et al.*, 2006) e Gabão (CARON *et al.*, 2018).

Nos Estados Unidos, a prevalência de HTLV-2 é maior do que de HTLV-1: um estudo analisou amostras de indivíduos que doaram sangue pela primeira vez nos anos de 2000 a 2009 e, dos mais de dois milhões de indivíduos, 104 testaram positivo para HTLV-1 e 300 para HTLV-2. A infecção por HTLV-1 mostrou-se mais presente entre mulheres asiáticas e negras acima de 70 anos, já o HTLV-2 foi mais identificado em mulheres de etnia não branca, com mais de 50 anos, com menor nível educacional e residentes no oeste e sudoeste do país (CHANG *et al.*, 2014).

No mundo todo, HTLV-2 é epidêmico em usuários de drogas injetáveis (LEE *et al.*, 1989; EHRLICH *et al.*, 1989; ZELLA *et al.*, 1990; TRACHTENBERG; GAUDINO & HANSON, 1991; ARAUJO; HALL, 2004).

Com relação à sua distribuição geográfica (Figura 7), estima-se que existam de 670 a 890 mil portadores de HTLV-2 no mundo, sendo a maior concentração nos Estados Unidos (400 – 500 mil), seguido do Brasil (200 – 250 mil). Em ambos os países, a população afetada é composta majoritariamente por ameríndios, usuários de drogas injetáveis e indivíduos que apresentam comportamento sexual de risco. Na Europa, estimam-se que haja entre 20 a 40 mil indivíduos portadores, em maior parte usuários de drogas injetáveis (MURPHY; CASSAR; GESSAIN, 2015), tendo sido identificados em países como Espanha (TORO *et al.*, 2005; TREVIÑO *et al.*, 2012), Portugal (SILVA *et al.*, 2005) e Inglaterra (IRELAND *et al.*, 2017). O HTLV-2 também foi identificado em países da Ásia, como Indonésia e Irã (HASHEMZADEH *et al.*, 2016; SALEHI *et al.*, 2017), Afeganistão (PHAM *et al.*, 2019) e China (MA *et al.*, 2013). Em muitos países da África e da Ásia, no entanto, as taxas de prevalência de HTLV-1/-2 são desconhecidas (VRIELINK; REESINK, 2004).

Figura 7. Distribuição geográfica de HTLV-2. Vermelho | Regiões consideradas endêmicas para HTLV-2; **Roxo** | Regiões epidêmicas para HTLV-2; **Verde** | Regiões esporádicas para HTLV-2.



Fonte: Elaborado pela autora, adaptado de Dumas *et al.* (1991), Roucoux e Murphy (2004), WHO (2010), Beilke e Barrios (2013) e Salehi *et al.* (2017).

1.5 DOENÇAS ASSOCIADAS À INFECÇÃO POR HTLV

Cerca de 98% dos portadores de HTLV-1 permanecem assintomáticos ao longo de suas vidas, de modo que a LLTA ou a PET/MAH desenvolvem-se somente em uma pequena parcela dos indivíduos infectados (MAHIEUX *et al.*, 1997). O risco de desenvolvimento de PET/MAH para portadores do vírus é de 1 a 2% (FUTSCH; MAHIEUX & DUTARTRE, 2018), enquanto o risco de desenvolvimento de LLTA é de 2 a 4% (UCHIYAMA, 1977; FUTSCH; MAHIEUX & DUTARTRE, 2018).

Uma vez que os vírus causadores de LLTA e PET/MAH são idênticos, as manifestações de infecção são influenciadas pela carga proviral (SANTOS; MUNIZ & CARVALHO, 2009), além de características individuais de cada portador como, por exemplo, o sistema antígeno leucocitário humano (HLA) e seu polimorfismo genético (SANTOS; LIMA, 2005).

O HTLV-1 também está associado a outras condições clínicas, tais como artropatias (NISHIOKA *et al.*, 1989), síndrome de Sjögren (MARIETTE *et al.*, 1995), poliomyosites (MORGAN *et al.*, 1989), dentre outras.

O HTLV-2, por sua vez, relaciona-se mais estritamente à PET/MAH, porém, há o crescente aumento de síndromes neurológicas associadas à infecção por esse vírus (ARAUJO; HALL, 2004), além de estar relacionado a infecções por parasitas e bactérias (ALENCAR *et al.*, 2020).

1.5.1 Leucemia/linfoma de células T no adulto (LLTA)

A primeira neoplasia humana relacionada a retrovírus foi a LLTA (BORDUCCHI; KERBAUY; OLIVEIRA, 1999). Trata-se de uma patologia que atinge os linfócitos T, caracterizada também pela integração do DNA viral ao genoma da célula hospedeira (FERNANDES; SILVA, 2003).

Essa doença acomete principalmente indivíduos com mais de 55 anos, sugerindo a existência de um grande período de latência entre a infecção por HTLV e a manifestação de seus sintomas (BLATTNER *et al.*, 1986).

Durante esse período de latência, ocorre o acúmulo de mutações genéticas nas células infectadas, processo no qual a expressão da proteína viral Tax apresenta um papel crucial por promover o ciclo celular das células mutantes, inibindo a apoptose. Com o decorrer dos anos, ocorre a perda da proteína Tax, devido ao fato de essa ser

o maior alvo citotóxico dos linfócitos T. Em virtude disso, as células infectadas não mais conseguem escapar à resposta do sistema imunológico do hospedeiro. Entretanto, a função da Tax na manutenção das células mutantes é substituída pelas mudanças adquiridas pelo próprio genoma do indivíduo portador, de modo que as células mutantes continuam a se acumular, com sua apoptose inibida (IGAKURA *et al.*, 2003).

Dentre as manifestações clínicas relacionadas à LLTA, é possível citar: linfonodomegalia, lesões cutâneas, esplenomegalia, dor abdominal, hepatomegalia, diarreia, ascite, tosse e hipercalcemia (BORDUCCHI; KERBAUY; OLIVEIRA, 1999; BRASIL, 2016). A LLTA é clinicamente classificada em forma aguda, forma linfomatosa, forma crônica e forma indolente.

A forma aguda é a mais comum, e usualmente apresenta-se como uma fase leucêmica e agressiva. Já a forma linfomatosa possui a linfonodomegalia como principal particularidade, apresentando também, geralmente, lesões cutâneas, sem comprometimento do sangue periférico. A forma crônica, em geral, apresenta elevação dos níveis da enzima desidrogenase láctica (DHL) e ausência de hipercalcemia e, por fim, a forma indolente possui ausência de hipercalcemia, possibilidade de lesões de pele e pulmonar. Em 25% dos casos, as formas crônica ou indolente progridem para a forma aguda (BRASIL, 2016).

A média de expectativa de vida entre pacientes com LLTA é de quatro meses quando na fase aguda; nove meses na forma linfomatosa; 18 meses na forma crônica; e 58 meses na forma indolente (BITTENCOURT *et al.*, 2007).

1.5.2 Paraparesia espástica tropical/mielopatia associada ao HTLV (PET/MAH)

A PET/MAH é uma doença desmielinizante progressiva que afeta a medula espinal e a substância branca do cérebro (RIBAS; MELO, 2002). A relação entre vírus e patologia foi estabelecida pela primeira vez em 1982, quando foi observada a presença de anticorpos para HTLV-1 em um indivíduo portador da PET em Martinica, no Caribe (GESSAIN *et al.*, 1982). A associação do HTLV-1 à MAH, por sua vez, deu-se em 1986, quando Osame *et al.* demonstraram o caráter neurotrópico desse retrovírus, no Japão.

As duas patologias foram primeiramente associadas em 1989, após a demonstração da presença de anticorpos anti-HTLV-1 no soro e líquido de pacientes

das regiões do Caribe, Colômbia e Japão, que apresentavam PET/MAH (IJICHI *et al.*, 1989); essa relação foi observada mais tarde em diversas outras áreas do mundo (ROMAN; ROMAN, 1988).

Integram o quadro clínico dessa doença: incontinência urinária, espasticidade, dor lombar baixa, hiperreflexia, disfunções vesical e intestinal, perturbações sensoriais além de fraqueza progressiva e enrijecimento dos membros inferiores que levam a distúrbios da marcha (RIBAS; MELO, 2002; TOSTE *et al.*, 2007; SANTOS; MUNIZ & CARVALHO, 2009). Essas manifestações usualmente ocorrem a partir dos 40 anos do indivíduo portador (RIBAS; MELO, 2002).

As particularidades envolvidas na fisiopatologia do vírus ainda são alvo de estudo, entretanto, existem três hipóteses que dissertam acerca da relação da infecção por HTLV-1 com o desenvolvimento da PET/HAM, que são:

- Citotoxicidade direta: esse mecanismo seria resultante da ação das células T citotóxicas CD8+ específicas para antígenos virais. Essas células, mediante mecanismos citotóxicos diretos ou por vias de produção de citocinas, destruiriam as células infectadas por HTLV-1. A produção exacerbada de citocinas, todavia, acarretaria dano tecidual ao portador (NAKAMURA *et al.*, 1993; IJICHI *et al.*, 1993; UMEHARA *et al.*, 1994; IJICHI; OSAME, 1995; FURUKAWA *et al.*, 2003);
- Mimetismo molecular: a ribonucleoproteína heterogênea (hnRNP-A1), uma proteína neuronal do hospedeiro, e a proteína Tax viral são muito semelhantes, acarretando um processo de mimetismo molecular. Como resultado, tem-se um processo inflamatório de autoimunidade levando à lesão neuronal, tendo em vista que os anticorpos do paciente identificariam a hnRNP-A1 como um autoantígeno (OLDSTONE *et al.*, 1998; LEVIN *et al.*, 2002; LEE *et al.*, 2005);
- Dano circundante ou “*bystander*”: consiste na ativação de células imunocompetentes que não tenham direto envolvimento na resposta ao patógeno. Nessa hipótese, linfócitos T CD4+ infectados e linfócitos T CD8+ específicos contra a Tax viral atravessariam a barreira hematoencefálica e produziram quantidade elevada de citocinas pró-inflamatórias, resultando em intensa inflamação e dano tecidual (OSAME, 2002; KUBOTA, 2003; NAGAI; OSAME, 2003).

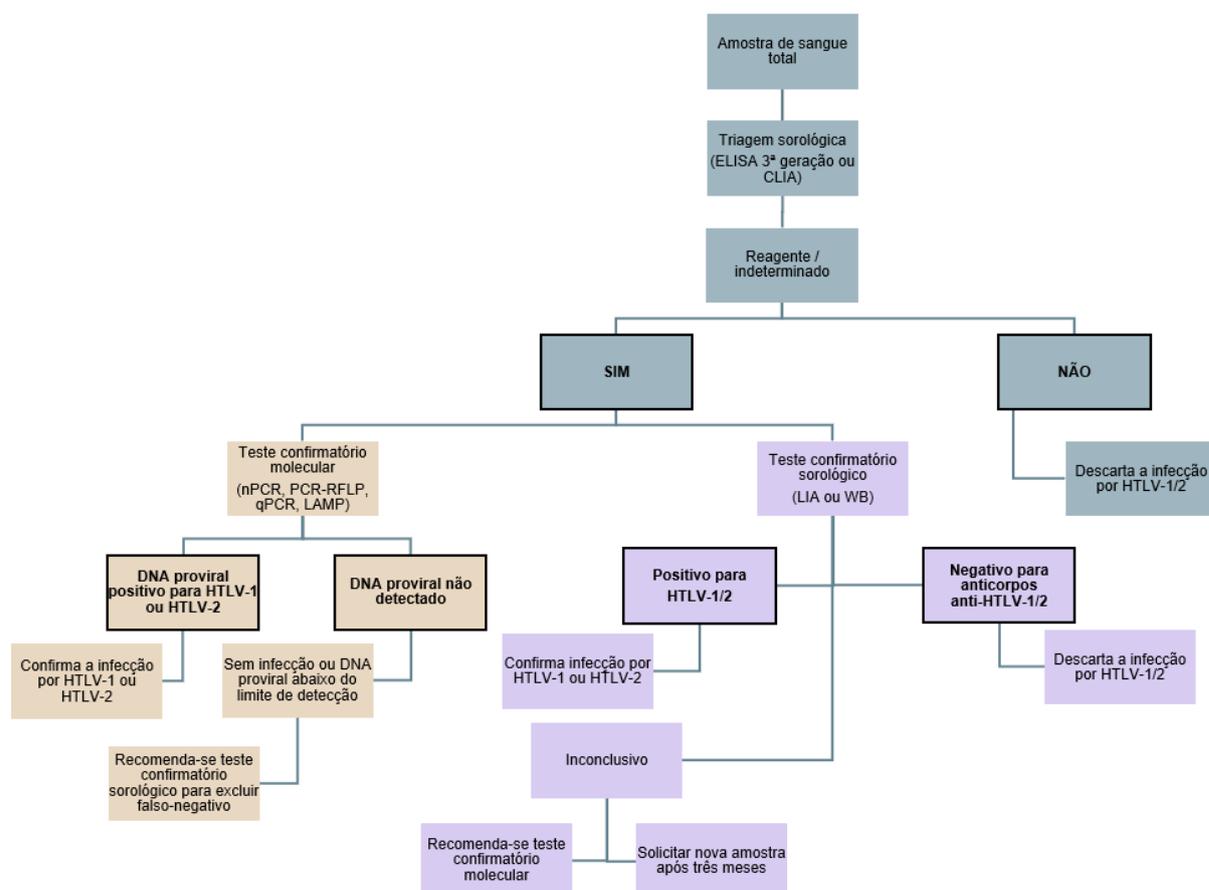
1.6 TESTES DIAGNÓSTICOS

Maiores investigações acerca do HTLV, incluindo desenvolvimentos de novos testes estão estreitamente relacionadas à profilaxia e ao tratamento de suas doenças associadas, as quais representam grave ameaça à vida dos pacientes infectados, bem como onerosos e penosos tratamentos com baixa eficiência, tendo em vista que não há tratamento antirretroviral eficiente (MACHUCA; RODÉS; SORIANO, 2001; FUTSCH; MAHIEUX; DUTARTRE, 2018).

A realização de diagnóstico da infecção por HTLV é baseada em duas etapas, sendo que a primeira consiste na busca sorológica por anticorpos contra proteínas de diversas porções desse vírus, e a segunda consiste na confirmação do diagnóstico, que ocorre pela realização de testes sorológicos e/ou moleculares (BRASIL, 2021). Os exames confirmatórios visam principalmente à diferenciação de possíveis falso-positivos oriundos dos exames de triagem (POIESZ *et al.*, 2000). De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), um indivíduo é considerado soropositivo se apresentar anticorpos uma proteína produto do gene *gag* (p19 ou p24) e uma proteína do envelope viral (gp46 ou gp21) (WHO, 1991; BRASIL, 2021).

Atualmente, os testes sorológicos que constituem as recomendações de testes laboratoriais para diagnóstico da infecção por HTLV-1/2 pelo Ministério da Saúde são ensaio imunoenzimático (ELISA, do inglês *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) de terceira geração ou ensaio de quimioluminescência (CLIA) para triagem, e *Western blotting* (WB) e imunoensaio de linha (LIA) para confirmação. Com relação aos testes moleculares, os indicados são: *nested* PCR ou PCR aninhada (nPCR), PCR seguida de pesquisa de sítios restrição enzimática que resultam em fragmentos de diferentes tamanhos (PCR-RFLP, do inglês *restriction fragment polymorphism analysis*), PCR em tempo real ou quantitativa (qPCR) ou amplificação isotérmica de ácidos nucleicos mediada por alça (LAMP) (BRASIL, 2021). Os fluxogramas de testes laboratoriais para diagnóstico de infecção por HTLV-1/2 no Brasil com o uso de testes confirmatórios sorológicos e moleculares são apresentados (Figura 8) para melhor visualização.

Figura 8. Fluxogramas de testes laboratoriais para diagnóstico de infecção por HTLV-1/2 no Brasil.



Fonte: Elaborado pela autora adaptado de Brasil (2021).

O ELISA de terceira geração se baseia em uma pesquisa de anticorpos contra antígenos específicos do vírus. Nesse sentido, como antígenos de captura são utilizados peptídeos sintéticos e/ou proteínas recombinantes de HTLV-1/2, derivados dos capsídeo e envelope virais, adsorvidos a uma placa de poliestireno, onde são incubados os soros a serem testados (CATALAN-SOARES, 2001; BRASIL, 2021; LIMA et al., 2021). Trata-se de um método específico, porém muito dependente da qualidade do antígeno empregado, apresentando também elevados custos de produção (RODRIGUES *et al.*, 2014). Sua baixa especificidade e o fato de não permitir diferenciar a infecção por HTLV-1 ou HTLV-2 torna necessária a utilização de outros métodos diagnósticos para confirmação de resultados, os quais nem sempre são de aplicação conveniente a uma rotina de triagem (WILLEMS *et al.*, 2017).

O CLIA é um teste que consiste em um aperfeiçoamento do ELISA. São empregadas proteínas recombinantes do envelope de HTLV-1 e HTLV-2 adsorvidas a partículas magnéticas. O indicador da reação analítica apresenta-se como uma

molécula luminescente (BRASIL, 2021). Em comparação com o ELISA convencional, o CLIA consome menor tempo, mão de obra e reagentes, além de apresentar maior especificidade e sensibilidade, sendo capaz de detectar anticorpos em concentrações menores (CINQUANTA; FONTANA; BIZZARO, 2017).

Os testes de WB contêm as proteínas gp46 I e II, gp21, p24 e p19 como antígenos virais. A detecção via WB ocorre a partir do reconhecimento da presença de anticorpos para os antígenos virais citados, separados por eletroforese por seus pesos moleculares e aderidos a tiras de nitrocelulose. A detecção ocorre mediante um ensaio imunoenzimáticos, que resulta na visualização de bandas correspondentes aos antígenos virais utilizados (BRASIL, 2021). Trata-se, contudo, de um método que requer muito tempo de execução e, portanto, está muito sujeito a erros, além de apresentar elevados custos (CATALAN-SOARES, 2001; COSTA; CAMPOS & CATERINO-DE-ARAÚJO, 2011; MILLER, 2016; FANI *et al.*, 2019). Em contrapartida, um estudo realizado por Campos *et al.* em 2015 identificou o LIA como o teste mais eficiente na finalidade de diagnóstico da presença de HTLV-1/2, provavelmente devido ao fato de o teste envolver a imobilização de antígenos em tiras de nylon, o que os torna mais sensíveis no reconhecimento de anticorpos nos soros dos pacientes. Importa dizer, contudo, que esse teste possui critérios de interpretação menos rígido do que o WB.

A reação de PCR é mais específica e sensível do que os métodos citados. Essa tecnologia permite amplificar sequências específicas existentes nos genomas virais de HTLV-1/2, viabilizando um diagnóstico preciso com a detecção do tipo viral diretamente dos tecidos e sangue do paciente (CATALAN-SOARES, 2001; CARNEIRO-PROIETTI, 2002; THORSTENSSON *et al.*, 2002). Essa metodologia também apresenta limitações, pois baseia-se na amplificação de sequências específicas do DNA proviral de HTLV, o qual foi gerado pela ação da TR viral sobre o RNA, num processo sem correção de leitura que, portanto, ocasiona diversas mutações. Além disso, os ensaios de PCR podem apresentar baixa sensibilidade quando realizados em momentos com baixa carga viral presente (ANDRES *et al.*, 2005), além de serem caros e laboriosos (EUSEBIO-PONCE *et al.*, 2019).

A qPCR é uma variação da PCR que possibilita que a amplificação e a detecção de DNA proviral ocorram ao mesmo tempo, resultando dados quantitativos precisos. Sua precisão e praticidade são muito desejáveis no diagnóstico, contudo, essa técnica requer equipamentos e materiais específicos, bem como elevado treinamento de

peçoal. Na execução da *nested* PCR, há a amplificação abrangente do DNA de interesse e das sequências que o flanqueiam, seguida da amplificação específica da sequência alvo (BRASIL, 2021). A LAMP é uma técnica recente que possibilita a detecção visual direta dos produtos amplificados por PCR, possibilitando uma análise rápida e não onerosa (CONNELLY et al., 2015). A PCR-RFLP também se baseia na detecção do DNA pró-viral, fazendo-o após mediante análise e comparação entre número e tamanho de fragmentos desse DNA geradas pela clivagem com enzimas de restrição (BRASIL, 2021).

Em 2016, foram incorporados ao Sistema Único de Saúde (SUS) dois exames para a detecção do vírus HTLV-1, indicados para pacientes com suspeita de leucemia ou linfoma associado ao vírus para confirmação da infecção, possibilitando que recebam o melhor. São eles: PCR em tempo real, que objetiva detectar o RNA viral e, assim, confirmar a presença do HTLV-1; e pesquisa de anticorpos anti-HTLV-1 por WB (CONITEC, 2016). No entanto, apesar dos avanços das pesquisas no Brasil, os kits utilizados com fins diagnósticos nos bancos de sangue nacionais possuem, em sua maioria, origem estrangeira (por exemplo, de companhias como *BioMerioux*, *MP Biomedicals Ltd.*, *Wiener lab.* e *Genelabs Diagnostics*[®]), além de haver escassez de métodos que sejam eficientes em detectar e discriminar a presença de HTLV-1 ou HTLV-2, que consiste no diferencial buscado por este trabalho.

Os testes citados dependem de instalações complexas e do trabalho de equipes especializadas, contribuindo para o surgimento de centros de diagnósticos, comumente em hospitais ou *facilities*. Em contraste a isso, tem havido um crescimento no desenvolvimento de testes diagnósticos rápidos *Point of Care* (POC), os quais provém análises menos centralizadas, ampliando o acesso a essas mesmo em áreas remotas. Esses testes dispensam estruturas onerosas, minimizando a quantidade de procedimentos, a necessidade de manipulação exclusivamente por equipe treinada bem como o período entre a obtenção da amostra e sua análise (PEELING; MABEY, 2010; LUPPA et al., 2011).

Esses testes constituem, substancialmente, miniaturas de sistemas de análise diagnóstica: componentes biológicos são imobilizados em uma superfície e recebem a amostra, que não requer prévio tratamento para ser submetida à análise. A interação entre os componentes biológicos e a amostra aplicada pode ser detectada por diversos métodos, como eletroquímicos ou ópticos (LUPPA et al., 2011).

1.7 PROTEÍNAS p24, gp46 E gp21 DE HTLV

A principal proteína interna constituinte do capsídeo é a p24, que possui peso molecular de 24 kDa (KALYANARAMAN *et al.*, 1981; BARONI *et al.*, 1986), sendo obtida por meio do processamento da proteína p55, codificada pelo gene viral *gag*. A p24 foi identificada na superfície de células T infectadas por HTLV por Palker *et al.* (1984), estando comumente associada a áreas de brotamento do vírus nessas células. Essa proteína compõe o antígeno mais encontrado nas partículas virais, no que diz respeito às proteínas codificadas pelo gene *gag* (BARIN *et al.*, 1985).

Estudos demonstraram não haver reação cruzada entre a p24 de HTLV e as de outros retrovírus (OROSZLAN *et al.*, 1982), indicando o potencial uso dessa proteína como antígeno de captura em testes diagnósticos, visando também à discriminação entre outros retrovírus. Sua aplicação diagnóstica foi confirmada obtendo-se 100% de eficácia em indivíduos portadores de alguma patologia associada à infecção por HTLV, 75% de eficácia em indivíduos assintomáticos com HTLV-1 e 67% de eficácia em indivíduos assintomáticos portadores de HTLV-2 (TOEDTER *et al.*, 1992).

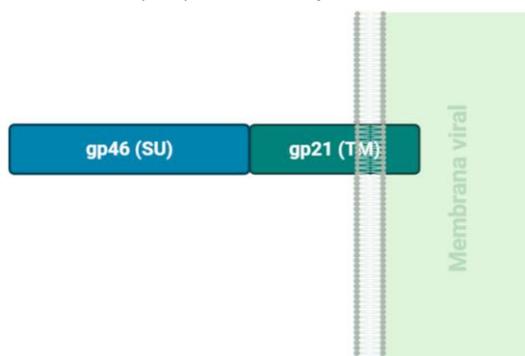
Testes diagnósticos empregam a p24 para confirmação da infecção e diferenciação do vírus (COSTA; CAMPOS & CATERINO-DE-ARAUJO, 2011; FANI *et al.*, 2019), e estudos recentes buscam aperfeiçoar variantes dessa proteína para aplicações diagnósticas (FAATZ; SCHOLZ; MEUNCH, 2017). O uso da p24 é vantajoso pois essa proteína se encontra presente no plasma dos pacientes em todos os estágios da infecção. A detecção desse antígeno poder ocorrer de cinco a seis dias antes do aparecimento de anticorpos, ou de 16 a 17 dias após a infecção (STANECKI, 2000).

As proteínas gp46 e gp21 são oriundas do processamento da proteína gp62, codificada pelo gene *env*. Conforme explicado na seção 1.2 deste trabalho, ambas são glicoproteínas do envelope, estando a gp46 na porção superficial do HTLV, enquanto a gp21 é uma proteína transmembrana (Figura 9).

Por serem glicoproteínas de envelope, tanto a gp21 quanto a gp46 são imunogênicas, apresentando epítomos específicos que permitem a identificação sorológica da infecção pelo vírus (KURODA *et al.*, 1990; HORAL *et al.*, 1991; HOSHINO, 2012). Essas proteínas foram avaliadas como alvo para a obtenção de potenciais vacinas contra HTLV (SHIDA *et al.*, 1987; BABA *et al.*, 1995). Epítomos das

proteínas gp46 de HTLV-1 e 2 são diferentes e possibilitam diferenciação sorológica da infecção por esses dois retrovírus (HORAL *et al.*, 1991; HADLOCK *et al.*, 1992).

Figura 9. Organização das proteínas do envelope de HTLV. Disposição da gp46 (SU) e da gp21 (TM) no envelope viral.



Fonte: Elaborado pela autora, criado com BioRender, adaptado de Hoshino (2012).

1.8 PRODUÇÃO DE PROTEÍNAS RECOMBINANTES

A produção de proteínas recombinantes por meio de sistemas microbiológicos representou uma revolução biotecnológica, caracterizando a Era da Biotecnologia Moderna pelo uso da tecnologia do DNA recombinante em meados dos anos 70 (DEMAIN; VAISHNAV, 2009). Essa tecnologia tornou viável a obtenção em larga escala de inúmeras proteínas com potencial relevante, outrora produzidas apenas em quantidades insignificantes (FALEIRO; ANDRADE, 2011; ROSANO; CECCARELLI, 2014).

As aplicações das proteínas recombinantes são diversas, tendo em vista a importância biológica dessas moléculas e seu vasto potencial industrial para os setores biofarmacêutico, agrícola e alimentício, por exemplo. Neste trabalho, as proteínas recombinantes foram obtidas com finalidade de aplicação diagnóstica.

Atualmente, há uma vasta diversidade de organismos utilizados como sistemas de expressão heteróloga. A escolha desse organismo deve levar em consideração alguns critérios tais como o nível de expressão desejado, a estabilidade necessária ao produto e a aplicação destinada ao produto (SCHMIDT, 2004).

Dentre as bactérias, *E. coli* é o organismo mais amplamente utilizado para a produção de proteínas recombinantes (GOPAL; KUMAR, 2013; ROSANO; MORALES; CECCARELLI, 2019), apresentando a vantagem de possuir crescimento e expressão rápidos, facilidade de cultivo e elevadas taxas de produção (SWARTZ,

2001). A manipulação desse organismo para inserção da sequência de DNA codificadora do gene da proteína de interesse pode ser realizada de forma rápida e precisa com facilidade, bem como seu número de cópias plasmidiais pode ser alterado e seu promotor pode ser facilmente controlado (DEMAIN; VAISHNAV, 2009).

A utilização de bactérias como sistema de expressão, entretanto, também possui desvantagens, por exemplo: formação de corpos de inclusão por enovelamento incorreto das proteínas produzidas, tornando-as insolúveis (FISCHER; SUMNER & GOODENOUGH, 1993); citotoxicidade pela formação de acetato em altas densidades celulares; e falta de maquinaria complexa necessária à realização de modificações pós-traducionais (JENKINS; CURLING, 1994; ROSANO; CECCARELLI, 2014).

Os fungos, por sua vez, são organismos utilizados como sistemas de expressão principalmente para a obtenção de proteínas que não são produzidas adequadamente em *E. coli*. Leveduras são fungos geneticamente bem caracterizados capazes de realizar importantes modificações pós-traducionais, tais como glicosilação, e de secretar as proteínas recombinantes produzidas quando ligadas a um peptídeo sinal. São também mais fáceis de manipular e mais baratas do que células de mamífero ou insetos (DEMAIN; VAISHNAV, 2009).

As duas leveduras mais comumente utilizadas são *Saccharomyces cerevisiae* e *Pichia pastoris*, sendo esta última denominada metilotrófica, pela capacidade de metabolizar o metanol como fonte de carbono. *P. pastoris* apresenta como vantagem sobre as demais leveduras sua elevada capacidade de secretar proteínas (DEMAIN; VAISHNAV, 2009) e de ser um pobre fermentador, o que permite uma densidade celular maior do que organismos muito fermentadores, tendo em vista que o etanol produzido na fermentação atinge rapidamente níveis que o tornam tóxico para esses organismos, impedindo o crescimento e a produção de proteínas recombinantes, limitações superadas no uso de *P. pastoris* (CEREGHINO; CREGG, 2000). Entretanto, é importante apontar que *P. pastoris* não é capaz de produzir proteínas que requeiram enovelamento com chaperonas (GELLISSEN *et al.*, 1992), apresentando também alguns problemas na secreção de proteínas de mamíferos (CEREGHINO; CREGG, 2000).

Há outros sistemas de expressão de proteínas recombinantes como células de inseto, células de mamíferos e plantas que não são objetivo deste trabalho.

1.9 SISTEMA DE EXPRESSÃO EUCARIOTO *Pichia pastoris*

A empresa Phillips Petroleum Company foi a primeira a utilizar *P. pastoris* como sistema de expressão heteróloga na década de 70 (CEREGHINO; CREGG, 2000), sendo considerada hoje uma das leveduras mais utilizadas para esse fim (BAGHBAN et al., 2019).

Pertencente à família *Saccharomycetaceae*, *P. pastoris* demanda técnicas simples e de baixo custo para seu cultivo e sua manipulação genética, não necessita de meios complexos; ademais, graças ao seu promotor forte e altamente regulado, PAOX1, apresenta crescimento rápido (GELLISSEN et al., 1992; CREGG, 2000; CEREGHINO; CREGG, 2000), e temperatura ideal de crescimento 30°C e pH ideal na faixa de três a sete (COS et al., 2006; ZEPEDA et al., 2014).

O consumo de metanol como fonte única de carbono pode ser limitante em cultivo em altos volumes, porém, também constitui uma vantagem tendo em vista que a presença de elevadas concentrações de metanol no meio de cultivo é tóxica para muitos outros microrganismos, de modo a atuar também como um agente de seleção, inibindo a contaminação (GELLISSEN et al., 1992).

A habilidade de secreção proteica e a capacidade de produzir proteínas recombinantes a níveis elevados devido à presença de seu promotor forte também contribuem para a escolha de *P. pastoris* como sistema de expressão (CEREGHINO; CREGG, 2000). A secreção de proteínas recombinantes é altamente desejável, sobretudo para evitar a formação de corpos de inclusão e para facilitar e baratear o processo de purificação proteica. Somado a essas habilidades, reitera-se a capacidade desse organismo de realizar modificações pós-traducionais, tais como processamento proteolítico e glicosilação (CEREGHINO; CREGG, 2000).

Para a metabolização do metanol por *P. pastoris*, essa levedura conta com os genes das enzimas álcool oxidase 1 e 2 (respectivamente AOX1 e AOX2), que são responsáveis por catalisar a oxidação de metanol a formaldeído, gerando peróxido de hidrogênio como subproduto (TORRES; MORAES, 2000). Esses genes apresentam homologia de cerca de 97%, entretanto, o crescimento em metanol dependente de AOX2 é significativamente menor do que o dependente de AOX1 pois o promotor de AOX2 é mais fraco, assim, seu produto apresenta um nível de expressão muito menor (DALY; HEARN, 2005).

O AOX1 é responsável pela produção de 90% da álcool oxidase na célula, enquanto cabem ao gene AOX2 apenas os 10% restantes (HARDER; VEENHUIS, 1989). O AOX1 também está relacionado à promoção da expressão heteróloga por *P. pastoris*, sendo ativado mediante a presença de metanol, e reprimido quando na ausência desse composto ou na presença de glicose, de modo que a fonte de carbono adicionada ao meio de cultivo de *P. pastoris* ativa ou inibe a expressão heteróloga (TORRES; MORAES, 2000).

A presença de dois promotores de enzimas álcool oxidase permite a divisão de *P. pastoris* em três estirpes recombinantes, são elas: Mut⁺, Mut^S e Mut⁻. Essas três estirpes diferem entre si na ativação dos genes AOX1 e AOX2 e, portanto, em sua capacidade de utilizar o metanol como fonte de carbono. A estirpe de fenótipo Mut⁺ apresenta ambos os genes AOX intactos e, portanto, possui rápido crescimento na presença de metanol, metabolizando-o como única fonte de carbono. A estirpe Mut^S, por sua vez, possui uma alteração no gene AOX1 que resulta em perda parcial da atividade da enzima codificada por ele, culminando em um crescimento mais lento na presença de metanol, se comparada à estirpe Mut⁺; já a estirpe Mut⁻ não é capaz de crescer na presença de metanol, pois possui ambos os genes AOX interrompidos (CEREGHINO; CREGG, 2000).

Mut^S é uma linhagem dependente do produto do gene AOX2, causando uma redução da capacidade da célula de assimilar metanol, resultando em seu baixo crescimento em meio contendo esse componente (CREGG *et al.*, 2000; LINDENMUTH; MCDONALD, 2011), além de apresentar tolerância a apenas baixas concentrações de metanol no meio, não sendo capaz de crescer utilizando-o como fonte única de carbono (DALY; HEARN, 2005). Como alternativa a essa limitação, fontes de carbono alternativas, tais como sorbitol, manitol, trealose e alanina podem ser utilizadas para sustentar o crescimento das células dessa linhagem, permitindo seu crescimento sem reprimir a expressão do gene AOX2 (INAN; MEAGHER, 2001; SREEKRISHNA *et al.*, 1997).

Por ser defectiva para algumas proteases, a Mut^S mostra-se mais eficiente em reduzir a degradação das proteínas recombinantes secretadas (CEREGHINO; CREGG, 2000; DALY; HEARN, 2005).

A inserção do gene de interesse em *P. pastoris* ocorre por recombinação homóloga quando se utiliza o vetor pPICZαA, o que garante a obtenção de clones

positivos altamente estáveis, passíveis de serem armazenados por longo período (KIELKOPF; BAUER; URBATSCH, 2021).

O uso de *P. pastoris* para expressão recombinante de glicoproteínas virais é amplamente descrito na literatura. Destarte, ainda que não haja na literatura referências acerca da importância do padrão de glicosilação da proteína gp46 de HTLV-2 para a eficiência de sua utilização como antígenos de captura em testes diagnósticos para HTLV, esse organismo foi selecionado para expressão recombinante dessa proteína, levando em conta se tratar de uma glicoproteína, e a importância que tal modificação no que concerne à solubilidade e ao enovelamento proteico (ONO *et al.*, 2000). Somado a isso, consta a capacidade de secreção de proteínas recombinantes de *P. pastoris*, que foi fator decisivo na seleção desse sistema de expressão, visando à eliminação de uma etapa no processo de purificação da proteína produzida, otimizando-o em termos de tempo e custos.

1.10 SISTEMA DE EXPRESSÃO PROCARIOTO *Escherichia coli*

O sistema de expressão heteróloga mais comumente utilizado é *E. coli*, mesmo com tantos outros organismos e suas tecnologias atualmente disponíveis, por apresentar manejo genético simples, ser versátil à recepção de vetores plasmidiais, possuir bom custo-benefício e elevados níveis de expressão (JOSEPH *et al.*, 2015), além de ser um organismo cujo genoma é bem estabelecido (JEONG *et al.*, 2009; JEONG; KIM & LEE, 2015).

A linhagem BL21(DE3) é uma das linhagens de *E. coli* mais utilizadas como sistema de expressão heterólogo, apresentando elevado nível de expressão recombinante (JOSEPH *et al.*, 2015). Essa linhagem se destaca porque apresenta a sequência do fago λ DE3, que contém uma cópia do gene que codifica para a T7 RNA polimerase em um cromossomo regulado pelo promotor *lacUV5*, o que significa dizer que sua expressão pode ser induzida pela presença de isopropil β -D-1-tiogalactopiranosídeo (IPTG) (STUDIER; MOFFATT, 1986). No entanto, deve ser observado que bactérias dessa linhagem podem apresentar expressão basal (JOSEPH *et al.*, 2015), o que não é desejável no caso de produtos tóxicos às células.

A manutenção da estabilidade da proteína recombinante a ser expressa é outra característica importante proveniente do uso da BL21(DE3), haja vista que os genes da protease Lon, responsável pela degradação de proteínas exógenas

(GOTTESMAN, 1996; JOSEPH *et al.*, 2015), e da protease OmpT, a qual degrada proteínas extracelulares (GRODBERG; DUNN, 1988), estão deletados nessa linhagem (JOSEPH *et al.*, 2015). Além disso, a mutação no gene *hsdSB* previne a degradação por restrição do vetor plasmidial na bactéria (ROSANO; CECCARELLI, 2014).

Contudo, essa linhagem de *E. coli* apresenta limitações quanto à tradução de certos códons em aminoácidos para formar a proteína recombinante. Foi identificado um conjunto de códons (AGG, AGA, AUA, CUA, CGA, CGG e CCC) que, seja em *clusters* ou dispostos sozinhos no gene de interesse, causavam problemas traducionais (KANE, 1995), como deslocamento do quadro de leitura (SPANJAARD; VAN DUIN, 1988), terminação prematura da tradução (GERCHMAN; GRAZIANO & RAMAKRISHNAN, 1994), incorporação de aminoácidos incorretos (CALDERONE; STEVENS & OAS, 1996) e redução da taxa de expressão. A frequência de uso desses códons por *E. coli* é muito baixa, sendo denominados códons raros, em virtude de a bactéria apresentar baixos níveis de tRNA cognatos capazes de traduzi-los (KANE, 1995).

As limitações de expressão impostas pela presença de códons raros podem ser superadas, por exemplo, optando-se por sintetizar o gene com códons otimizados. Contudo, essa prática pode demandar altos custos e tempo para síntese, de modo que outra solução pode ser mais atraente, como por exemplo, o uso da cepa de *E. coli* Rosetta(DE3), em que genes codificadores de tRNAs raros são co-expressos (NOVY *et al.*, 2001).

As cepas da linhagem Rosetta(DE3) de *E. coli* apresentam tRNAs para os códons AGG, AGA, AUA, CUA, CCC e GGA dispostos em um plasmídeo da família pRARE que possui o gene *Cam*, que confere à linhagem resistência ao antibiótico Cloranfenicol (NOVY *et al.*, 2001).

Foram comparados os níveis de expressão em cepas de *E. coli* BL21(DE3) e Rosetta(DE3), levando à observação de que a presença de códons raros é um fator decisivo não apenas nos rendimentos da expressão recombinante (FU; LIN & CEN, 2007), mas também impacta significativamente a pureza da proteína (TEGEL *et al.*, 2010). Verificou-se que a presença de mais de oito códons raros no gene de interesse interfere em sua expressão recombinante, sendo a cepa Rosetta(DE3) mais eficiente do que a BL21(DE3) para produção proteica, nesses casos (TEGEL *et al.*, 2010).

O uso da linhagem C43(DE3) mostra-se interessante pois essa é eficiente em expressar proteínas tóxicas oriundas de todas as classes de organismos, incluindo vírus. Assim, ainda que a proteína produzida seja tóxica, sua expressão é viável mesmo em altos níveis (LUCIGEN, 2018).

A utilização da linhagem ArcticExpress(DE3), por sua vez, é interessante à expressão recombinante pois expressa constitutivamente duas chaperonas de *Oleispira antarctica*, as quais são adaptadas ao frio, auxiliando significativamente no correto enovelamento de proteínas recombinantes produzidas ao se ligarem a elas. Tais chaperonas, Cpn10 e Cpn60, com cerca de 10 e 57 kDa respectivamente, são codificadas pelo plasmídeo pACYC, o qual também apresenta gene que confere à linhagem resistência ao antibiótico Gentamicina; elas se encontram especialmente ativas em temperaturas entre 4°C e 12°C (FERRER *et al.*, 2003).

O uso de baixas temperaturas durante a expressão heteróloga e a co-expressão com chaperonas demonstrou favorecer a estabilidade, a solubilidade e o correto enovelamento proteicos (JOSEPH *et al.*, 2015), mostrando-se relevante aos interesses deste trabalho.

6 CONCLUSÃO

Foram encontrados e superados inúmeros desafios à produção recombinante da proteína gp46 de HTLV-2 em sua íntegra. Selecionou-se primeiramente a levedura *P. pastoris* como organismo de expressão recombinante dessa proteína, contudo, seu uso para essa finalidade não demonstrou ser eficiente. Em virtude desse insucesso, optou-se pelo uso de sistema procarioto, utilizando linhagens de *E. coli*.

Foram testadas as linhagens Rosetta(DE3), C43(DE3) e ArcticExpress(DE3), sendo esta a única em que a expressão recombinante da gp46_{II} foi bem-sucedida, ocorrendo em quantidades satisfatórias e na forma solúvel. Ademais, a purificação dessa proteína por IMAC foi realizada com sucesso, bem como sua detecção por *Dot blotting* e *Western blotting*.

As proteínas de HTLV-1 tiveram suas condições de expressão em *E. coli* BL21(DE3) padronizadas com sucesso, contudo, encontram-se na forma insolúvel.

As quatro proteínas foram utilizadas como antígenos de captura em um ensaio de ELISA *in-house* sanduíche, empregando-se soros de pacientes positivos para HTLV-1 e HTLV-2, bem como amostras de pacientes soronegativos para ambos os vírus. Inespecificidades obtidas nesse teste indicam a necessidade de seu aprimoramento com avaliação de novas variáveis como: combinações de concentrações de soros, de proteínas e de anticorpo secundário, bem como o uso de proteínas com maior pureza.

REFERÊNCIAS

- AGILENT TECHNOLOGIES, Inc. **ArcticExpress Competent Cells and ArcticExpress (DE3) Competent Cells**. Instruction manual. [S. l. : s. n.], 2015. 17 p.
- AHMAD, M. *et al.* Protein expression in *Pichia pastoris*: recent achievements and perspectives for heterologous protein production. **Applied microbiology and biotechnology**, [S. l.], v. 98, n. 12, p. 5301-5317, 2014.
- ALENCAR, S. P. *et al.* Prevalence and molecular epidemiology of human T-Lymphotropic virus (HTLV) infection in people living with HIV/AIDS in the Pará State, Amazon Region of Brazil. **Frontiers in Microbiology**, [S. l.], v. 11, p. 572381, 2020.
- ALVA, I. E. *et al.* HTLV-1 and-2 infections among 10 indigenous groups in the Peruvian Amazon. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, [S. l.], v. 87, n. 5, p. 954-956, 2012.
- ANDRADE, C. D. No meio do caminho. **Revista de Antropofagia**, São Paulo, 1928.
- ANDRES, D. *et al.* Diagnostic tests for small ruminant lentiviruses. **Veterinary microbiology**, [S. l.], v. 107, n. 1-2, p. 49-62, 2005.
- ARAÚJO, A.; HALL, W. W. Human T-lymphotropic virus type II and neurological disease. **Annals of neurology**, [S. l.], v. 56, n. 1, p. 10-19, 2004.
- ARAÚJO, A.; HALL, W. W. Human T-lymphotropic virus type II and neurological disease. **Annals of neurology**, [S. l.], v. 56, n. 1, p. 10-19, 2004.
- AUWAL, I. K.; ROGO, L. D. Human T-Lymphotropic Virus, Associated Myelopathy and Leukemia: A Review, [S. l.], 2018.
- BABA, E. *et al.* A peptide-based human T cell leukemia virus type I vaccine containing T and B cell epitopes that induces high titers of neutralizing antibodies. **The Journal of Immunology**, [S. l.], v. 154, n. 1, p. 399-412, 01 jan. 1995. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7527817/>. Acesso em: 24 jan. 2021.
- BAGHBAN, R. *et al.* Yeast expression systems: overview and recent advances. **Molecular biotechnology**, v. 61, n. 5, p. 365-384, 25 fev. 2019. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12033-019-00164-8>. Acesso em: 21 ago. 2022.
- BANGHAM, C. R. M. The immune control and cell-to-cell spread of human T-lymphotropic virus type 1. **Journal of General Virology**, [S. l.], v. 84, n. 12, p. 3177-3189, 2003.
- BARIN, F. *et al.* Virus envelope protein of HTLV-III represents major target antigen for antibodies in AIDS patients. **Science**, [S. l.], v. 228, n. 4703, p. 1094-1096, 1985.

BARONI, C. D. *et al.* Immunohistochemical demonstration of p24 HTLV III major core protein in different cell types within lymph nodes from patients with lymphadenopathy syndrome (LAS). **Histopathology**, [S. l.], v. 10, n. 1, p. 5-13, 1986.

BARRETO, F. K. *et al.* A Fully Annotated Genome Sequence of Human T-Cell Lymphotropic Virus Type 1 (HTLV-1). **Journal of Bioinformatics, Computacional and Systems Biology**, [S. l.], v. 1, n. 1, p. 1-3, 23 jun. 2017. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/iciict/21100/2/Barreto%20FK%20A%20fully%20annotated....pdf>. Acesso em: 06 fev. 2021.

BEILKE, M.A., MD, BARRIOS, C., PhD. Human retroviral infections other than HIV infection. **ACP Medicine**. [S. l.], 2013

BERTOZZI, C. R.; KIESSLING, L. L. Chemical glycobiology. **Science**, [S. l.], v. 291, n. 5512, p. 2357-2364, 2001. DOI: 10.1126/science.1059820. Disponível em: <https://science.sciencemag.org/content/291/5512/2357/tab-pdf>. Acesso em: 06 fev. 2021.

BIGGAR, R. J. *et al.* Human leukocyte antigen concordance and the transmission risk via breast-feeding of human T cell lymphotropic virus type I. **Journal of Infectious Diseases**, [S. l.], v. 193, n. 2, p. 277-282, 2006.

BITTENCOURT, A. L. *et al.* Adult T-cell leukemia/lymphoma in Bahia, Brazil: analysis of prognostic factors in a group of 70 patients. **American Journal of Clinical Pathology**, [S. l.], v. 128, n. 5, p. 875-882, 2007.

BLATTNER, W. A. *et al.* Modes of transmission and evidence for viral latency from studies of human T-cell lymphotropic virus type I in Japanese migrant populations in Hawaii. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [S. l.], v. 83, n. 13, p. 4895-4898, 1986

BORDUCCHI, D. M. M.; KERBAUY, J.; OLIVEIRA, J. S. R. Linfoma/Leucemia de células T do adulto. **Revista da Associação Médica Brasileira**, [S. l.], v. 45, n. 1, p. 63-70, 1999.

BRAÇO, I. L. J. *et al.* High prevalence of human T-lymphotropic virus 2 (HTLV-2) infection in villages of the Xikrin tribe (Kayapo), Brazilian Amazon region. **BMC infectious diseases**, [S. l.], v. 19, n. 1, p. 459, 2019.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, [S. l.], p. 72248-254, 1976.

BRAOUDAKI, M.; TZORTZATOU-STATHOPOULOU, F. Tumorigenesis related to retroviral infections. **The Journal of Infection in Developing Countries**, [S. l.], v. 5, n. 11, p. 751758, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde, Prevalência da infecção por HTLV-1/2 no Brasil. **Boletim Epidemiológico**, Secretaria de vigilância em Saúde, Ministério da Saúde, Brasília, DF, v. 51, n. 48, dez. 2020. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2022/prevalencia-da-infeccao-por-htlv-12-no-brasil>. Acesso em: 13 ago. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução – RDC nº 23, de 27 de maio de 2011**. Dispõe sobre o regulamento técnico para o funcionamento dos Bancos de Células e Tecidos Germinativos e dá outras providências. Diário Oficial da União, seção 1, p. 88, Brasília, DF, 30 maio 2011. Disponível em:

https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2011/res0023_27_05_2011_rep.html. Acesso em: 15 fev. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Guia de manejo clínico da infecção pelo HTLV**. 1. ed. MS: Brasília, DF, 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria nº 1.376, de 19 ed novembro de 1993**. Aprova alterações na Portaria nº 721/GM, de 09.08.89, que aprova Normas Técnicas para coleta, processamento e transfusão de sangue, componentes e derivados, e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 02 dez. 1993. Disponível em: http://redsang.ial.sp.gov.br/site/docs_leis/ps/ps29.pdf. Acesso em: 15 fev. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria nº 2.600, de 21 de outubro de 2009**. Aprova o Regulamento Técnico do Sistema Nacional de Transplantes. Diário Oficial da União, seção 1, p. 77, Brasília, DF, 30 out. 2009. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2009/prt2600_21_10_2009.html. Acesso em: 15 fev. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Portaria nº 54, de 18 de julho de 2016. Aprova o Protocolo de Uso da Zidovudina para Tratamento do Adulto com Leucemia/Linfoma Associação ao Vírus HTLV-1. Diário Oficial União. 19 jul. 2016; Seção 1; Página 30.

BRESOLIN, I. T. L.; MIRANDA, E. A.; BUENO, S. M. A. Cromatografia de afinidade por íons metálicos imobilizados (IMAC) de biomoléculas: aspectos fundamentais e aplicações tecnológicas. **Química Nova**, [S. l.], v. 32, p. 1288-1296, 2009. Disponível em: [https://](https://www.scielo.br/j/qn/a/Py8KhHJ8Ck7pNbxSvTHY6MK/?lang=pt)

<https://www.scielo.br/j/qn/a/Py8KhHJ8Ck7pNbxSvTHY6MK/?lang=pt>. Acesso em: 18 ago. 2021.

CALATTINI, S. *et al.* Discovery of a new human T-cell lymphotropic virus (HTLV-3) in Central Africa. **Retrovirology**, [S. l.], v. 2, n. 1, p. 30, 2005.

CALDERONE, T. L.; STEVENS, R. D.; OAS, T. G. High-level Misincorporation of Lysine for Arginine at AGA Codons in a Fusion Protein Expressed in *Escherichia coli*. **Journal of molecular biology**, [S. l.], v. 262, n. 4, p. 407-412, out. 1996. DOI: 10.1006/jmbi.1996.0524. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022283696905240>. Acesso em: 31 jan. 2021.

CAMPOS, K. R. *et al.* Comparison of laboratorial tests for the diagnosis of human T-lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) and type 2 (HTLV-2) in HIV-1 infected patients. **R. Inst. Adolfo Lutz**, [S. l.], v. 74, n. 1, p. 57-65, 2015. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/vti-324192>. Acesso em: 08 jun. 2022.

- CARDONA-ARIAS, J. A. *et al.* Seroprevalence of human T-lymphotropic virus HTLV and its associated factors in donors of a blood bank of Medellín-Colombia, 2014-2018. **PloS one**, [S. l.], v. 14, n. 8, p. e0221060, 2019.
- CARNEIRO-PROIETTI, A. B. F. *et al.* Human T-lymphotropic virus type 1 and type 2 seroprevalence, incidence, and residual transfusion risk among blood donors in Brazil during 2007–2009. **AIDS research and human retroviruses**, [S. l.], v. 28, n. 10, p. 1265-1272, 20 set. 2012. DOI: 10.1089/aid.2011.0143. Disponível em: <https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/AID.2011.0143>. Acesso em: 01 fev. 2021.
- CARNEIRO-PROIETTI, A. B. F. *et al.* Infecção e doença pelos vírus linfotrópicos humanos de células T (HTLV-I/II) no Brasil. **Rev Soc Bras Med Trop**, [S. l.], v. 35, n. 5, p. 499-508, 2002.
- CARON, M. *et al.* Revisiting human T-cell lymphotropic virus types 1 and 2 infections among rural population in Gabon, central Africa thirty years after the first analysis. **PLoS neglected tropical diseases**, [S. l.], v. 12, n. 10, p. e0006833, 2018.
- CATALAN-SOARES, B. C.; PROIETTI, F. A.; CARNEIRO-PROIETTI, Anna Bárbara de Freitas. Os vírus linfotrópicos de células T humanos (HTLV) na última década (1990-2000): Aspectos epidemiológicos. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, [S. l.], v. 4, p. 81-95, 2001.
- CEREGHINO, J. L.; CREGG, J. M. Heterologous protein expression in the methylotrophic yeast *Pichia pastoris*. **FEMS microbiology reviews**, [S. l.], v. 24, n. 1, p. 45-66, 2000.
- CHANG, Y. B. *et al.* Seroprevalence and Demographic Determinants of Human T-Lymphotropic Virus Type 1 and 2 Infections Among First-Time Blood Donors—United States, 2000–2009. **The Journal of Infectious Diseases**, [S. l.], v. 209, n. 4, p. 523–531, 15 fev. 2014. DOI: 10.1093/infdis/jit497. Disponível em: <https://academic.oup.com/jid/article/209/4/523/2192998?login=true>. Acesso em: 26 jan. 2021.
- CHEVALLET, M.; LUCHE, S.; RABILLOUD, T. Silver staining of proteins in polyacrylamide gels. **Nature protocols**, [S. l.], v. 1, n. 4, p. 1852, 22 nov. 2006. DOI: 10.1038/nprot.2006.288. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nprot.2006.288>. Acesso em: 08 fev. 2021.
- CIMINALE, V. *et al.* HTLV-1 and HTLV-2: highly similar viruses with distinct oncogenic properties. **Frontiers in microbiology**, [S. l.], v. 5, p. 398, 29 jul. 2014. DOI: 10.3389/fmicb.2014.00398. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2014.00398/full>. Acesso em: 19 jan. 2021.
- CINQUANTA, L.; FONTANA, D. E.; BIZZARO, N. Chemiluminescent immunoassay technology: what does it change in autoantibody detection?. **Autoimmunity highlights**, [S. l.], v. 8, n. 1, p. 1-8, 24 jun. 2017. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13317-017-0097-2>. Acesso em: 08 jun. 2022.

COMISSÃO NACIONAL DE INCORPORAÇÃO DE TECNOLOGIAS NO SUS (CONITEC), **Relatório de Recomendações no 220** (jun. 2016) – Portaria: SCTIE/MS nº 23/2016, publicada em 06/06/2016.

CONNELLY, J. T.; ROLLAND, J. P.; WHITESIDES, G. M. “Paper machine” for molecular diagnostics. **Analytical chemistry**, [S. l.], v. 87, n. 15, p. 7595-7601, 23 jun. 2015. DOI: 10.1021/acs.analchem.5b00411. Disponível em: https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acs.analchem.5b00411?casa_token=1jem-VqRxfAAAAAA%3ADge7MREhyQuzikVVyCrZGav1oxiw7rAs_6xe7M-58vX78CCVmFL3USqHOziycw0Z6WbyjRl2ZZJev8UG. Acesso em: 10 jun. 2022.

COS, O. *et al.* Operational strategies, monitoring and control of heterologous protein production in the methylotrophic yeast *Pichia pastoris* under different promoters: a review. **Microbial cell factories**, [S. l.], v. 5, n. 1, p. 17, 2006.

COSKUN, A. K.; SUTTON, R. E. Expression of glucose transporter 1 confers susceptibility to human T-cell leukemia virus envelope-mediated fusion. **Journal of virology**, [S. l.], v. 79, n. 7, p. 4150-4158, abr. 2005. DOI: 10.1128/JVI.79.7.4150-4158.2005. Disponível em: <https://jvi.asm.org/content/79/7/4150.short>. Acesso em: 25 jan. 2021.

COSTA, E. A. S.; CAMPOS, K. R.; CATERINO-DE-ARAÚJO, A.. Análise do custo-benefício de dois algoritmos de testes laboratoriais para o diagnóstico confirmatório de infecção por HTLV-1 e HTLV-2. **BEPA. Boletim Epidemiológico Paulista (Online)**, [S. l.], v. 8, n. 94, p. 04-15, 2011.

CREGG, J. M. Development of yeast transformation systems and construction of methanolutilization-defective mutants of *Pichia pastoris* by gene disruption. **Biol. Res. Ind. Yeast**, [S. l.], v. 2, p. 1-19, 1987.

CREGG, J. M. *et al.* Recombinant protein expression in *Pichia pastoris*. **Molecular biotechnology**, [S. l.], v. 16, n. 1, p. 23-52, 2000.

CREGG, J. M.; MADDEN, K. R. Development of the methylotrophic yeast, *Pichia pastoris*, as a host system for the production of foreign proteins. **Developments in industrial microbiology (USA)**, [S. l.], 1988.

DALY, R.; HEARN, M. T. W. Expression of heterologous proteins in *Pichia pastoris*: a useful experimental tool in protein engineering and production. **Journal of Molecular Recognition: An Interdisciplinary Journal**, [S. l.], v. 18, n. 2, p. 119-138, 2005.

DAVI, E. V. **Clonagem de fragmentos dos genes gag e env do HIV-1 e HTLV-1, expressão em Escherichia coli das proteínas gp21, p24 e gp46 do HTLV-1 e imunodeteção**. 2015. 150 p. Dissertação (Mestrado em Biociências Aplicadas à Farmácia) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2015.

DELAMARRE, L. *et al.* The HTLV-I envelope glycoproteins: structure and functions. **JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, [S. l.], v. 13, p. S85-S91, 1996. Disponível em: https://journals.lww.com/jaids/Fulltext/1996/00001/The_HTLV_I_Envelope_Glycoproteins__Structure_and.15.aspx. Acesso em: 23 jan. 2021.

- DEMAIN, A. L.; VAISHNAV, Preeti. Production of recombinant proteins by microbes and higher organisms. **Biotechnology advances**, [S. l.], v. 27, n. 3, p. 297-306, 2009.
- DIOP, S. *et al.* Seroprevalence and molecular epidemiology of human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) and HTLV-2 in blood donors from Dakar, Senegal. **Journal of clinical microbiology**, [S. l.], v. 44, n. 4, p. 1550-1554, 2006.
- DUMAS, M. *et al.* Seroepidemiology of human T-cell lymphotropic virus type I/II in Benin (West Africa). **AIDS research and human retroviruses**, [S. l.], v. 7, n. 5, p. 447-451, 1991
- EGAN, J. F. *et al.* High rate of human T lymphotropic virus type IIa infection in HIV type 1-infected intravenous drug abusers in Ireland. **AIDS research and human retroviruses**, [S. l.], v. 15, n. 8, p. 699-705, 1999.
- EHRlich, G. D. *et al.* Prevalence of human T-cell leukemia/lymphoma virus (HTLV) type II infection among high-risk individuals: type-specific identification of HTLVs by polymerase chain reaction. **Blood**, [S. l.], v. 74, n. 5, p. 1658-1664, 1989.
- EUROPEAN CENTER FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL (ECDC). **Geographical distribution of areas with a high prevalence of HTLV-1 infection**. Estocolmo: ECDC, mar. 2015. DOI: 10.2900/047633. ISBN: 978-92-9193-625-0. Disponível em: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/geographical-distribution-areas-high-prevalence-HTLV1.pdf>. Acesso em: 25 jan. 2021.
- EUSEBIO-PONCE, E. *et al.* HTLV-1 infection: an emerging risk. Pathogenesis, epidemiology, diagnosis and associated diseases. **Revista Española de Quimioterapia**, [S. l.], v. 32, n. 6, p. 485, 11 dez. 2019. Disponível em: [revespquimioter-32-485.pdf](https://www.revespquimioter-32-485.pdf) (nih.gov). Acesso em: 02 fev. 2021.
- FAATZ, E.; SCHOLZ, C.; MUENCH, P. **Soluble and immunoreactive variants of HTLV capsid antigen p24**. U.S. Patent Application n. 15/246,607, 29 jun. 2017.
- FALEIRO, F. G.; ANDRADE, S. R. M. Biotecnologia: uma visão geral. **Biotecnologia: Estado de arte e aplicações na agropecuária. Planaltina, Embrapa**, [S. l.], p. 13-29, 2011.
- FANI, M. *et al.* Current approaches for detection of human T-lymphotropic virus Type 1: A systematic review. **Journal of cellular physiology**, [S. l.], v. 234, n. 8, p. 12433-12441, 2019.
- FERNANDES, L.; SILVA, M. A. Vírus T-linfotrópicos humanos (HTLV-I e II). **Universidade de Évora**, [S. l.], 2003.
- FERREIRA JR, O. C.; PLANELLES, V.; ROSENBLATT, J. D. Human T-cell leukemia viruses: epidemiology, biology, and pathogenesis. **Blood reviews**, [S. l.], v. 11, n. 2, p. 91-104, 1997.
- FERREIRA, T.; RASBAND, W. **ImageJ User Guide**. [S. l.], out. 2012. Disponível em: <https://imagej.nih.gov/ij/docs/guide/user-guide.pdf>. Acesso em: 17 jun. 2021.

FERRER, M. *et al.* Chaperonins govern growth of *Escherichia coli* at low temperatures. **Nature Biotechnology**, [S. l.], v. 21, n. 11, p. 1266-1267, 01 nov. 2003. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nbt1103-1266>. Acesso em: 29 jun. 2021.

FISCHER, B.; SUMNER, I.; GOODENOUGH, P. Isolation, renaturation, and formation of disulfide bonds of eukaryotic proteins expressed in *Escherichia coli* as inclusion bodies. **Biotechnology and bioengineering**, [S. l.], v. 41, n. 1, p. 3-13, 1993.

FRANCHINI, G. Molecular mechanisms of human T-cell leukemia/lymphotropic virus type I infection. **Blood**, [S. l.], v. 86, n. 10, p. 3619-3639, 1995.

FU, W.; LIN, J.; CEN, P. 5-Aminolevulinate production with recombinant *Escherichia coli* using a rare codon optimizer host strain. **Applied microbiology and biotechnology**, [S. l.], v. 75, n. 4, p. 777-782, 28 fev. 2007. DOI: 10.1007/s00253-007-0887-y. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-007-0887-y>. Acesso em: 31 jan. 2021.

FUJII, M.; SASSONE-CORSI, P.; VERMA, I. M. c-fos promoter trans-activation by the tax1 protein of human T-cell leukemia virus type I. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [S. l.], v. 85, n. 22, p. 8526-8530, 1988.

FURUKAWA, Y. *et al.* Different cytokine production in tax-expressing cells between patients with human T cell lymphotropic virus type I (HTLV-I)-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis and asymptomatic HTLV-I carriers. **The Journal of infectious diseases**, [S. l.], v. 187, n. 7, p. 1116-1125, 2003.

FUTSCH, N.; MAHIEUX, R.; DUTARTRE, H. HTLV-1, the other pathogenic yet neglected human retrovirus: from transmission to therapeutic treatment. **Viruses**, [S. l.], v. 10, n. 1, p. 1, 2018. DOI: 10.3390/v10010001. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1999-4915/10/1/1>. Acesso em: 02 fev. 2021.

GALLO, R. C. History of the discoveries of the first human retroviruses: HTLV-1 and HTLV2. **Oncogene**, [S. l.], v. 24, n. 39, p. 5926, 2005.

GALLO, R. C.; SLISKI A.; WONG-STAAL F. Origin of human T-cell leukemia-lymphoma virus. **Lancet ii**: 962-963, [S. l.], 1983

GAMBLE, T. R. *et al.* Structure of the carboxyl-terminal dimerization domain of the HIV-1 capsid protein. **Science**, [S. l.], v. 278, n. 5339, p. 849-853, 1997. DOI: 10.1126/science.278.5339.849. Disponível em: https://www.science.org/doi/full/10.1126/science.278.5339.849?casa_token=5Xk43bheFI0AAAAA%3A14WOwcry-BMyZzKv2SALe-eSN2OS7rQrwapADdczeUZxwqU6-6odLizTD8uMz_8XW6Vu1njbUplZKn8. Acesso em: 10 ago. 2021.

GELLISSEN, G. *et al.* High-level expression of foreign genes in *Hansenula polymorpha*. **Biotechnology advances**, [S. l.], v. 10, n. 2, p. 179-189, 1992.

GERCHMAN, S. E.; GRAZIANO, V.; RAMAKRISHNAN, V. Expression of chicken linker histones in *E. coli*: sources of problems and methods for overcoming some of the difficulties. **Protein expression and purification**, [S. l.], v. 5, n. 3, p. 242-251,

jun. 1994. DOI: 10.1006/prev.1994.1037. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1046592884710370>. Acesso em: 31 jan. 2021.

GESSAIN, A. *et al.* Antibodies to human T-lymphotropic virus type-I in patients with tropical spastic paraparesis. **The Lancet**, [S. l.], v. 326, n. 8452, p. 407-410, 1985.

GESSAIN, A. *et al.* HTLV-3/4 and simian foamy retroviruses in humans: discovery, epidemiology, cross-species transmission and molecular virology. **Virology**, [S. l.], v. 435, n. 1, p. 187-199, 05 jan. 2013. DOI: 10.1016/j.virol.2012.09.035. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0042682212004850>. Acesso em: 09 fev. 2022.

GESSAIN, A.; CASSAR, O. Epidemiological aspects and world distribution of HTLV-1 infection. **Frontiers in microbiology**, [S. l.], v. 3, p. 388, 15 nov. 2012. DOI: 10.3389/fmicb.2012.00388. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23162541/>. Acesso em: 01 fev. 2021.

GESSAIN, A.; GALLO, R. C.; FRANCHINI, G. Low degree of human T-cell leukemia/lymphoma virus type I genetic drift in vivo as a means of monitoring viral transmission and movement of ancient human populations. **Journal of virology**, [S. l.], v. 66, n. 4, p. 2288-2295, 1992.

GHEZ, D. *et al.* Neuropilin-1 is involved in human T-cell lymphotropic virus type 1 entry. **Journal of virology**, [S. l.], v. 80, n. 14, p. 6844-6854, jul. 2006. DOI: 10.1128/JVI.02719-05. Disponível em: <https://jvi.asm.org/content/80/14/6844.short>. Acesso em: 24 jan. 2021.

GODFREY-FAUSSETT P. *et al.* How human immunodeficiency virus voluntary testing can contribute to tuberculosis control. **Bulletin of the World Health Organization** 80: 939-945, [S. l.], 2002.

GOPAL, G. J.; KUMAR, A. Strategies for the production of recombinant protein in Escherichia coli. **The protein journal**, Nova Iorque, v. 32, n. 6, p. 419-425, 30 jul. 2013. DOI: 10.1007/s10930-013-9502-5. Disponível em: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s10930-013-9502-5.pdf>. Acesso em: 21 ago. 2022.

GOTTESMAN, S. Proteases and their targets in Escherichia coli. **Annual review of genetics**, [S. l.], v. 30, n. 1, p. 465-506, dez. 1996. DOI: 10.1146/annurev.genet.30.1.465. Disponível em: <https://www.annualreviews.org/doi/pdf/10.1146/annurev.genet.30.1.465>. Acesso em: 30 jan. 2021.

GRODBERG, J.; DUNN, J. J. ompT encodes the Escherichia coli outer membrane protease that cleaves T7 RNA polymerase during purification. **Journal of bacteriology**, [S. l.], v. 170, n. 3, p. 1245-1253, mar. 1988. DOI: 10.1128/jb.170.3.1245-1253.1988. Disponível em: <https://jb.asm.org/content/jb/170/3/1245.full.pdf>. Acesso em: 30 jan. 2021.

HADLOCK, K. G. *et al.* Cloning and analysis of a recombinant antigen containing an epitope specific for human T-cell lymphotropic virus type II. **Blood**, [S. l.], v. 79, n. 10,

15 maio 1992, p. 2789-2796. DOI: 10.1182/blood.V79.10.2789.2789. Disponível em: <https://ashpublications.org/blood/article/79/10/2789/166925>. Acesso em: 06 fev. 2021.

HALL, W. W. *et al.* Human T lymphotropic virus type II (HTLV-II): epidemiology, molecular properties, and clinical features of infection. **JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, [S. l.], v. 13, p. S204-S214, 1996. Disponível em: https://journals.lww.com/jaids/Fulltext/1996/00001/Human_T_Lymphotropic_Virus_Type_II__HTLV_II__.31.aspx. Acesso em: 19 jan. 2021.

HARDER, W.; VEENHUIS, M. Metabolism of one-carbon compounds. **The yeasts**, [S. l.], v. 3, p. 289-316, 1989.

HASHEMZADEH, M. S. *et al.* Determination of sero-epidemiological of HTLV-1 and HTLV-2 among blood donors in Guilan Province of Iran. **Journal of Pure and Applied Microbiology**, [S. l.], v. 10, n. 1, p. 345-351, 2016.

HINUMA, Y. *et al.* Adult T-cell leukemia: antigen in an ATL cell line and detection of antibodies to the antigen in human sera. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [S. l.], v. 78, n. 10, p. 6476-6480, 1981.

HORAL, P. *et al.* Identification of type-specific linear epitopes in the glycoproteins gp46 and gp21 of human T-cell leukemia viruses type I and type II using synthetic peptides. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [S. l.], v. 88, n. 13, p. 5754-5758, 01 jul. 1991. DOI: 10.1073/pnas.88.13.5754. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1712105/>. Acesso em: 24 jan. 2021.

HOSHINO, H. Cellular factors involved in HTLV-1 entry and pathogenicity. **Frontiers in microbiology**, [S. l.], v. 3, p. 222, 21 jun. 2012. DOI: 10.3389/fmicb.2012.00222. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2012.00222/full>. Acesso em: 01 ago. 2020.

IGAKURA, T. *et al.* Spread of HTLV-I between lymphocytes by virus-induced polarization of the cytoskeleton. **Science**, [S. l.], v. 299, n. 5613, p. 1713-1716, 2003.

IJICHI, S. *et al.* Activated T lymphocytes in cerebrospinal fluid of patients with HTLV-I-associated myelopathy (HAM/TSP). **J Neuroimmunol**, [S. l.], v. 25, n. 2-3, p. 251-4, 1989.

IJICHI, S. *et al.* An autoaggressive process against bystander tissues in HTLV-I-infected individuals: A possible pathomechanism of HAM/TSP. **Medical hypotheses**, [S. l.], v. 41, n. 6, p. 542-547, 1993.

IJICHI, S. *et al.* In vivo cellular tropism of human T cell leukemia virus type II (HTLVII). **Journal of Experimental Medicine**, [S. l.], v. 176, n. 1, p. 293-296, 1992.

IJICHI, S.; OSAME, M. Human T lymphotropic virus type I (HTLV-I)-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP): recent perspectives. **Internal medicine**, [S. l.], v. 34, n. 8, p. 713-721, 1995.

INAN, M.; MEAGHER, M. M. Non-repressing carbon sources for alcohol oxidase (AOX1) promoter of *Pichia pastoris*. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, [S. l.], v. 92, n. 6, p. 585-589, 2001.

IRELAND, G. *et al.* Human T-lymphotropic viruses (HTLV) in England and Wales, 2004 to 2013: testing and diagnoses. **Eurosurveillance**, [S. l.], v. 22, n. 21, 2017.

ISHAK, R. *et al.* Identification of human T cell lymphotropic virus type IIa infection in the Kayapo, an indigenous population of Brazil. **AIDS Research and Human Retroviruses**, [S. l.], v. 11, n. 7, p. 813-821, 1995.

JENKINS, N.; CURLING, E. M. A. Glycosylation of recombinant proteins: problems and prospects. **Enzyme and microbial technology**, [S. l.], v. 16, n. 5, p. 354-364, 1994.

JEONG, H. *et al.* Genome sequences of *Escherichia coli* B strains REL606 and BL21 (DE3). **Journal of molecular biology**, [S. l.], v. 394, n. 4, p. 644-652, dez. 2009. DOI: 10.1016/j.jmb.2009.09.052. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022283609011917?casa_token=FzaYnav4JcgAAAAA:emZbgjn3PhzHHAGp6ZTRMFhszGPxQdUjUrrWMMVI89TVQTwGyUXS0RLREKeNAmkQN0-hU5Q70g. Acesso em: 30 jan. 2021.

JEONG, H.; KIM, H. J.; LEE, S. J. Complete genome sequence of *Escherichia coli* strain BL21. **Genome Announcements**, [S. l.], v. 3, n. 2, p. e00134-15, 19 mar. 2015. DOI: 10.1128/genomeA.00134-15. Disponível em: <https://mra.asm.org/content/3/2/e00134-15.short>. Acesso em: 30 jan. 2021.

JONES, K. S. *et al.* Molecular aspects of HTLV-1 entry: functional domains of the HTLV-1 surface subunit (SU) and their relationships to the entry receptors. **Viruses**, [S. l.], v. 3, n. 6, p. 794-810, 15 jun. 2011. DOI: 10.3390/v3060794. ISSN: 1999-4915. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1999-4915/3/6/794>. Acesso em: 23 jan. 2021.

JOSEPH, B. C. *et al.* An overview of the parameters for recombinant protein expression in *Escherichia coli*. **Journal of Cell Science & Therapy**, [S. l.], v. 6, n. 5, p. 1, 2015. DOI: 10.4172/2217-7013.1000221. Disponível em: <https://www.longdom.org/open-access/an-overview-of-the-parameters-for-recombinant-protein-expression-in-escherichia-coli-2157-7013-1000221.pdf>. Acesso em: 30 jan. 2021.

KALYANARAMAN, V. S. *et al.* A new subtype of human T-cell leukemia virus (HTLV-II) associated with a T-cell variant of hairy cell leukemia. **Science**, [S. l.], v. 218, n. 4572, p. 571-573, 1982.

KALYANARAMAN, V. S. *et al.* Immunological properties of a type C retrovirus isolated from cultured human T-lymphoma cells and comparison to other mammalian retroviruses. **Journal of virology**, [S. l.], v. 38, n. 3, p. 906-915, 1981.

KANE, J. F. Effects of rare codon clusters on high-level expression of heterologous proteins in *Escherichia coli*. **Current opinion in biotechnology**, [S. l.], v. 6, n. 5, p. 494-500, 1995. DOI: 10.1016/0958-1669(95)80082-4. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0958166995800824>. Acesso em: 31 jan. 2021.

KANE, J. F. Effects of rare codon clusters on high-level expression of heterologous proteins in *Escherichia coli*. **Current opinion in biotechnology**, [S. l.], v. 6, n. 5, p. 494-500, 1995.

KANNAGI, M. A. R. I. *et al.* Target epitope in the Tax protein of human T-cell leukemia virus type I recognized by class I major histocompatibility complex-restricted cytotoxic T cells. **Journal of virology**, [S. l.], v. 66, n. 5, p. 2928-2933, 1992.

KANNIAN, P.; GREEN, P. L. Human T lymphotropic virus type 1 (HTLV-1): molecular biology and oncogenesis. **Viruses**, [S. l.], v. 2, n. 9, p. 2037-2077, 2010. DOI: 10.3390/v2092037. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1999-4915/2/9/2037>. Acesso em 21 jan. 2021.

KIELKOPF, C. L.; BAUER, W.; URBATSCH, I. L. Expression of cloned genes in *Pichia pastoris* using the methanol-inducible promoter AOX1. **Cold Spring Harbor Protocols**, [S. l.], v. 2021, n. 1, p. pdb. prot102160, 2021. DOI: 10.1101/pdb.prot102160. Disponível em: <http://cshprotocols.cshlp.org/content/2021/1/pdb.prot102160.short>. Acesso em: 05 abr. 2021.

KIM, F. J. *et al.* Definition of an amino-terminal domain of the human T-cell leukemia virus type 1 envelope surface unit that extends the fusogenic range of an ecotropic murine leukemia virus. **Journal of Biological Chemistry**, [S. l.], v. 275, n. 31, p. 23417-23420, 2000.

KITAGAWA, T. *et al.* Antibodies to HTLV-I in Japanese immigrants in Brazil. **Jama**, [S. l.], v. 256, n. 17, p. 2342-2342, 07 nov. 1986. DOI: 10.1001/jama.1986.03380170058009. Disponível em: <https://jamanetwork.com/journals/jama/article-abstract/362851>. Acesso em 25 jan. 2021.

KUBOTA, R. *et al.* Degenerate specificity of HTLV-1-specific CD8+ T cells during viral replication in patients with HTLV-1-associated myelopathy (HAM/TSP). **Blood**, [S. l.], v. 101, n. 8, p. 3074-3081, 2003.

KUDLA, G. *et al.* Coding-sequence determinants of gene expression in *Escherichia coli*. **Science**, [S. l.], v. 324, n. 5924, p. 255-258, 2009. DOI: 10.1126/science.1170160. Disponível em: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.1170160>. Acesso em: 10 nov. 2021.

KURODA, N. *et al.* Detection of antibodies to human T-lymphotropic virus type I by using synthetic peptides. **International journal of cancer**, [S. l.], v. 45, n. 5, p. 865-868, 15 maio 1990. DOI: 10.1002/ijc.2910450514. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2185995/>. Acesso em: 24 jan. 2021.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, [S. l.], v. 227, n. 5259, p. 680, 1970.

LAIRMORE, M. D. *et al.* Isolation of human T-cell lymphotropic virus type 2 from Guaymi Indians in Panama. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [S. l.], v. 87, n. 22, p. 88408844, 1990.

LAMB, D. *et al.* Highly specific inhibition of leukaemia virus membrane fusion by interaction of peptide antagonists with a conserved region of the coiled coil of envelope. **Retrovirology**, [S. l.], v. 5, n. 1, p. 70, 2008.

LAMBERT, S. *et al.* HTLV-1 uses HSPG and neuropilin-1 for entry by molecular mimicry of VEGF165. **Blood, The Journal of the American Society of Hematology**, [S. l.], v. 113, n. 21, p. 5176-5185, 21 maio 2009. DOI: 10.1182/blood-2008-04-150342. Disponível em: <https://ashpublications.org/blood/article/113/21/5176/26347/HTLV-1-uses-HSPG-and-neuropilin-1-for-entry-by>. Acesso em: 24 jan. 2021.

LE BLANC, I. *et al.* HTLV-1 structural proteins. **Virus research**, [S. l.], v. 78, n. 1-2, p. 5-16, nov. 2001. DOI: 10.1016/S0168-1702(01)00278-7. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168170201002787>. Acesso em: 23 jan. 2021.

LEE, H. *et al.* High rate of HTLV-II infection in seropositive IV drug abusers in New Orleans. **Science**, [S. l.], v. 244, n. 4903, p. 471-475, 1989.

LEE, S. M. *et al.* HTLV-1 induced molecular mimicry in neurological disease. In: **Molecular Mimicry: Infection-Inducing Autoimmune Disease**. Springer, Berlin, Heidelberg, 2005. p. 125-136.

LEVIN, M. C. *et al.* Autoimmunity due to molecular mimicry as a cause of neurological disease. **Nature medicine**, [S. l.], v. 8, n. 5, p. 509, 2002.

LIMA, V. F. S. *et al.* Vírus Linfotrópicos de células T humanas (HTLV-1 e HTLV-2): revisão de literatura Human T-cell lymphotropic viruses (HTLV-1 and HTLV-2): literature. **Brazilian Journal of Health Review**, Curitiba, v. 4, n. 5, p. 20900-20923, set./out. 2021. DOI:10.34119/bjhrv4n5-193.

LIU, H. *et al.* Improved expression and optimization of trehalose synthase by regulation of Pglv in *Bacillus subtilis*. **Scientific reports**, [S. l.], v. 9, n. 1, p. 1-10, 2019.

LUCIGEN. **OverExpress® Chemically Competent Cells**. Middleton: Lucigen Corporation, mar. 2018. 8 p.

LUPPA, P. B. *et al.* Point-of-care testing (POCT): Current techniques and future perspectives. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, [S. l.], v. 30, n. 6, p. 887-898, 2011.

LYNGDOH, D. L. *et al.* Portrait of the intrinsically disordered side of the HTLV-1 proteome. **ACS omega**, [S. l.], v. 4, n. 6, p. 10003-10018, 2019. DOI: 10.1021/acsomega.9b01017. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/acsomega.9b01017>. Acesso em: 23 jan. 2021.

MA, Y. *et al.* Epidemiological analysis of HTLV-1 and HTLV-2 infection among different population in Central China. **PloS one**, [S. l.], v. 8, n. 6, p. e66795, 2013.

MACHUCA, A.; RODÉS, B.; SORIANO, V.. The effect of antiretroviral therapy on HTLV infection. **Virus research**, [S. l.], v. 78, n. 1-2, p. 93-100, nov. 2001. DOI:

10.1016/S0168-1702(01)00287-8. Disponível em:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168170201002878>. Acesso em:
02 fev. 2021.

MADURAWA, R. D. et al. A recombinant lipoprotein antigen against Lyme disease expressed in *E. coli*: fermentor operating strategies for improved yield. **Biotechnology progress**, [S. l.], v. 16, n. 4, p. 571-576, 2000. DOI: 10.1021/bp0000555. Disponível em:
https://aiche.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1021/bp0000555?casa_token=7ZXW7NSpB8gAAAAA%3ACO9NOLr91v8nRyvijnxTWJabY0hFTiHXZHcDjJ06qbIXO8d9rQkV0VP8jbzPLj9KLCZ8tU1jeJ4QwCbi. Acesso em: 10 ago. 2021.

MAHIEUX, R. *et al.* Molecular epidemiology of 58 new African human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) strains: identification of a new and distinct HTLV-1 molecular subtype in Central Africa and in Pygmies. **Journal of virology**, [S. l.], v. 71, n. 2, p. 1317-1333, 1997.

MAHIEUX, R.; GESSAIN, A. New human retroviruses: HTLV-3 and HTLV-4. **Medecine tropicale: revue du Corps de sante colonial**, [S. l.], v. 65, n. 6, p. 525-528, 2005.

MAHIEUX, R.; GESSAIN, A. The human HTLV-3 and HTLV-4 retroviruses: new members of the HTLV family. **Pathologie Biologie**, [S. l.], v. 57, n. 2, p. 161-166, 2009

MANEL, N. *et al.* The ubiquitous glucose transporter GLUT-1 is a receptor for HTLV. **Cell**, [S. l.], v. 115, n. 4, p. 449-459, 14 nov. 2003. DOI: 10.1016/S0092-8674(03)00881-X. Disponível em:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S009286740300881X>. Acesso em:
24 jan. 2021.

MARIETTE, X. *et al.* Antibodies to HTLV-I in Sjögren's syndrome. **The Lancet**, [S. l.], v. 345, n. 8941, p. 71-72, 1995.

MATSUOKA, M. PTCL: Lessons from adult T-cell leukemia. **International journal of hematology**, [S. l.], v. 76, n. 2, p. 116-117, 2002.

MATSUOKA, M.; JEANG, K.-T. Human T-cell leukaemia virus type 1 (HTLV-1) infectivity and cellular transformation. **Nature Reviews Cancer**, [S. l.], v. 7, n. 4, p. 270-280, abr. 2007. DOI: 10.1038/nrc2111. Disponível em:
<https://www.nature.com/articles/nrc2111?cacheBust=1508274849342>. Acesso em:
24 jan. 2021.

MATSUOKA, M; JEANG, K.-T. Human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) and leukemic transformation: viral infectivity, Tax, HBZ and therapy. **Oncogene**, [S. l.], v. 30, n. 12, p. 1379, 2011.

MAUCLERE, P. *et al.* HTLV-2B strains, similar to those found in several Amerindian tribes, are endemic in central African Bakola Pygmies. **Journal of Infectious Diseases**, [S. l.], v. 203, n. 9, p. 1316-1323, 2011.

MAZUROV, D.; HEIDECKER, G.; DERSE, D. HTLV-1 Gag protein associates with CD82 tetraspanin microdomains at the plasma membrane. **Virology**, [S. l.], v. 346, n. 1, p. 194-204, 01 mar. 2006. DOI: 10.1016/j.virol.2005.10.033. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0042682205007282>. Acesso em: 23 jan. 2021.

MCNULTY, D. E. et al. Mistranslational errors associated with the rare arginine codon CGG in Escherichia coli. **Protein expression and purification**, [S. l.], v. 27, n. 2, p. 365-374, 2003. DOI: 10.1016/S1046-5928(02)00610-1. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1046592802006101?via%3Dihub>. Acesso em: 10 nov. 2021.

MILLER, L. Profile of the MP Diagnostics HTLV Blot 2.4 test: a supplemental assay for the confirmation and differentiation of antibodies to HTLV-1 and HTLV-2. **Expert review of molecular diagnostics**, [S. l.], v. 16, n. 2, p. 135-145, 2016.

Miro. c2021. Disponível em: <https://miro.com/app/board>. Acesso em: 22 fev. 2022.

MIZUTANI, S.; TEMIN, H. M. An RNA-dependent DNA polymerase in virions of Rous sarcoma virus. In: **Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology**. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1970. p. 847-849.

MODAHL, L. E. et al. Are HTLV-II-seropositive injection drug users at increased risk of bacterial pneumonia, abscess, and lymphadenopathy?. **JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, [S. l.], v. 16, n. 3, p. 169-175, 1997. Disponível em: https://journals.lww.com/jaids/Fulltext/1997/11010/Are_HTLV_II_Seropositive_Injection_Drug_Users_at.5.aspx. Acesso em: 19 jan. 2021.

MOMANY, C. et al. Crystal structure of dimeric HIV-1 capsid protein. **Nature structural biology**, [S. l.], v. 3, n. 9, p. 763-770, 1996. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nsb0996-763>. Acesso em: 10 ago. 2021.

MORGAN, O. S. et al. HTLV-1 and polymyositis in Jamaica. **The Lancet**, [S. l.], v. 334, n. 8673, p. 1184-1187, 1989.

MORI, N. et al. Human T-cell leukemia virus type I Tax transactivates human interleukin 8 gene through acting concurrently on AP-1 and nuclear factor- κ B-like sites. **Cancer research**, [S. l.], v. 58, n. 17, p. 3993-4000, 1998.

MOSQUERA, C. et al. HTLV-1/2 virus infection confirmed by serology and provirus DNA detection in tropical spastic paraparesis Ecuadorian patients. **Infectio**, Bogotá, v. 24, n. 2, p. 57-60, abr./jun. 2020. DOI: 10.22354/in.v24i2.832. ISSN: 0123-9392. Disponível em: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-93922020000200057. Acesso em: 25 jan. 2021.

MURPHY, E. L. et al. Increased incidence of infectious diseases during prospective followup of Human T-Lymphotropic Virus Type II–and I–infected blood donors. **Archives of internal medicine**, [S. l.], v. 159, n. 13, p. 1485-1491, 12 jul. 1999. DOI: 10.1001/archinte.159.13.1485. Disponível em: <https://jamanetwork.com/journals/jamainternalmedicine/article-abstract/485082>. Acesso em: 19 jan. 2021.

MURPHY, E. L. *et al.* Respiratory and urinary tract infections, arthritis, and asthma associated with HTLV-I and HTLV-II infection. **Emerging infectious diseases**, [S. l.], v. 10, n. 1, p. 109, jan. 2004. DOI: 10.3201/eid1001.020714. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3322766/>. Acesso em: 19 jan. 2021.

MURPHY, E. L. Infection with human T-lymphotropic virus types-1 and -2 (HTLV-1 and -2): implications for blood transfusion safety. **Transfusion Clinique et Biologique**, [S. l.], v. 23, p. 13-19, 2016. DOI: 10.1016/j.tracli.2015.12.001. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26778839/>. Acesso em: 01 fev. 2021.

MURPHY, E. L. The clinical epidemiology of human T-lymphotropic virus type II (HTLVII). **JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, [S. l.], v. 13, p. S215-S219, 1996.

MURPHY, E. L.; CASSAR, O.; GESSAIN, A. Estimating the number of HTLV-2 infected persons in the world. **Retrovirology**, [S. l.], v. 12, n. 1, p. 1-1, 28 ago. 2015. DOI: 10.1186/1742-4690-12-S1-O5. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/1742-4690-12-S1-O5>. Acesso em: 01 fev. 2021.

NAGAI, M.; OSAME, M. Human T-cell lymphotropic virus type I and neurological diseases. **Journal of neurovirology**, [S. l.], v. 9, n. 2, p. 228-235, 2003.

NAKAMURA, S. *et al.* Detection of tumor necrosis factor- α -positive cells in cerebrospinal fluid of patients with HTLV-I-associated myelopathy. **Journal of neuroimmunology**, [S. l.], v. 42, n. 2, p. 127-130, 1993.

NICOLÁS, D. *et al.* Infection with human retroviruses other than HIV-1: HIV-2, HTLV-1, HTLV-2, HTLV-3 and HTLV-4. **Expert review of anti-infective therapy**, [S. l.], v. 13, n. 8, p. 947-963, 25 jul. 2015. DOI: 10.1586/14787210.2015.1056157. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1586/14787210.2015.1056157>. Acesso em: 19 jan. 2021.

NISHIOKA, K. *et al.* Chronic inflammatory arthropathy associated with HTLV-I. **The Lancet**, [S. l.], v. 333, n. 8635, p. 441, 1989.

NOVY, R. *et al.* Overcoming the codon bias of E. coli for enhanced protein expression. **InNovations**, [S. l.], v. 12, p. 1-3, jun. 2001. Disponível em: <http://wolfson.huji.ac.il/expression/rosetta.pdf>. Acesso em: 30 jan. 2021.

NUNES, D. *et al.* HTLV-1 is predominantly sexually transmitted in Salvador, the city with the highest HTLV-1 prevalence in Brazil. **PLoS One**, [S. l.], v. 12, n. 2, p. e0171303, 2017.

OLDSTONE, M. B. A. Molecular mimicry and immune-mediated diseases. **The FASEB Journal**, [S. l.], v. 12, n. 13, p. 1255-1265, 1998.

OLIVEIRA, U. D. **Desenvolvimento de antígenos recombinantes para imunodiagnóstico de HTLV-1 e 2**. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Molecular) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2019.

ONO, M. *et al.* Glycosylation effect on membrane domain (GEM) involved in cell adhesion and motility: a preliminary note on functional α 3, α 5-CD82 glycosylation complex in IdID 14 cells. **Biochemical and biophysical research communications**, [S. l.], v. 279, n. 3, p. 744-750, 29 dez. 2000. Disponível em: [sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0006291X00940300](https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0006291X00940300). Acesso em: 07 fev. 2021. DOI: 10.1006/bbrc.2000.4030.

ONO, M. *et al.* Glycosylation effect on membrane domain (GEM) involved in cell adhesion and motility: a preliminary note on functional α 3, α 5-CD82 glycosylation complex in IdID 14 cells. **Biochemical and biophysical research communications**, [S. l.], v. 279, n. 3, p. 744-750, 2000.

OROSZLAN, S. *et al.* Primary structure analysis of the major internal protein p24 of human type C T-cell leukemia virus. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [S. l.], v. 79, n. 4, p. 1291-1294, 01 fev. 1982. DOI: 10.1073/pnas.79.4.1291. Disponível em: <https://www.pnas.org/content/79/4/1291.short>. Acesso em: 23 jan. 2021.

OROSZLAN, S. *et al.* Primary structure analysis of the major internal protein p24 of human type C T-cell leukemia virus. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [S. l.], v. 79, n. 4, p. 1291-1294, 1982.

OSAME, M. *et al.* HTLV-I-associated myelopathy, a new clinical entity. **Lancet**, [S. l.], v. 1, n. 8488, p. 1031-1032, maio 1986.

OSAME, M. Pathological mechanisms of human T-cell lymphotropic virus type I associated myelopathy (HAM/TSP). **Journal of neurovirology**, [S. l.], v. 8, n. 5, p. 359-364, 2002.

PALKER, T. J. *et al.* Monoclonal antibodies against human T cell leukemia-lymphoma virus (HTLV) p24 internal core protein. Use as diagnostic probes and cellular localization of HTLV. **Journal of Experimental Medicine**, [S. l.], v. 159, n. 4, p. 1117-1131, 1984.

PEELING, R. W.; MABEY, D. Point-of-care tests for diagnosing infections in the developing world. **Clinical microbiology and infection**, [S. l.], v. 16, n. 8, p. 1062-1069, 2010.

PEREIRA, F. M. *et al.* Evidence of new endemic clusters of human T-cell leukemia virus (HTLV) infection in Bahia, Brazil. **Frontiers in microbiology**, [S. l.], v. 10, p. 1002, 14 maio 2019. DOI: 10.3389/fmicb.2019.01002. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2019.01002/full>. Acesso em: 01 fev. 2021.

PERRE, P.; CARTOUX, M. Retroviral Transmission and Breast-feeding. **Clinical Microbiology and Infection**, [S. l.], v. 1, n. 1, p. 6-12, 1995.

PHAM, D. *et al.* Seroprevalence of HTLV-1/2 Among Voluntary Blood Donors in Vietnam. **AIDS research and human retroviruses**, [S. l.], v. 35, n. 4, p. 376-381, 2019.

PIÑÓN, J. D. *et al.* Human T-cell leukemia virus type 1 envelope glycoprotein gp46 interacts with cell surface heparan sulfate proteoglycans. **Journal of virology**, [S. l.], v. 77, n. 18, p. 9922-9930, set. 2003. DOI: 10.1128/JVI.77.18.9922-9930.2003. Disponível em: <https://jvi.asm.org/content/jvi/77/18/9922.full.pdf>. Acesso em: 24 jan. 2021.

PIQUE, C. *et al.* Human T-cell leukemia virus type I envelope protein maturation process: requirements for syncytium formation. **Journal of virology**, [S. l.], v. 66, n. 2, p. 906-913, fev. 1992. DOI: 10.1128/JVI.66.2.906-913.1992. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1530980/>. Acesso em: 23 jan. 2021.

PIQUE, C. *et al.* Human T-cell leukemia virus type I envelope protein maturation process: requirements for syncytium formation. **Journal of virology**, [S. l.], v. 66, n. 2, p. 906-913, 1992.

PIQUE, C.; TURSZ, T.; DOKHELAR, M. Mutations introduced along the HTLV-I envelope gene result in a non-functional protein: a basis for envelope conservation?. **The EMBO Journal**, [S. l.], v. 9, n. 13, p. 4243-4248, 1990.

POIESZ, B. J. *et al.* Comparative performances of an HTLV-I/II EIA and other serologic and PCR assays on samples from persons at risk for HTLV-II infection. **Transfusion**, [S. l.], v. 40, n. 8, p. 924-930, 2000.

POIESZ, B. J. *et al.* Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous T-cell lymphoma. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [S. l.], v. 77, n. 12, p. 7415-7419, 1980.

POPOVIC, M. *et al.* The virus of Japanese adult T-cell leukaemia is a member of the human T-cell leukaemia virus group. **Nature**, [S. l.], v. 300, n. 5887, p. 63, 1982.

PORTAL BRASIL. **SUS passa a ter dois exames para detectar vírus HTLV-1**, 2016. Disponível em: <http://www.brasil.gov.br/saude/2016/07/sus-passa-a-ter-dois-exames-paradetectar-virus-htlv-1>. Acesso em 05 de fev. 2018.

PROIETTI, F. A. *et al.* Global epidemiology of HTLV-I infection and associated diseases. **Oncogene**, [S. l.], v. 24, n. 39, p. 6058, 2005.

PROIETTI, F. A. Seroprevalence correlates of human T-cell leukaemia/lymphoma virus type II, human T-cell leukaemia/lymphoma virus type II/human immunodeficiency virus type 1 serostatus and clinical manifestations of human T-cell leukaemia/lymphoma virus type II infection among intravenous drug users in Baltimore, Maryland. **Baltimore: Johns Hopkins School of Hygiene and Public Health**, 1992.

RHO, H. M. *et al.* Characterization of the reverse transcriptase from a new retrovirus (HTLV) produced by a human cutaneous T-cell lymphoma cell line. **Virology**, [S. l.], v. 112, n. 1, p. 355-360, 1981.

RIBAS, J. G. R.; MELO, G. C. N. Human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1)-associated myelopathy. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [S. l.], v. 35, n. 4, p. 377-384, 2002.

RICHARDSON, J. H. *et al.* In vivo cellular tropism of human T-cell leukemia virus type 1. **Journal of virology**, [S. l.], v. 64, n. 11, p. 5682-5687, 1990.

RODRIGUES, A. S. *et al.* Standardization of indirect Elisa and Western Blot for diagnosis of caprine arthritis-encephalitis. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, [S. l.], v. 66, n. 2, p. 417-424, 2014.

ROLON, R. M. M.; YAO, J. D. C. Laboratory Diagnosis of HTLV-1-Associated Myelopathy. **Clinical Microbiology Newsletter**, [S. l.], v. 42, n. 16, p. 129-134, 15 ago. 2020. DOI: 10.1016/j.clinmicnews.2020.07.004. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0196439920300532>. Acesso em: 09 fev. 2022.

ROMAN, G. C.; ROMAN, L. N. Tropical spastic paraparesis. A clinical study of 50 patients from Tumaco (Colombia) and review of the worldwide features of the syndrome. **J Neurol Sci**, [S. l.], v. 87, n. 1, p. 121-38, 1988

ROSADAS, C. *et al.* Blocking HTLV-1/2 silent transmission in Brazil: Current public health policies and proposal for additional strategies. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, [S. l.], v. 15, n. 9, p. e0009717, 23 set. 2021. DOI: 10.1371/journal.pntd.0009717. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0009717>. Acesso em: 07 fev. 2022.

ROSANO, G. L.; CECCARELLI, E. A. Rare codon content affects the solubility of recombinant proteins in a codon bias-adjusted Escherichia coli strain. **Microbial cell factories**, [S. l.], v. 8, n. 1, p. 1-9, 2009. DOI: 10.1186/1475-2859-8-41. Disponível em: <https://microbialcellfactories.biomedcentral.com/articles/10.1186/1475-2859-8-41>. Acesso em: 10 nov. 2021.

ROSANO, G. L.; CECCARELLI, E. A. Recombinant protein expression in Escherichia coli: advances and challenges. **Frontiers in microbiology**, [S. l.], v. 5, p. 172, 17 abr. 2014. DOI: 10.3389/fmicb.2014.00172. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2014.00172/full>. Acesso em: 30 jan. 2021.

ROSANO, G. L.; MORALES, E. S.; CECCARELLI, E. A. New tools for recombinant protein production in Escherichia coli: A 5-year update. **Protein science**, [S. l.], v. 28, n. 8, p. 1412-1422, 20 jun. 2019. DOI: 10.1002/pro.3668. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/pro.3668>. Acesso em: 21 ago. 2022.

ROSENBERG, A. R. *et al.* Analysis of functional conservation in the surface and transmembrane glycoprotein subunits of human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) and HTLV-2. **Journal of virology**, [S. l.], v. 72, n. 9, p. 7609-7614, 1998.

ROSENBLATT, J. D. *et al.* A second isolate of HTLV-II associated with atypical hairy-cell leukemia. **New England Journal of Medicine**, [S. l.], v. 315, n. 6, p. 372-377, 1986.

ROUCOUX, D. F.; MURPHY, Edward L. The epidemiology and disease outcomes of human T-lymphotropic virus type II. **AIDS Rev**, [S. l.], v. 6, n. 3, p. 144-54, 2004.

- RUSSO-CARBOLANTE, E. M. S. *et al.* Cloning and expression of the transmembrane glycoprotein from human T cell lymphotropic virus in a prokaryotic system. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [S. l.], v. 40, n. 3, p. 277-281, 2007.
- SAIKI, R. K. *et al.* Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. **Science**, [S. l.], v. 239, n. 4839, p. 487-491, 1988.
- SALEHI, M. *et al.* Seroepidemiology of HTLV-1 and HTLV-2 infection in Neyshabur city, North-Eastern Iran, during 2010-2014. **Iranian biomedical journal**, [S. l.], v. 21, n. 1, p. 57, 2017. DOI: 10.6091/21.1.57. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5141255/>. Acesso em: 01 fev. 2021.
- SALEMI, M. *et al.* The origin and evolution of human T-cell lymphotropic virus type II (HTLVII) and the relationship with its replication strategy. **Gene**, [S. l.], v. 234, n. 1, p. 11-21, 1999.
- SAMBROOK, J. *et al.* **Molecular cloning: a laboratory manual**. Cold spring harbor laboratory press, 1989.
- SANTOS, F. L. N.; LIMA, F. W. M. Epidemiologia, fisiopatogenia e diagnóstico laboratorial da infecção pelo HTLV-I. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, n. 41, n. 2, p. 105-116, abr. 2005. DOI: 10.1590/S1676-24442005000200008. ISSN: 1678-4774. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/jbpml/v41n2/a08v41n2.pdf>. Acesso em: 24 jan. 2021.
- SANTOS, S. B.; MUNIZ, A. L.; CARVALHO, E. M. Imunopatogênese da Mielopatia Associada ao HTLV-I. **Gazeta Médica da Bahia**, [S. l.], v. 79, n. 1, p. 11-17, jan./dez. 2009. Disponível em: <http://www.gmbahia.ufba.br/index.php/gmbahia/article/viewFile/1054/1023>. Acesso em: 01 fev. 2021.
- SARASWATHY, N.; RAMALINGAM, P. **Concepts and Techniques in Genomics and Proteomics**. Cambridge: Woodhead, n. 5, 2011.
- SCHMIDT, F. R. Recombinant expression systems in the pharmaceutical industry. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 65, n. 4, p. 363-372, 2004.
- SCORER, C. A. *et al.* The intracellular production and secretion of HIV-1 envelope protein in the methylotrophic yeast *Pichia pastoris*. **Gene**, [S. l.], v. 136, n. 1, p. 111-119, 1993.
- SEIKI, M. *et al.* Human adult T-cell leukemia virus: complete nucleotide sequence of the provirus genome integrated in leukemia cell DNA. **Proceedings of the national academy of sciences**, [S. l.], v. 80, n. 12, p. 3618-3622, 1983.
- SEIKI, M. *et al.* Nonspecific integration of the HTLV provirus genome into adult T-cell leukaemia cells. **Nature**, [S. l.], v. 309, n. 5969, p. 640, 1984.
- SHARP, P. M.; HAHN, B. H. Origins of HIV and the AIDS pandemic. **Cold Spring Harbor perspectives in medicine**, [S. l.], v. 1, n. 1, p. a006841, 2011.

- SHIDA, H. et al. Effect of the recombinant vaccinia viruses that express HTLV-I envelope gene on HTLV-I infection. **The EMBO Journal**, [S. l.], v. 6, n. 11, p. 3379-3384, nov. 1987. DOI: 10.1002/j.1460-2075.1987.tb02660.x. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2828027/>. Acesso em: 24 jan. 2021.
- SILVA, A. F. et al. Prevalence and molecular characterization of human T cell leukemia virus type 2 in a group of intravenous drug users coinfecting with HIV type 1 in Portugal. **AIDS Research & Human Retroviruses**, [S. l.], v. 21, n. 4, p. 249-255, 2005. DOI: 10.1089/aid.2005.21.249. Disponível em: <https://www.liebertpub.com/doi/pdf/10.1089/aid.2005.21.249>. Acesso em: 01 fev. 2021.
- SILVA, I. S. P. et al. **Epidemiologia molecular do Vírus linfotrófico de células T humanas-HTLV 1/2 no Estado do Amapá-Brasil**. [S. l.], 2006.
- SIMON, F. et al. Cellular and plasma viral load in patients infected with HIV-2. **AIDS (London, England)**, v. 7, n. 11, p. 1411-1417, 1993.
- SMITH K. J.; WAGNER K.F.; YEAGER J., et al. Staphylococcus aureus carriage and HIV-1 disease: association with increased mucocutaneous infection as well as deep soft-tissue infections and sepsis. **Arch Dermatol**, [S. l.], v. 130, p. 521-522, 1994.
- SOARES, J. L. M. F. et al. **Métodos diagnósticos: consulta rápida**. Artmed Editora, 2009.
- SODROSKI, J. et al. Trans-acting transcriptional regulation of human T-cell leukemia virus type III long terminal repeat. **Science**, [S. l.], v. 227, n. 4683, p. 171-173, 1985.
- SPANJAARD, R. A.; VAN DUIN, J. Translation of the sequence AGG-AGG yields 50% ribosomal frameshift. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [S. l.], v. 85, n. 21, p. 7967-7971, 01 nov. 1988. DOI: 10.1073/pnas.85.21.7967. Disponível em: <https://www.pnas.org/content/85/21/7967.short>. Acesso em: 31 jan. 2021.
- SREEKRISHNA, K. et al. Strategies for optimal synthesis and secretion of heterologous proteins in the methylotrophic yeast *Pichia pastoris*. **Gene**, [S. l.], v. 190, n. 1, p. 55-62, 1997.
- STANCIOLI, E. F. B. et al. "Proteína Recombinante Quimérica, Método e Kit Para Diagnóstico da Infecção Causada por Htlv-1 e/ou Htlv-2, e Usos". BR 10 2018 012370 0. Depositante: Universidade Federal de Minas Gerais. Depósito: 18 jun. 2018.
- STEVENS, C. D.; MILLER, L. E. **Clinical Immunology and Serology: A Laboratory Perspective**. [S. l.], FA Davis, 2016.
- STUDIER, F. W.; MOFFATT, B. A. Use of bacteriophage T7 RNA polymerase to direct selective high-level expression of cloned genes. **Journal of molecular biology**, [S. l.], v. 189, n. 1, p. 113-130, 05 maio 1986. DOI: 10.1016/0022-2836(86)90385-2. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0022283686903852>. Acesso em: 30 jan. 2021.

SWARTZ, J. R. Advances in Escherichia coli production of therapeutic proteins. **Current opinion in biotechnology**, [S. l.], v. 12, n. 2, p. 195-201, 2001.

SWITZER, W. M. *et al.* Phylogenetic relationship and geographic distribution of multiple human T-cell lymphotropic virus type II subtypes. **Journal of virology**, [S. l.], v. 69, n. 2, p. 621-632, 1995.

TANG, X. *et al.* The optimization of preparations of competent cells for transformation of E. coli. **Nucleic acids research**, [S. l.], v. 22, n. 14, p. 2857, 1994. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC308259/pdf/nar00038-0149.pdf>. Acesso em: 10 ago. 2021.

TEGEL, H. *et al.* Increased levels of recombinant human proteins with the Escherichia coli strain Rosetta (DE3). **Protein expression and purification**, [S. l.], v. 69, n. 2, p. 159-167, fev. 2010. DOI: 10.1016/j.pep.2009.08.017. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1046592809002150?casa_token=AVqD6UwyqHcAAAAA:nlCNhoSjSjF2chhGy4E7UnMOXMhPKOs1qarnGncicB5wM9dixpjuw0VZdlRfJwl1QRPphuf2w#bib14. Acesso em: 31 jan. 2021.

THORSTENSSON, R.; ALBERT, J.; ANDERSSON, S. Strategies for diagnosis of HTLV-I and-II. **Transfusion**, [S. l.], v. 42, n. 6, p. 780-791, 2002.

TIAN, Y.; ZHANG, H. Glycoproteomics and clinical applications. **Proteomics – Clinical Applications**, [S. l.], v. 4, n. 2, p. 124-132, 05 fev. 2010. DOI: 10.1002/prca.200900161. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/prca.200900161>. Acesso em: 06 fev. 2021.

TOEDTER, G. *et al.* Development of a monoclonal antibody-based p24 capsid antigen detection assay for HTLV-I, HTLV-II, and STLV-I infection. **AIDS research and human retroviruses**, [S. l.], v. 8, n. 4, p. 527-532, 1992. DOI: 10.1089/aid.1992.8.527. Disponível em: <https://www.liebertpub.com/doi/pdf/10.1089/aid.1992.8.527>. Acesso em: 23 jan. 2021.

TORO, C. *et al.* Molecular epidemiology of HTLV-2 infection among intravenous drug users in Spain. **Journal of clinical virology**, [S. l.], v. 33, n. 1, p. 65-70, 2005.

TORRES, F. A. G.; MORAES, L. M. P. Proteínas recombinantes produzidas em leveduras. **Biotechnol Cien Desenv**, [S. l.], v. 12, p. 20-22, 2000.

TOSTE, F. P. *et al.* A **Contribuição da Nutrição nos casos de Paraparesia Espástica Tropical por HTLV-I**. 2007.

TRACHTENBERG, A. I.; GAUDINO, J. A.; HANSON, Carl V. Human T-cell lymphotropic virus in California's injection drug users. **Journal of psychoactive drugs**, [S. l.], v. 23, n. 2, p. 225-232, 1991.

TREVIÑO, A. *et al.* Trends in the prevalence and distribution of HTLV-1 and HTLV-2 infections in Spain. **Virology journal**, [S. l.], v. 9, n. 1, p. 1-5, 23 mar. 2012. Disponível em: <https://virologyj.biomedcentral.com/articles/10.1186/1743-422X-9-71>. Acesso em: 01 fev. 2021.

UCHIYAMA, T. *et al.* Adult T-cell leukemia: clinical and hematologic features of 16 cases. **Blood**, [S. l.], v. 50, n. 3, p. 481-492, 1977.

UMEHARA, F. *et al.* Cytokine expression in the spinal cord lesions in HTLV-I-associated myelopathy. **Journal of Neuropathology & Experimental Neurology**, [S. l.], v. 53, n. 1, p. 72-77, 1994.

UNITED STATES. Public Health Service. Office of The Surgeon General. **Surgeon General's Report on Acquired Immune Deficiency Syndrome**. US Dept. of Health and Human Services, 1986.

VERMEULEN, M. *et al.* The prevalence of human T-lymphotropic virus type 1 & 2 (HTLV-1/2) in South African blood donors. **Vox Sanguinis**, [S. l.], 2019.

VRIELINK, H.; REESINK, H. W. HTLV-I/II prevalence in different geographic locations. **Transfusion medicine reviews**, [S. l.], v. 18, n. 1, p. 46-57, 2004.

WALLIN, M.; EKSTRÖM, M.; GAROFF, H. Isomerization of the intersubunit disulphide-bond in Env controls retrovirus fusion. **The EMBO journal**, [S. l.], v. 23, n. 1, p. 54-65, 14 jan. 2004. DOI: 10.1038/sj.emboj.7600012. Disponível em: <https://www.embopress.org/doi/full/10.1038/sj.emboj.7600012>. Acesso em: 03 fev. 2021.

WATANABE, T.; SEIKI, M.; YOSHIDA, M. HTLV. HTLV type I (US isolate) and ATL (Japanese isolate) are the same species of human retrovirus. **Virology**, [S. l.], v. 133, n. 1, p. 238-241, 1984.

WATANABE, T.; SEIKI, M.; YOSHIDA, M. Retrovirus terminology. **Science**, [S. l.], v. 222, n. 4629, p. 1178-1178, 1983.

WILLEMS, L. *et al.* Reducing the global burden of HTLV-1 infection: an agenda for research and action. **Antiviral research**, [S. l.], v. 137, p. 41-48, jan. 2017. DOI: 10.1016/j.antiviral.2016.10.015. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166354216306258?casa_token=1mVwKH6a844AAAAA:Gy_7UfCnXQuCkapa5_20rQlxnTOV1XBThG7jxbOlrTtG58YSdFADEDEaQT71ACJR7DEtvL1_xQ. Acesso em: 01 fev. 2021.

WILLIAMS, C. K. O. Global HTLV-1/2 Burden and Associated Diseases. In: **Cancer and AIDS**. Springer, Cham, 2019. p. 21-57.

WONG, C. Protein glycosylation: new challenges and opportunities. **The Journal of Organic Chemistry**, [S. l.], v. 70, n. 11, p. 4219-4225, 27 maio 2005. DOI: 10.1021/jo050278f. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15903293/>. Acesso em: 06 fev. 2021.

WOOTTON, S. K.; HALBERT, Christine L.; MILLER, A. Dusty. Sheep retrovirus structural protein induces lung tumours. **Nature**, [S. l.], v. 434, n. 7035, p. 904, 2005.

WORLD HEALTH ORGANIZATION *et al.* HIV assays. Laboratory performance and other operational characteristics. Rapid diagnostic tests. **Report 18**. Geneva, Switzerland; 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION *et al.* HIV assays: Operational characteristics (Phase 1). Report 15, Antige. 2004. World Health Organization. AIDS: proposed WHO criteria for interpreting western blot assays for HIV-1, HIV-2, and HTLV-I/HTLV-II. **Bulletin of the World Health Organization**, [S. l.], v. 69, n. 1, p. 127-9, 131-3, jan. 1991

YOSHIDA, M.; MIYOSHI, I.; HINUMA, Y. Isolation and characterization of retrovirus from cell lines of human adult T-cell leukemia and its implication in the disease. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [S. l.], v. 79, n. 6, p. 2031-2035, 1982.

ZANINOVIC, V.; ZAMORA, T.; TAJIMA, K. Origins of T-cell leukaemia virus. **Nature**, [S. l.], v. 344, n. 6264, p. 299, 1990.

ZELLA, D. *et al.* HTLV-II infection in Italian drug abusers. **The Lancet**, [S. l.], v. 336, n. 8714, p. 575-576, 1990.

ZEPEDA, A. B. *et al.* Biomarkers to evaluate the effects of temperature and methanol on recombinant *Pichia pastoris*. **Brazilian Journal of Microbiology**, [S. l.], v. 45, n. 2, p. 475-483, 2014.

ZHENG, Z. Viral oncogenes, noncoding RNAs, and RNA splicing in human tumor viruses. **International journal of biological sciences**, [S. l.], v. 6, n. 7, p. 730, 2010.

ZIHLMANN, K. F.; MAZZAIA, M. C.; ALVARENGA, A. T. Você já ouviu falar no vírus HTLV? **Escola Paulista de Medicina**, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 09 nov. 2020. Disponível em: <https://sp.unifesp.br/epm/ultimas-noticias/voce-ja-ouviu-falar-no-virus-htlv>. Acesso em: 20 ago. 2022.

