UNIVERSIDADE SANTO AMARO - UNISA

Programa de Doutorado em Odontologia

Richardson Mondego Boaventura

Doença de Heck e Herpesvírus em Populações Indígenas Yanomami

São Paulo

2022

Richardson Mondego Boaventura

Doença de Heck e Herpesvírus em Populações Indígenas Yanomami

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu da Universidade Santo Amaro – UNISA, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Odontologia com ênfase em Implantodontia.
Orientadora: Profa. Dra. Debora Pallos

São Paulo

2022

B636d Boaventura, Richardson Mondego.

Doença de Heck e herpesvírus em populações indígenas yanomami / Richardson Mondego Boaventura. — São Paulo, 2022.

65 p.: il., color.

Tese (Doutorado em Odontologia) — Universidade Santo Amaro, 2022.

Orientadora: Prof.ª Me. Dr.ª Débora Pallos.

1. Odontologia. 2. Hiperplasia epitelial focal. 3. Herpesvírus humano. I. Pallos, Débora, orient. II. Universidade Santo Amaro. III. Título.

Ficha elaborada por Fernando Carvalho — CRB8/10122

Richardson Mondego Boaventura

DOENÇA DE HECK E HERPESVÍRUS EM POPULAÇÕES INDÍGENAS YANOMAMI

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu da Universidade Santo Amaro – UNISA, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Odontologia com ênfase em Implantodontia.
Orientadora: Profa. Dra. Debora Pallos

São Paulo, 08 de agosto de 2022.

Banca Examinadora

_____

Profa. Dra. Debora Pallos

_____

Prof. Dr. Caio Vinicius G. Roman Torres

_____

Profa. Dra. Yeon Jung Kim

_____

Prof. Dr. Paulo Henrique Braz-Silva

_____

Profa. Dra. Michelle Palmieri

Conceito Final:_____

Dedico esse trabalho a minha esposa Danubia que compreendeu e apoiou minha ausência em diversos períodos focando em um crescimento gigantesco.

Dedico também as minhas filhas, Brenda e Isabela, por serem jovens compreensivas e maravilhosas sempre em alerta para um mundo melhor.

Dedico aos meus pais, Josué e Florinda, padrasto Campelo, madrasta Conceição por sempre me incentivarem a lutar pelo estudo com alegria e dedicação.

Dedico postumamente a minha vó Luiza, um dos meus anjos terrenos,

sua luta pela minha educação foi grande, graças a você vozinha,

estou hoje aqui.

Dedico aos professores que, com paciência nos ensinaram o caminho da informação científica.

A todos vocês meu muito obrigado.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos indígenas Yanomami que concordaram em participar desse trabalho, pois sem vocês nada teria acontecido.

Agradeço a minha orientadora Prof. Dra. Debora Pallos que desde o Mestrado me beneficia com seu conhecimento essencial para o bom desenvolvimento do trabalho.

Agradeço ao Prof. Dr. Caio Vinicius Roman-Torres pela ajuda e incentivo desde o Mestrado que facilitaram muito essa jornada.

Agradeço ao Prof. Dr. Paulo Henrique Braz-Silva pelo vasto conhecimento cedido para o desenvolvimento desse trabalho.

Agradeço ao meu amigo Sergio Takashi Kussaba, meu irmão e incentivador durante o Mestrado e Doutorado.

Agradeço ao Ms. Rodrigo Melim Zerbinati, pela grande ajuda na parte laboratorial do projeto, sem seu conhecimento seria muito difícil.

Agradeço ao Prof. Dr. Wilson Roberto Sendyk por ser um grande expansor de intelectos nesse Brasil, essencial para a visão desse trabalho.

Agradeço a equipe de Professores do Doutorado da UNISA que ajudaram a me lapidar, pois como uma joia bruta, precisava ser orientado e libertado de amarras. Ainda longe de ser a joia, mas estou no caminho.

Agradeço também aos meus colegas doutorandos, dos quais assimilei muitas informações importantes para minha vida profissional durante conversas informais e que se tornaram amigos nessa caminhada.

Agradeço a Universidade Santo Amaro (UNISA) por todo o processo e por permitir que tudo isso acontecesse.

Agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho.

Os brancos dormem muito,
mas só conseguem sonhar
com eles mesmos.

Davi Kopenaua.
Liderança Indígena Yanomami

RESUMO

As viroses que causam papilomatoses orais e herpesviroses afetam a mucosa oral de crianças e adultos de diversas regiões do mundo e em diferentes grupos étnicos como indígenas e esquimós. Há diversas papilomatoses e herpesviroses que provocam alterações nos indivíduos dentre elas a hiperplasia focal epitelial (HEF) e o Epstein-Barr vírus (EBV). A HEF é uma proliferação induzida por papilomavírus, localizada no epitélio escamoso oral. Os locais mais propensos ao desenvolvimento dessa lesão são as superfícies queratinizadas e não queratinizadas da cavidade oral. O EBV é um vírus que atinge mais de 90% da população mundial e a principal manifestação é a mononucleose infecciosa, doença que se dissemina através da saliva e muito prevalente entre adolescentes. O objetivo deste estudo foi detectar a presença de herpesvírus em indígenas Yanomamis com e sem lesão de HEF e comparar com em não indígenas presentes na literatura. Foram coletadas o total de 81 amostras de saliva dos indígenas (indivíduos que apresentavam a lesão bucal de HEF, assim como do seu núcleo familiar). Essas amostras foram congeladas para posterior análise. O DNA foi extraído da amostra e posteriormente foi analisado por meio do PCR e corrida em gel de agarose 2% para identificar os vírus HSV1, HSV2, VZV, EBV, CMV, HHV6, HHV7 e o HHV8 nas amostras. Comparou-se os indivíduos com e os indivíduos sem lesão de HEF com relação ao gênero, faixa etária, prevalência dos vírus. Verificamos que nenhuma amostra foi positiva para o HSV-2 e VZV; para o HSV-1 oito (9,9%) indivíduos foram positivos; para o EBV vinte e oito (34,6%) testaram positivo; sete (8,6%) para o CMV; sete (8,6%) para o HHV-6; cinco (6,2%) para o HHV-7 e nove (11,1%) para o HHV8. Na análise dos indivíduos portadores de HEF e a frequência do HSV-1 foi encontrada uma relação significativa ($p < 0,001$); e para o HHV-6 onde nenhum paciente com lesão apresentou o vírus ($p = 0,022$). Pode-se concluir que houve forte correlação entre pacientes com HEF e o HSV-1; a prevalência de HHV-8 mostrou-se diversa da que foi relatada na literatura em indígena e as demais herpesviroses teve prevalência semelhante a relatada na literatura em não indígenas.

Palavras-chaves: Hiperplasia epitelial focal. Papilomavírus Humano. Herpesvírus Humano. Reação em cadeia da polimerase. Doença de Heck.

ABSTRACT

The viruses that cause oral papillomatosis and herpesviruses affect the oral mucosa of children and adults in different regions of the world and in different ethnic groups such as indigenous and Eskimos. There are several papillomatosis and herpesviruses that cause changes in individuals, including focal epithelial hyperplasia (FEH) and Epstein-Barr virus (EBV). FHE is a papillomavirus-induced proliferation located in the oral squamous epithelium. The sites most prone to the development of this lesion are the keratinized and non-keratinized surfaces of the oral cavity. EBV is a virus that affects more than 90% of the world population and the main manifestation is infectious mononucleosis, a disease that spreads through saliva and is very prevalent among adolescents. The aim of this study was to detect the presence of herpesvirus in Yanomami indigenous people with and without HEF lesions and compare it with non-indigenous people present in the literature. A total of 81 saliva samples were collected from the indigenous people (individuals who had the oral lesion of HEF, as well as from their family nucleus). These samples were frozen for later analysis. DNA was extracted from the sample and later analyzed by PCR and run on 2% agarose gel to identify HSV1, HSV2, VZV, EBV, CMV, HHV6, HHV7 and HHV8 viruses in the samples. Individuals with and without HEF lesions were compared in terms of gender, age group, and virus prevalence. We found that no samples were positive for HSV-2 and VZV; for HSV-1, eight (9.9%) individuals were positive; for EBV, twenty-eight (34.6%) tested positive; seven (8.6%) for CMV; seven (8.6%) for HHV-6; five (6.2%) for HHV-7 and nine (11.1%) for HHV8. In the analysis of individuals with FSH and the frequency of HSV-1, a significant relationship was found ($p < 0.001$); and for HHV-6 where no patient with lesion had the virus ($p = 0.022$). It can be concluded that there was a strong correlation between patients with FHE and HSV-1; the prevalence of HHV-8 was different from what was reported in the literature in indigenous people and the other herpesviruses had a similar prevalence to that reported in the literature in non-indigenous people.

Keywords: Focal epithelial hyperplasia. Human Papillomavirus. Herpesvírus Human. Polymerase chain reaction. Heck's disease.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....10
2. REVISÃO DA LITERATURA.....13
2.1. POPULAÇÃO ESTUDADA.....13
2.2. EPIDEMIOLOGIA.....13
2.3. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS.....16
2.4. CARACTERÍSTICAS HISTOPATOLOGICAS.....19
2.5. FATORES ETIOLÓGICOS, GENOMA E INFECÇÃO EM HUMANOS DO HPV E DO HHV.....20
2.6. DIAGNÓSTICO, PROGNÓSTICO E TRATAMENTO.....25
3. PROPOSIÇÃO.....28
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....29
4.1. SELEÇÃO DOS PARTICIPANTES.....29
4.2. EXAME CLÍNICO PARA DIAGNÓSTICO DA HEF.....30
4.3. METODOLOGIA PARA COLETA DE SALIVA.....31
4.4. PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS.....32
4.4.1. EXTRAÇÃO DE DNA DA SALIVA 32
4.4.2. REAÇÃO EM CADEIA POLIMERASE (PCR) DOS HERPESVIRUS.....32
4.5. **METODOLOGIA DE ANÁLISE DE DADOS.....34**
5. RESULTADOS.....36
5.1. PERFIL DA AMOSTRA.....36
5.2. PRESENÇA DOS HERPESVÍRUS NA AMOSTRA.....37
5.3. QUANTIFICAÇÃO DA LESÃO E DOS HERPESVÍRUS DE ACORDO COM AS FAIXAS ETÁRIAS.....39
5.4. RELAÇÃO DA LESÃO COM OS HERPESVIRUS.....40
6. DISCUSSÃO.....44
7. CONCLUSÃO.....49
REFERÊNCIAS ……..50
ANEXO 1 – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA
ANEXO 2 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
ANEXO 3 – TABELA 3 – INDIVIDUOS COM E SEM LESAO E SEUS NUCLEOS FAMILIARES

1. INTRODUÇÃO

A vulnerabilidade humana às doenças virais tornou-se evidente durante as pandemias e o posicionamento frente aos males causados por esses microrganismos mostra-se essencial (1–3). Conhecer profundamente como acontece essa relação de hospedeiro e invasor nas mais diversas populações tornou-se crucial principalmente para as mais isoladas e vulneráveis como a população indígena (4).

Vírus utilizam o homem como hospedeiro desde os primórdios da humanidade. Os vírus tanto podem fazer parte da microbiota humana normal, sendo muitas vezes benéfico, quanto podem causar alterações anatômicas e funcionais e trazer muitos danos, sequelas e mortes. A cavidade oral é, frequentemente, o primeiro local onde os vírus interagem principalmente com o epitélio oral, sendo este o maior local de entrada, replicação e propagação para varias células do corpo (3,5).

Entre os vírus que utilizam o homem em sua infecção primária estão os que causam as papilomatoses e os que causam as lesões herpéticas que são chamados de papiloma vírus humano (HPV) e herpesvírus humano (HHV); eles provocam alterações em diversas células dos mais variados locais do corpo, como linfócitos B, linfócitos T, neurônios e células epiteliais na pele e mucosas invadindo regiões com micro lesões, lesões traumáticas, disseminando-se através dos fluidos corporais, principalmente pelo sangue e pela saliva (5–9).

As alterações causadas pelo HPV podem ser benignas ou em alguns casos apresentar malignização (8,10). As formas benignas mais conhecidas de HPV são o papiloma escamoso, a verruga vulgar, o condiloma acuminato e a hiperplasia focal epitelial (HEF) também denominada de doença de Heck (6, 11–16).

Os herpevírus (HHV) são vírus de DNA pertencentes a família Herpesviridae e são capazes de infectar células humanas, provocar disseminação de doenças e é um problema de saúde pública global (17). Os seres humanos são hospedeiros primários de alguns herpevírus já conhecidos, dentre eles, os vírus do herpes simples 1 (HSV-1 ou HHV-1); os vírus do herpes simples 2 (HSV-2 ou HHV-2); os varicela-zoster vírus (VZV ou HHV-3); os Epstein-Barr Vírus (EBV ou HHV-4); os citomegalovírus (CMV ou HHV-5); os herpes vírus humano 6 (HHV-6); os herpes vírus humano 7 (HHV-7) e os herpes vírus associados ao sarcoma de Kaposi (KSHV ou HHV-8) (5).

Populações indígenas tem sido tão afetadas por esses vírus quanto populações não indígenas. Algumas diferenças podem ser estabelecidas em relação a alguns desses vírus para essas duas populações. O vírus HPV que causa a lesão de HEF, q é um vírus raro em não indígenas, mas bastante comum nos indígenas (10,13,18-20). O HHV-8 tem uma predominância muito maior em populações indígenas (21). O EBV com doenças associadas a células T/NK, que ocorrem com maior frequência em asiáticos e populações indígenas da América Central, América do Sul e México (22).

Diante de comportamentos tão diversos para alguns vírus, verificou-se a necessidade de se estudar esses vírus em diferentes populações, fazendo-se comparações do seu ciclo vital tanto em populações isoladas, como as indígenas, quanto em populações não isoladas, quanto as não indígenas, para se obter respostas com relação a história natural dessas doenças e a quebra do ciclo de contaminação em todas as populações, investigando-se o porquê de sua expressão ser maior em umas populações do que em outras (23,24).

A HEF é a forma clínica de lesão provocada por HPV que afeta mais populações indígenas do que populações não indígenas, é uma doença considerada benigna, por isso talvez, não receba a devida atenção ou financiamento, portanto é pouco estudada e nenhum estudo longitudinal foi realizado para descartar a possibilidade de malignização (25).

Dentre as herpesvíruses que acometem fortemente populações indígenas, destacam-se os herpesvírus associados ao sarcoma de Kaposi (KSHV ou HHV-8), considerado agente etiológico de todas as formas de sarcoma de Kaposi, com alta prevalência em populações indígenas(21,26), e os EBV que possui alta prevalência na população mundial (27), é um vírus que pode imortalizar as células que afeta e com isso causar malignização, com consequências sérias para a saúde dessas populações (28).

Após investigação das condições periodontais em indivíduos da etnia indígena Yanomami, durante um estudo de pesquisa do mestrado, desenvolvido pelo autor desta tese, verificou-se diversos casos de lesões com características clínicas da HEF em populações yanomami, o que também foi confirmado por meio de relatos dos profissionais da saúde que prestam assistência a esses povos através do Distrito

Sanitário Especial Indígena Yanomami (DSEI-Y). Verificou-se que a presença dessas lesões com características clínicas da HEF (29,30) causavam algum transtorno principalmente em crianças. Resolveu-se através deste estudo, investigar as lesões presentes, bem como a presença de outros vírus que poderiam estar presentes nestes indivíduos, para verificar possíveis relações entre eles e suas manifestações, em uma sociedade que possui um modo de vida bem peculiar, como a sociedade da etnia Yanomami.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. POPULAÇÃO ESTUDADA

Os Yanomamis são indígenas de um grupo étnico puro, originários do grupo Karib ou Proto-Karib. Pertencem à sub-raça Atlântico Sul, à raça Ameríndia e ao grupo racial Amarelo, agrupam-se em aldeias representadas por uma casa coletiva em forma de cone ou retangulares chamadas xapono, onde vivem muitas famílias, mas todas com uma identidade econômica e política autônoma e um líder político escolhido pelos entes para representar e organizar as aldeias. Culturalmente os Yanomamis ainda conservam seus rituais com cerimonias de dança, música e pinturas corporais. Esses povos têm o hábito de tomar banho várias vezes ao dia em rios ou igarapés próximos e ainda utilizam cinzas, areia ou somente água para a higienização oral. Eles dividem tudo, desde alimentos até utensílios e vestimentas, o que pode facilitar a disseminação de doenças infectocontagiosas (30,31).

A concepção de doenças em comunidades indígenas relaciona a naturalidade de como essa doença ocorre e a sua relação com o corpo. Os indígenas interpretam as doenças como fazendo parte da natureza que segue seu curso e convívio com seu corpo ou como fazendo parte de mundos espirituais, onde tem que ter um intermediário (Xamã) para lutar ou negociar com os diversos espíritos que provocam os desequilíbrios nos indivíduos e trazer a cura. Com a entrada da medicina dos não índios, houve a princípio resistência, mas com o tempo essa resistência foi diminuindo, o que ocorreu principalmente pelo preparo das equipes de saúde para atuar de forma a não excluir o método de tratamento indígena, ou seja, fazer com que entendam que ambas as formas de tratamento são benéficas para o indivíduo (32).

2.2. DADOS EPIDEMIOLOGICOS DA HEF E DA PREVALÊNCIA DE HHV 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 E 8

A transmissibilidade do HPV que esta relacionado a HEF e dos HHV é alta, pois são transmitidos pelo contato com fluidos corporais contaminados como sangue e saliva sendo a cavidade oral o local primário de transmissão e persistência tanto dos HHV (28) quanto dos HPV (6,11,12).

A prevalência de HPV na mucosa oral de indivíduos sadios varia de 0 a 20% (33) e para a HEF em populações indígenas a incidência e a prevalência tem sido muito variada conforme o local e a população estudada e também porque a maioria dos estudos tem sido de relatos de caso clínico (34,35). A incidência varia de 0,06 para 33,7 % e a prevalência também varia bastante. No Brasil, em comunidades Xavante e Bororo tem sido em torno de 7,4% (34); entre os Waimiri Atroari em torno de 21% (34,36); em comunidades de descendência Asteca que falam a língua Nahuatl no México, a prevalência em crianças é de 32,3% (35); no Sul da África, em comunidades Khoi-San varia de 7 a 13% (37); em indígenas Nanortalik na Groelândia 19,4% de 460 indivíduos apresentavam manifestações clínicas da HEF (38). Em descendentes caucasianos a HEF é muito rara (38), mas pode ser encontrada em populações como Iraque, Israel, Suécia e Alemanha (39).

A HEF está mais relacionada aos subtipos 13 e 32, possui o DNA do papiloma vírus humano (HPV) detectado em 80,3% das lesões (40), foi descrita pela primeira vez em esquimós da Groelândia (18) e é reconhecida como uma alteração benigna e proliferativa causada pelo papiloma vírus que acomete fortemente populações de Esquimós, com prevalência de 7 a 36% (40); índios da América do Norte, Central e do Sul (8,11,13,39,40-46) e em descendentes de indígenas Khoi-San no Sul da África, nos quais quase 40% das crianças tem sido afetadas (15,16,40,47).

A prevalência na população não indígena de HHV varia bastante conforme o tipo de vírus relacionado, no caso HSV-1 mostra de 30 a 100% de soroprevalência em indivíduos com idade de 20 anos ou mais (48), a soroprevalência e em torno de 50% em países desenvolvidos e em torno de 90% em países em desenvolvimento (49,50). Não existe muitos estudos de HSV-1 em populações indígenas. A soropositividade para o HSV-2 varia muito conforme a população que afeta podendo ser de 15 a 80%, ocorre em grande proporção em pessoas mais expostas as doenças sexualmente transmissíveis, como homens que se relacionam com outros homens e profissionais do sexo, e em baixos números em indivíduos não expostos (48), porém, tanto o HSV-1 quanto o HSV-2 podem ser transmitidos pela saliva ou pelo contato sexual, estando

o primeiro associado a mucosa oral e o segundo a mucosa genital, mas com as mudanças de hábitos sexuais tanto um quanto o outro estão colonizando os dois habitats (49).

O VZV é um vírus cosmopolita que tem como hospedeiro somente os seres humanos, sua incidência varia muito, em climas temperados atinge crianças na faixa de 1 a 9 anos com incidência anual maior que 10% e como consequência mais de 90% das pessoas tornam-se infectadas antes da adolescência e apenas uma pequena parte da população adulta (5 – 10%) continuam suscetíveis(9). No Brasil estudos tem demonstrado a soroprevalência de 8,4% e 94,2% e um surto no ano de 2000 afetou 94,6% de 278 indígenas Araweté no Estado do Pará com 3% de mortes (51), o que fez com que o Ministério da Saúde lancasse uma campanha de vacinação, e um pouco antes dessa campanha, foi feito um estudo com indígenas Kuikuro (mais isolado) e Kaiabi (maior contato com não indígenas), onde coletou-se 224 amostras de sangue com detecção de anticorpos contra VZV em 80,8% da amostra, com diferenças significativas (p-valor < 0,001) entre as populações das duas comunidades com maior soroprevalência nas comunidades Kaiabi (51).

Quanto ao EBV a soroprevalência nas diversas populações é muito alta com mais de 90% da população apresentando resposta sorológica a este vírus (27). A taxa de soro prevalência varia muito conforme a área geográfica afetada, a etnia e o status socioeconômico (24). Em indígenas a prevalência é menor do que não indígena, em um estudo avaliando-se o índice de prevalência de mononucleose infecciosa (IM) que é uma infecção primaria do EBV e serve como indicador de sua prevalência, mostrou que em populações indígenas de groelandeses de origem Esquimó (40.000 indivíduos) e de groelandeses de origem não indígenas (10.000 indivíduos), no período entre 1970 e 1981 foram registrados 16 casos de IM nos hospitais na Groelandia sendo apenas 2 casos de origem Esquimó e 14 de origem não indígena de descendentes de dinamarqueses (23).

O CMV também é muito soroprevalente pois infecta de 60 a 90% da população mundial, infecta células mononucleares, fibroblastos, células epiteliais e endoteliais; sua disseminação ocorre através da saliva, secreções cervicais e urina (49). A soroprevalência para o CMV pode variar conforme o nível socio econômico da população, sendo de 40 a 60% em indivíduos de alto nível socio econômico e de 80 a 100% em populações de baixo nível socio econômico (52).

O HHV-6 é um vírus linfotrófico que infecta linfócitos T, principalmente TCD4+, e em muitos países do mundo a soroprevalência chega a ser de 100% das crianças de dois anos de idade e é o principal responsável pelo exantema súbito (53,54). O HHV-6 é um vírus que pode ser transmitido através dos gametas, tanto masculinos quanto femininos, incorporados ao cromossomo chamado de herança cromossômica integrada do HHV-6 que dependendo da região pode afetar de 0,6 a 2% dos indivíduos (55).

Em um estudo com 234 amostras de soro de habitantes malasianos saudáveis de grupos de várias origens étnicas (Malasianos, Chineses, Indianos e Indígenas Tribais) para anticorpos contra a proteína Z29 e cepas protótipo GS do HHV-6, a prevalência para anticorpo contra GS foi significativamente mais alta (p-valor < 0,001) em malásios em relação as tribos indígenas, chineses e indianos e a prevalência para o anti-Z29 foi significativamente mais baixa (p-valor < 0,05) para índios tribais em relação aos malasianos, chineses e indianos (56).

Para o HHV 8 o acometimento é maior em indígenas do que não indígenas, podendo chegar a 79,1% de sorologia contra 6,1% em não indígenas (21). No Brasil, a região Sul apresentou 3 a 7% de anticorpos em doadores de sangue; em paciente portadores de sarcoma de Kaposi (KS) e HIV positivo foi de 74 a 99% e em pacientes sem KS e HIV positivo foi de 4 a 39%. Na região Norte, mais especificamente na cidade de Belém, foi detectado em 16,3% entre crianças e adultos (57,58).

2.3. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DA HEF E DAS ALTERAÇÕES PATOLÓGICAS MAIS ASSOCIADAS AOS HHV 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 E 8

Os papilomavírus (HPV) são um grupo heterogêneo de vírus que atingem o epitélio, tem replicação intranuclear, possuem pequeno diâmetro e genoma de DNA em fita única, dupla e circular com 7200 a 8000 pares de base, coberto por um capsídeo feito com 72 capsômeros e não envelopado. Podem ocorrer no epitélio oral e sua transmissão tem sido associada a comportamentos sexuais, contato com fluidos

orais ou transmitidos ainda, de forma vertical, na vida intrauterina ou na infância através de perdigotos da mãe (59).

A HEF é uma desordem familiar benigna com herança autossômica recessiva, pode afetar tanto crianças quando adultos (6,47), porém ocorre mais em crianças e é mais rara em adultos (25,42,46), não há preferência por gênero, mas alguns autores mencionam predileção pelo sexo feminino (8,13,15,16,19,43,45).

Na mucosa oral ocorre como lesões simples ou múltiplas, bem definidas, esbranquiçadas, lisas, como elevações nodulares, variando de 1 a 10 mm de tamanho (6,11,13,15,19,40,60-61,63–65). São lesões assintomáticas, que podem ser encontradas na mucosa dos lábios, língua e palato duro, com predileção pelo lábio inferior, podendo persistir por muitos anos e regredir espontaneamente (11,13,45,46,60,63–64). Pode apresentar duas formas clínicas, a papulonodular e a papulomatosa que podem apresentar diferentes características de acordo com o local afetado e o epitélio desse local. Quando os locais afetados forem lábios e mucosa vestibular aparecem lesões rosas e lisas papulonodular, que é a forma mais comum. Quando os locais afetados são a mucosa mastigatória, língua e gengiva inserida, a lesão assume uma forma papulomatosa e adquire coloração esbranquiçada e de aspecto rugoso. Pacientes mais jovens tendem a apresentar lesões múltiplas, maiores e exofíticas, enquanto pacientes mais velhos tendem a apresentam lesões simples, menores e mais papulares, raramente afeta gengiva e palato duro (40).

Os herpesvírus causam alterações clínicas relacionadas as células que afetam, o HHV-1 e o HHV-2 são vírus neurotrópicos que afetam principalmente cavidade oral e órgãos genitais, cuja transmissão acontece pelos fluidos corporais, principalmente saliva e secreções genitais (17,48) e possui alguns fatores predisponentes como idade, gênero feminino, raça negra, contato prévio com doenças sexualmente transmissíveis, baixo nível educacional e baixa classe social. Tem ocorrido maior índice de contágio em grupos considerados de alto risco para contração de doenças sexualmente transmissíveis como homens que se relacionam com outros homens (24 a 87%) e em mulheres profissionais do sexo (48). Tanto o HSV-1 quanto o HSV-2 estão associados a uma série de doenças principalmente em indivíduos imunocomprometidos, algumas doenças são herpes oral e herpes genital e ceratite herpética (50).

O VZV é um vírus que afeta indivíduos no mundo inteiro, possui genoma formado por DNA de dupla fita e as principais células afetadas são linfócitos T, células epiteliais e gânglios cuja infecção primaria causa a varicela (catapora) e sua manifestação tardia causa herpes zoster (cobreiro)(9). O herpes zoster provoca fortes dores que se tornam crônicas, meningoencefalites, mielites, paralisias, vasculopatia, ceratites, retinopatia, ulceras, hepatites e pancreatites(9), sua transmissão se da através da infecção primaria (catapora) onde as vesículas possuem alta carga viral (9).

Alguns vírus quando encontrados em coinfecções mostram uma associação de facilitação para o desenvolvimento de carcinomas como o EBV, o CMV o KSVH e o HHV-6 que afetam células epiteliais e linfoblastoides, causa sua imortalização através da expressão de oncogenes ou supressão de proteínas que regulam multiplicação e apoptose celular, o que facilita o desenvolvimento de carcinomas (62-65).

O EBV apresenta um capsídeo envelopado contendo uma fita dupla de DNA com aproximadamente 170 kilobases de pares de extensão. Está associado a muitas doenças, ocorre principalmente na infância, é um vírus que infecta o ser humano com grande sucesso e por toda sua vida. Na adolescência há um aumento do risco de desenvolvimento da mononucleose infecciosa (MI) com o surgimento de febre, faringite e gânglios infartados com alta carga viral no sangue e na saliva, o que facilita a disseminação da doença (28). Apesar da longa vida do vírus no corpo, na maioria das vezes isso não tem consequências mais serias, porém em alguns casos estes vírus estão relacionado ao surgimento de malignização de células linfóides e epiteliais, pois eles têm a capacidade de imortalizar células linfoblastóides (28,64). A taxa de mortalidade por câncer atribuída ao EBV é considerável, com mais de 200.000 novos casos e 143.000 mortes anualmente com grande impacto econômico e social (22). A transmissão do EBV é mais comum pelo contato com secreções das vias aéreas e quase todas as pessoas soropositivas eliminam ativamente o vírus na saliva (28,63).

O HHV-6 e o HHV-7 tem tropismo por linfócitos TCD4+, sua infecção precoce ocorre na infância, com transmissão através da saliva e associado ao exantema subido caracterizado por *rash* cutâneo, febre e linfadenopatia; também hepatoesplenomegalia e pancitopenia com síndrome hematofágica (66).

HHV-5 (CMV) e HHV-6 são vírus universais, permanecem latentes após a infecção primaria e são reativados com a imunossupressão; em pacientes transplantados de fígado o HHV-5 é a maior causa de infecção pós cirúrgica, com o HHV-6 facilitando sua reativação após provocar mudanças no sistema imune (52).

2.4. CARACTERÍSTICAS HISTOPATOLÓGICAS CLÍNICAS DA HEF E DAS ALTERAÇÕES PATOLÓGICAS MAIS ASSOCIADAS AOS HHV 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 E 8

As características histológicas associadas ao HPV e ao HHV que acometem a cavidade oral variam de acordo com o vírus associado a lesão. Os HPV como a HEF provocam normalmente alterações limitadas ao epitélio (11,12,14,18,40), já os HHV afetam diversas células do corpo e seus achados histopatológicos ocorrem de acordo com as células afetadas, como por exemplo os EBV que provocam alterações epiteliais e imortalização dos linfócitos B (5,21,28); Os HHV-1 e HHV-2 que provocam alterações neuronais e epiteliais (48).

A HEF tem características bem distintas em relação as outras lesões por HPV(40). Nas lesões encontram-se espessamento epitelial, sendo que o espessamento e as elevações focais do epitélio podem se estender para cima sem envolvimento da derme subjacente, com pontes retas que frequentemente se anastomosam e tomam a forma de “taco de golfe”, hiperparaceratose leve e células coilocíticas (características de infecção por HPV) que podem ser vistas na camada espinhosa e zona marcada nitidamente de acantose epitelial sem formação de projeções epiteliais bem definidas. A lesão contém tecido conjuntivo papiláceo mínimo, no núcleo celular pode ser observado heterocromatina coagulada que se assemelha a uma figura mitótica (corpos mitosóides) (11,12,18,19,34,39,41,44,40,67).

Na HEF, partículas virais tem sido observadas em queratinócitos e antígenos virais tem sido detectados por exames imuno-histoquímicos (15,44).

2.5. FATORES ETIOLÓGICOS, GENOMA E INFECÇÃO EM HUMANOS DA HEF E DAS ALTERAÇÕES PATOLÓGICAS MAIS ASSOCIADAS AOS HHV 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 E 8

A família dos papilomavírus (HPV) e dos Herpesvírus (HHV) são grupos variados de vírus que causam infecção no epitélio estratificado de pele e mucosas de humanos e de alguns animais (43) e no caso do HHV-4, além do epitélio infectam também os linfócitos B (68-70).

A HEF tem características bem definidas e associação mais comum com os papiloma vírus HPV 13 e 32 (11,14,15,36,40,44-47,63,71) mas pode ser associada ao HPV-6 e ao HPV-11(44,72) e HPV-16(72). O HPV-32 geralmente está presente em pessoas de mais idade (18) e também quando o indivíduo é HIV positivo e faz uso de terapia antirretroviral (44). Forte correlação com HPV 13 e 32 (15,19,43) deficiência nutricional (vitamina A), pobreza, falta de higiene (43) e predisposição genética tem sido associados a HEF (12,15,19,43). Também associa-se a irritação crônica pelo fumo e moradias em que vivem muitas pessoas (superlotação)(46,81). Sugere-se que o HPV-13 é mais comum de ser encontrado no epitélio queratinizado, enquanto o HPV- 32 em epitélio não queratinizado (40).

Além dos fatores relacionados como pobreza, deficiência nutricional, ambientes domésticos superlotados e fechados tem-se observado a HEF em pacientes com HIV, principalmente o HPV-32, não sendo este considerado a causa ou a consequência do surgimento ou desenvolvimento do HIV, com o HPV detectado em 25,3% dos pacientes HIV positivos e em pacientes saudáveis apenas 7,6%. Pacientes HIV positivos estão mais sujeitos a infecção por HPV com alto risco para o HPV-16 (40).

Alguns autores citam também que há indícios de que fatores genéticos são predisponentes ao aparecimento das lesões, pois muitos afetados tem ao menos um parente próximo também com lesões parecidas (41,42,46,73). O acometimento da HEF em locais de regiões especificas em apenas algumas comunidades e a ocorrência em pessoas da mesma família sugere uma predisposição genética da doença (12,33,40). A presença do gene alelo antígeno leucocitário humano (HLA), o gene HLA-DR é mais comum entre as etnias acometidas e quando a HEF está

presente, observou-se o aumento da presença do gene HLA-DRB1*0404 (33,34,40,73), e mais de 80% da população com HEF apresentam em seu genótipo o lócus DR para o antígeno leucocitário humano (HLA)(34).

Em um estudo feito com quatro indivíduos da mesma família (indivíduo, mãe, irmã e meio irmão), todos apresentaram clinicamente a lesão e após biopsia, a amostra foi embebida em parafina para exame histológico e de PCR. Para exame de PCR foi feito a extração do DNA e este armazenado a uma temperatura de 4^0C até a análise. A tipificação viral foi feita conforme o método descrito por Williamson e Dennis. Os *primers* para detecção do HPV-13 foram MY09 e MY11 e após a utilização da PCR constatou-se a amplificação da região L1 do capsídeo viral com todos os casos positivos para HPV-13. Após resultado da tipificação HLA, verificou-se que os alelos $HLADQA_1{}^*{}_{0501}$, $HLADQB_1{}^*{}_{0302}$, $HLADQA_1{}^*{}_{11}$ eram comuns a todos os membros da família, sugerindo forte transmissão genética (33).

A adesão leucocitária deficiente (67) e também com mutações em proteínas transmembranas tipo canal (TMC) relacionadas aos genes TMC6 eTMC8 localizados no cromossomo 17q25 também tem sido relacionados a HEF (6). Esses canais estão relacionadas ao transporte de Zn para o interior da célula e em células com HPV a proteína E5 se liga ao complexo ZnT1, o que aumenta a atividade de replicação viral (6).

Estudos mais recentes também têm identificado lesões em outras populações e grupos étnicos da África do Sul, México e América Central sendo muito raras em países europeus. A predileção étnica desta condição pode estar relacionada com fatores genéticos que aumentam a vulnerabilidade do indivíduo à infecção viral (19,67).

Muitos estudos de lesão com HPV não detectam corretamente quais genótipos de HPV estão associados a lesão por não usar os primers referentes aqueles vírus e sem esses primes não se consegue saber se determinados tipos estão presentes ou não (44).

Em um estudo realizado em uma escola fundamental de Navolato, Sinaloa, México, onde foram examinadas 336 crianças (159 meninas e 177 meninos), detectou-se lesões sugestivas de HEF em 33 destas. Participaram também os pais de 22 crianças que também apresentavam as lesões e consentiram com o estudo. Após

a coleta realizada por biopsia com punch de 5mm e análise molecular com PCR para detectar o genótipo 13 e Kit Extra 56 de Genotipagem de HPV (INNOGENETICS) INNO-LiPA® que detecta 28 tipos de HPV. A analise molecular foi possível em 21 crianças onde foram encontrados múltiplos tipos de HPV, alguns de alto risco como os tipos 16, 18, 31, 39, 51, 52, 58 e 68, o que corresponde a 52% dos pacientes, outros de médio risco como o tipo 66 em 33% e na maioria dos casos o HPV de baixo risco em 86% dos pacientes como os tipos 11, 13 e 40 (71).

Em um trabalho desenvolvido no Departamento de Patologia Oral de Oslo com 19 espécimes fixados em formalina e embebidos em parafina coletada de 16 pacientes com HEF verificado com microscopia de luz e coradas com hematoxilina-eosina. Foram usados clones dos HPV tipos 1, 6, 11, 13, 16 e 18 e realizada a hibridização in situ em condições rigorosas e não-rigorosas, o que resultou que, sob condições rigorosas através da hibridização in situ das 12 amostras viáveis apenas 1 caso foi detectado para HPV 6/11 e 9 dos 12 casos foi positivo para HPV 13 (75%) e em condições não restritas, 6 dos 16 (38%) casos apresentaram positividade para HPV 1, 6, 11, 16 e 18 (39).

A saliva é considerada a maior rota de transmissão viral entre os indivíduos e os herpesvírus utilizam essa via na sua disseminação, algo que ficou muito bem evidenciado com a utilização da tecnologia de reação em cadeia polimerase (PCR) e com isso a associação desses patógenos com diversas manifestações patológicas orais como lesões de epitélios, doenças periodontais e desenvolvimento de tumores muitas vezes malignos (5).

A família de herpes vírus humanos (HHV) incluem 8 vírus que provocam patologias, os herpes simples tipo 1 e 2 (HSV 1 e HSV 2), varicela zoster vírus (VZV), citomegalovírus humanos (HCMV), Epstein-Barr vírus (EBV), herpes vírus humano 6 e 7 (HHV 6 e HHV 7) e o herpes vírus associado ao Sarcoma de Kaposi (KSHV) (5).

O HHV tem dupla fita de DNA, é envelopado e causam infecções em células epiteliais e alguns em linfócitos B e podem persistir pela vida toda do indivíduo. Após a infecção, o vírus fica latente nas células alvo o que permite que se esconda do sistema imune até uma nova oportunidade de se manifestar (5,74), criando microambientes favoráveis, imunossupressão e facilitação de coinfecções (74),

inclusive, todos procedimentos odontológicos são potencialmente capazes de disseminar os herpes vírus (5,74).

Possíveis reservatórios do HPV e HHV são bolsas gengivais inflamadas (6,68,69), epitélio do ducto de glândulas salivares, epitélio das tonsilas, borda da cavidade oral e orofaringe (6,68,75), o que reside numa importante fonte de disseminação desses vírus para diversos tecidos e para outras pessoas através da saliva (68).

Os HHV podem ser detectados na orofaringe e na saliva, tendo sido encontrado também no fluido crevicular de pacientes com periodontite, com evidências de relação com o agravamento dessas doenças (5,76,77,78). Os EBV são vírus que causam algumas doenças como a mononucleose infecciosa (IM), cujos sintomas são febre, faringite, mal-estar e linfadenopatia e o tratamento é apenas sintomático pois a terapia antirretroviral não é recomendada (5). Também tem sido associado a outras doenças orais como o líquen plano, a síndrome de Sjogën, a leucoplasia pilosa que é comum em pacientes aidéticos (5).

O EBV é considerado um oncovírus e está associado ao carcinoma de nasofaringe, ao linfoma de Burkitt e ao linfoma não-Hodgkin. Em coinfecção com o papilomavírus (HPV) tem sido descrito em amostras de carcinomas orofaríngeos, observando-se que o HPV pode mediar a reativação do EBV em células orais epiteliais sugerindo um papel adicional no desenvolvimento de tumores malignos(5,79,80).

O CMV como os demais herpesvírus, após o contágio permanece latente no indivíduo até uma oportunidade de reativação, e está relacionado ao avanço da idade, como na senescência e pode estar associado a outros herpesvírus como coinfecção, devido ao envelhecimento celular (81,82). O CMV também é considerado um vírus que pode ocorrer em associação aos vírus HPV sendo considerado um cofator na carcinogênese destes vírus (49).

Coinfecções entre EBV e CMV em pacientes idosos aumentam a chance de obter mais doenças inflamatórias o que contribui para uma vida menos saudável(83). Maiores níveis de microrganismos junto com muitas doenças inflamatórias tem sido associado a maiores taxas de mortalidade e risco aumentado por doenças cardiovasculares principalmente quando esses indivíduos são soropositivos para a coinfecção EBV e CMV (82).

O KSVH ou HHV-8 é um vírus de dupla fita de DNA de aproximadamente 140 kilobases (83), causa vários tipos de tumores como o sarcoma de Kaposi (KS), o linfoma de efusão primária (PEL) e a doença multicêntrica de Castleman (MCD) com altas taxas de morbidade em pacientes imunocomprometidos (21,57,83,84). Altas taxas de soroprevalência tem sido encontrada em indígenas do Brasil, Guiana Francesa e Equador (21). A via de transmissão do KSVH é desconhecida, mas estudos sugerem sua transmissão pela saliva, pois mães que possuem alta carga viral na saliva possuem bebes com vírus na saliva e crianças que possuem carga viral possuem ao menos um irmão infectado (21). Também há fortes indícios de transmissão através de relações sexuais, onde o número de parceiros e o relacionamento de homens com outros homens influenciam positivamente na carga viral (21,57).

Um estudo foi conduzido com 339 indígenas de 4 etnias (Mawayana, Wai-Wai, Katwena e Xeréu) e 181 de não indígenas (grupo controle) vivendo na área do rio Trombetas no Estado do Pará, Brasil. Foram coletadas 10 ml de sangue para testes sorológicos. As amostras de saliva foram coletadas apenas dos indígenas devido a baixa sorologia em não-indígenas. Dos 339 indígenas foram obtidas amostras pareadas de sangue e saliva de 243 (71,7%). Cento e noventa e oito dos 243 foram positivos para anticorpos. Dos 198, 47 (21,7%) foram soroprevalentes para o HHV-8 na saliva. A contaminação oral diminuiu significativamente com a idade (P=0,4) e foi mais frequente em homens soropositivos do que em mulheres soropositivas (P=0,003) principalmente entre os menores de 14 anos (21).

Em um estudo com indígenas da Amazônia Brasileira de duas etnias, 664 indivíduos Tiriyó e 318 Waiampi, verificou-se a soroprevalência de anticorpos contra antígenos líticos e latentes para o HHV-8, que foi de 57,4% e 55,7% respectivamente. A média de soroprevalência foi de 56,8% e houve um aumento com a idade sendo 35% na idade entre 2 e 9 anos; 51,4% entre 10 e 19 anos; 72,9% em adultos e 82,3% acima de 50 anos. Foi detectado também que 94% dos indivíduos Tiriyó tinham ao menos um membro da família afetado e os resultados obtidos neste estudo confirmou que ambas as tribos são hiperendemicas para o HHV-8 (85).

Os demais vírus presentes neste estudo (HHV-1, HHV-2, HHV-6 e HHV-7 também são vírus oportunistas e não existe muitos estudos na literatura em populações indígenas. O HHV-1 (HSV-1) e HHV-2 (HSV-2) são vírus ubiquitários e

em associação com o HPV mostrou permitir um melhor acesso para estes nas camadas basais do epitélio e quando estão em associação houve um aumento da persistência, liberação e atividade oncogênica para o HPV(49). Em relação ao câncer do colo do útero, mulheres soropositivas para HSV-2 demonstraram ter um risco 2 a 9 vezes maior de desenvolver carcinoma de células escamosas do colo do útero ou adenocarcinoma (49).

2.6. DIAGNÓSTICO, PROGNÓSTICO E TRATAMENTO DA HEF E DAS ALTERAÇÕES PATOLÓGICAS MAIS ASSOCIADAS AOS HHV 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 E 8

O HPV não é cultivável e a análise microscópica eletrônica e imunológica não é muito útil pois nem sempre os componentes antigênicos virais estão presentes. A análise histopatológica é somente sugestiva. Para um diagnóstico mais preciso é necessário dispor de técnicas de identificação através de biologia molecular como hibridização in situ e reação em cadeia polimerase (PCR) (59).

O diagnóstico da hiperplasia focal epitelial (HEF) é feito principalmente através da associação da anamnese, ou seja, da história médica e social do paciente como origem étnica, fatores socioeconômicos, condições de habitação, história familiar de lesões similares, juntamente com as características clínicas e biopsia das lesões. Para conclusão diagnóstica, no entanto, é necessário a identificação de características histopatológicas e detecção viral(40). Na identificação viral, tem-se utilizado hibridização in situ (IS), Southern Blotting (SB) e exame de reação de cadeia polimerase (PCR)(43).

Em um estudo feito com biopsias de 9 diferentes proliferações papilomatosas orais foram analisadas pelo método de Southern Blot para as sequências de HPV de 1 a 19 e 21 a 26. Foram detectadas a presença de HPV em 7 das 9 amostras onde das quatro papilomatoses orais, duas apresentaram hibridizações para HPV 6 e duas não detectaram ou detectaram fracamente sequência de DNA do HPV; das três

amostras confirmadas clinicamente como HEF, duas apresentaram sequência para HPV 6 e uma para HPV 13 e das duas amostras de papiloma, uma de base de língua e outra do palato, resultaram e detecção de sequência do HPV 11. Neste estudo viu-se que existe 82% de homologia entre HPV 6 e 11 em condições de rigorosa hibridização e menor grau de homologia foi encontrado entre o HPV 13 e os HPV 6 e 11(86), o que faz com que se pense em uma possível reação cruzada entre os HPV 6 detectado em muitas amostras deste estudo e o HPV 13 que é muito mais relacionado a HEF, mas que é associado em menor grau com reações cruzadas pela semelhança de suas sequencias de DNA e também pelo fato desse trabalho utiliza técnicas sensíveis de detecção das sequencias dos diversos tipos de HPV.

Relatou-se que dependendo do tipo de exame de detecção feito, pode-se ter um índice nas lesões de HEF de 50 a 100% de HPV nas lesões e que podem ser encontrados outros tipos de HPV como o 1, 6, 11, 18 e 55. Também foi relatado o HPV-24 em um dos casos. O HPV-24 esta relacionado a epidermodisplasia verruciforme e ceratose displásica (PUVA) com eventual malignização, porém, houve dúvida sobre o diagnóstico de HEF neste trabalho (40).

Gemigniani (12) ao estudar a HEF em uma criança haitiana de 11 anos de idade do sexo feminino achou que esta lesão estava sendo provocada pelo HPV 16, mas conseguiu reverter o engano e encontrou o HPV 32 como causador. Sua explicação para isso foi de que a sequência genética dos subtipos de HPV são muito parecidas diferenciando apenas em algumas bases nitrogenadas.

A identificação do vírus por diferentes métodos não é 100% confiável, cada método tem suas vantagens e desvantagens. Marcadores imunológicos para detecção de anticorpos do HPV pelo método ELISA tem sido feito, mas não indica infecção ativa. Hibridização in situ consome muito tempo e tem baixa sensibilidade. Southern Blot (SB) diferencia o DNA epissomal extracromossômico do DNA integrado ao cromossomo, tem alta sensibilidade e detecta 0,1 cópia por célula, no entanto, requer isolar e purificar o DNA celular e digeri-lo em um fragmento. A reação em cadeia polimerase (PCR) é um dos mais específicos e sensíveis métodos para detecção do DNA do HPV e do HHV, mas há a possibilidade de um falso negativo devido ao primer escolhido ou a possibilidade de contaminação da amostra (40).

HPV 13 e 32 foram encontrados no condiloma acuminatum (CA) e no papiloma de células escamosas (PCE). As características histopatológicas do CA e PCE são parecidas com a da HEF o que pode ser explicado pelo fato de que vários tipos de HPV deem origem a alterações teciduais locais semelhantes que se manifestam de diferentes maneiras clínicas (40).

O prognóstico é bom, pois a maioria das lesões frequentemente regridem espontaneamente e não sofrem transformação maligna, mas o acompanhamento é necessário. Apenas um caso de HEF associado ao HPV-24 foi relatado, mas o diagnóstico definitivo dessa lesão foi questionado (19,43,40).

Lesões que não regridem e causam problemas estéticos e funcionais devem ser removidas (19,40,43). As técnicas para remoção são variadas como cirurgia, crioterapia, eletrocoagulação, laser, agentes químicos como o ácido retinóico ou imunoestimulantes como o interferon (19,40,43), também pode ser usado um imunomodulador como o imiquimod com resultados bastante favoráveis (12,16).

As formas de diagnóstico do EBV geralmente são baseadas em achados clínicos e sorológicos(88). Biopsias podem ser realizadas em pacientes com suspeita de linfoma e associação com outros fatores como idade acima de 30 anos, linfadenopatia generalizada, massa tonsilar e ausência de linfocitose periférica sanguínea (87). A hibridização in situ (ISH) pode ser utilizada para detectar e distinguir células infectadas com EBV que abrigam um baixo número de cópias de DNA viral latente daquelas com múltiplas cópias de DNA viral replicante. Também foram detectadas proteínas líticas e transcritos de genes líticos de EBV em linfócitos B de sangue periférico por imuno-histoquímica e RT-PCR em pacientes com mononucleose infecciosa (MI)(88).

3. PROPOSIÇÃO

Este trabalho tem como objetivo a detecção dos herpesvírus humanos (HHV) na cavidade oral de indígenas da etnia Yanomami com lesão de HEF, bem como de seus núcleos familiares, que poderiam apresentar ou não a lesão de HEF.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo foi submetido e aprovado da Coordenação do Distrito Sanitário Especial Indígena Yanomami (DSEIY); da presidência dos Conselhos Distritais de Saúde Indígena (CONDISI) e da chefia da Casa de Saúde Indígena (CASAI). Também foi submetido ao Conselho Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP 60086116.2.0000.0081) (Anexo 1). Para inclusão neste estudo os participantes deram sua autorização através do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), com a presença de um tradutor, quando necessário, o qual foi devidamente lido, explicado e, logo após os esclarecimentos, assinado (Anexo 2).

4.1. SELEÇÃO DOS PARTICIPANTES

Os 81 participantes pertencem a etnia Yanomami moradores da comunidade Auaris as margens do rio Auaris, no Estado de Roraima (Figura. 1) foram selecionados durante o tratamento odontológico no Polo Base Auaris, onde se detectaram lesões diagnosticadas clinicamente como HEF na cavidade oral do indivíduo e registrava-se a qual família pertencia. Em outro momento, após o atendimento, com o auxílio do agente indígena de saúde (AIS), buscava-se o núcleo familiar daquele individuo para exame clínico com os demais familiares, caso o indivíduo não apresentasse a lesão, perguntava-se sobre a presença da doença em alguma fase da vida. Houve a necessidade de um intérprete representado pelo próprio AIS, que fez o acompanhamento de todas as visitas e estava preparado para não modificar a anamnese conforme sua interpretação de saúde e não ocultar as informações, pensando serem estas irrelevantes.

Figura. 1. Mapa de localização das comunidades Yanomami no entorno do polo-base Auaris. (www.maeterra.com.br)

4.2. EXAME CLÍNICO PARA DIAGNÓSTICO DA HEF

O exame clínico foi realizado na residência do indivíduo acometido, que foi detectado durante o atendimento odontológico de rotina nas comunidades. utilizou-se

um banco de madeira para o paciente se deitar, uma espátula de madeira para afastar os tecidos e visualizar a mucosa e uma lanterna de testa para melhor visualização.

Fez-se a inspeção visual extraoral, para verificar se havia acometimento da pele da face e pescoço, depois, fez-se a inspeção intraoral, para verificar quais regiões dos indivíduos eram mais acometidas pelas lesões. Fez-se também a mensuração das lesões, com ajuda de uma sonda milimetrada periodontal Williams (Golgran – Brasil) e com a ajuda de uma auxiliar em saúde bucal, foi-se anotando as características das lesões, que a princípio coincidia com as características clínicas descritas para a HEF (40).

Quando surgia alguma dúvida em relação ao histórico das lesões, um tradutor, o agente indígena de saúde, que acompanhava o procedimento, fazia as devidas traduções.

As lesões encontradas eram de coloração da mucosa, moles à palpação, sésseis, com diâmetro que variava de 5 a 10 mm, com predominância na região labial. Os indígenas acometidos não relatavam dor e nem incomodo, o que acontecia ocasionalmente, quando os mesmos mordiam sem querer a lesão.

Pelas características clínicas encontradas e pela anamnese, a qual se descartou outras lesões com características semelhantes, como o condiloma acuminato e a verruga vulgar por exemplo, chegou-se à conclusão de que se tratava de HEF.

4.3. METODOLOGIA PARA COLETA DE SALIVA

Foram coletadas amostras de saliva dos indígenas que apresentavam a lesão bucal assim como do seu núcleo familiar, independente de apresentar ou não a lesão, no período de julho de 2018 a janeiro de 2019. Foram coletadas 81 amostras de saliva de 16 núcleos familiares. As amostras foram congeladas e

enviadas para o laboratório de virologia do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo (IMT-USP).

Os pacientes que foram incluídos no estudo receberam um copo descartável com solução de clorexidina a 0,12% sem álcool. Foi orientado ao paciente bochechar por um minuto e cuspir de volta no copo. Com auxílio de uma pipeta descartável, a solução resultante do bochecho foi retirada e transferida para um tubo *eppendorf*, devidamente identificado e em seguida congelado a -4º C. Foi coletado uma amostra de saliva de cada indivíduo.

4.4. PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS

4.4.1. EXTRAÇÃO DE DNA DA SALIVA

A extração de DNA das amostras saliva foi feita com 200 µl de cada amostra com o Qiamp DNA mini kit (Qiagen, Hilden, Alemanha) (89), que possui uma membrana de sílica para a segregação e purificação do DNA, seguindo instruções do fabricante. A eluição final foi feita em 100 µl de tampão fornecido pelo próprio kit. A amostra contendo o material (DNA / RNA) extraído foi alíquotada em microtubos de 1,5 ml e armazenadas em freezer a -20°C até processamento.

4.4.2. REAÇÃO EM CADEIA POLIMERASE (PCR) DOS HERPESVIRUS

Um protocolo modificado de Johnson e cols. 2020 (89) foi utilizado para detecção dos herpesvírus humanos. São duas reações realizadas, sendo uma específica para Herpes simplex 1e 2, Herpesvírus 4 (EBV), Herpesvírus 5 (CMV) e Herpesvírus 8, denominada HSV-Pan. E a segunda para os Herpesvírus 3 (Varicella-zoster ou VZV), Herpesvírus 6 a e b e Herpesvírus 7, denominado VZV-Pan. Os pares de *primers* de ambas as reações têm como alvo uma região conservada do gene da DNA polimerase dos herpesvírus humanos.

Sequência dos primers para o Pan-Herpes PCR:

Par-Primers 1 - HSV-Pan Sequência 5'- 3'

HSV-P1 GTGGTGGACTTTGCCAGCCTGTACCC

HSV-P2 TAAACATGGAGTCCGTGTCGCCGTAGATGA

Par-Primers 2 - VZV-Pan Sequência 5'- 3'

VZV-P1 GTCGTGTTTGATTTTCAAAGTTTATATCC

VZV-P2 ATAAACACACAATCCGTATCACCATAAATAACCT

As duas misturas de reagentes necessárias para a realização da PCR contêm uma concentração final de 1x do Buffer Gold Star 10x (Promega, Madison, EUA), 200 nM de cada primer – foward e reverso, 1 unidade de Taq polimerase platinum (Invitrogen, Califórnia, EUA), água ultrapura DEPC-tratada (Invitrogen, Califórnia, EUA) para ajuste final do volume de 50 µl, sendo 10 µl de amostra de DNA extraído.

O protocolo de termociclagem para o HSV-Pan foi de 95°C por 5 minutos, seguido de 40 ciclos de 95°C por 50 segundos, 62 °C por 50 segundos e 72°C por 1 minuto, com uma extensão final de 72°C por 10 minutos. Enquanto o protocolo para VZV-Pan foi de 95° por 5 minutos, 45 ciclos de 95°C por 50 segundos, 50°C por 50 segundos e 72°C por 50 segundos, e uma extensão final de 5 minutos a 72°C. A visualização do possível produto amplificado foi feita em corrida por eletroforese em gel de agarose 1,5%. Para as amostras positivas nas reações descritas acima, seguiu-se uma etapa de digestão do produto por duas enzimas de restrição, FastDigest Bam HI e FastDigest Bsh1236I (BstUI) (Thermo Fisher Scientific, Life Technologies Brasil, Brasil) para diferenciação dos Herpesvírus humanos. Uma mistura contendo 10 µl do produto amplificado, 1,5 µl de tampão específico (10x Fast Buffer), 1 µl da enzima e

2,5 µl de água ultrapura livre de Dnase e RNase, para um volume final de 15 µl de reação é incubado por 30 minutos a 37°C. A visualização de padrão específico do tamanho de cada produto foi feita novamente em corrida de eletroforese em gel de agarose 1,5%.

4.5. **ANÁLISE DOS DADOS:**

Após a coleta dos dados demográficos, clínicos e laboratoriais dos pacientes envolvidos nesse estudo, foi construído um banco de dados, utilizando-se para isso programas *Microsoft Word for Windows* (versão XP) e *Microsoft Excel for Windows* (versão XP).

Inicialmente, foi realizada a análise descritiva de todas as variáveis do estudo. Após, foram comparados os valores obtidos de excreção oral dos vírus pela análise da saliva com a manifestação clínica da doença.

Foram aplicados a este trabalho os testes de análise estatística T-Student que é o teste de Igualdade de duas Médias quando pressupomos que a variância populacional é conhecida, independente e normal. Também foi aplicado ao estudo o teste Qui-Quadrado para Independência que é um teste utilizado para verificar se duas variáveis e seus níveis possuem ou não uma dependência (associação) estatística; também o teste de Igualdade de duas Proporções que é um teste que compara se a proporção de respostas de duas determinadas variáveis e/ou seus níveis é estatisticamente significante; o intervalo de confiança para a Média é uma técnica utilizada quando queremos ver o quanto a média pode variar numa determinada probabilidade de confiança; e o p-valor que é a estatística de cada comparação e onde chega-se a conclusão do nível de significância da comparação aplicada.

O nível de significância definido foi de 0,05 (5%). Todos os intervalos de confiança construídos ao longo do trabalho, foram construídos com 95% de confiança estatística.

Os testes estatísticos paramétricos foram utilizados, pois após testada a normalidade das variáveis quantitativas de desfecho principal através do teste de Kolmogorov-Smirnov (N≥30), concluiu-se que existe distribuição de normalidade. Testes paramétricos são mais poderosos na detecção de significâncias.

Foi feita análise descritiva completa para a idade e também a quantidade de vírus (mínimo 0 e máximo de 8).

Nas variáveis com apenas dois níveis de resposta, o p-valor é calculado diretamente após a comparação dos mesmos. Já nas variáveis com 3 ou mais níveis de resposta, mostrou-se os p-valores da comparação de cada nível de resposta sempre em relação ao mais prevalente que está como Referência (Ref.).

5. RESULTADOS

5.1. PERFIL DA AMOSTRA

Após o exame clínico, 33 indivíduos apresentavam a lesão de Heck e os que não apresentavam lesões, foram arguidos sobre se já tiveram ou não a lesão durante suas vidas; quando menor de idade, a pergunta era direcionada aos pais. Destes, 14 não souberam responder, 34 disseram que já haviam apresentado a doença e 33 disseram que não haviam apresentado. Dos pacientes que apresentaram clinicamente a lesão a idade variou de 4 a 43 anos de idade (média 14,27 $\pm$ 10,52) (Anexo 3).

Foram coletadas 81 amostras de indivíduos Yanomami com idade variando entre 2 e 56 anos (média 17,19 $\pm$ 12,84), distribuídos em faixas etárias de 0 a 10 anos de idade; 11 a 20 anos de idade; e maiores de 20 anos de idade, pertencentes a 16 núcleos familiares e designados com as letras A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, L, N, P, R, T e V, dos quais 35 eram do gênero feminino e 46 eram do gênero masculino (Anexo 3) não houve diferença estatística com relação ao gênero masculino e feminino (p-valor = 0,084).

Na comparação da amostra pela presença ou ausência da lesão de HEF houve mais indivíduos que tiveram a lesão, comparado aos que não tiveram, com diferença estatística entre os que não tiveram, 48 indivíduos (59,3%), e os que tiveram a lesão, 33 indivíduos (40,7%), com o p-valor de 0,018 (Figura 3). Entre os indivíduos que não tiveram a lesão, 2,1% responderam que em algum momento de sua vida, já tinha apresentado a lesão.

Entre os indivíduos que foram questionados sobre se “já teve” ou “não” a lesão durante a vida, a comparação foi feita usando como referência o valor mais prevalente que no caso foi a resposta de “não teve a lesão” com 68,1%; os que responderam que não sabia foi de 29,8% (p-valor < 0,001); e os que responderam que “não tiveram a lesão” foi de 2,1% (p-valor < 0,001), Figura 4.

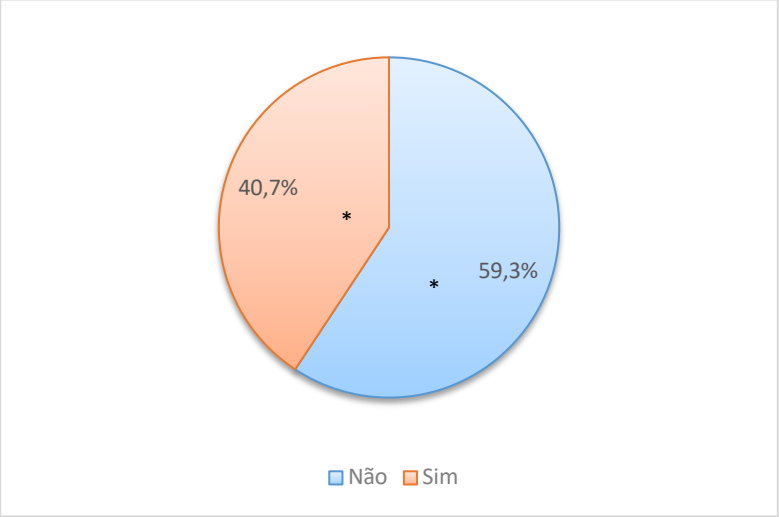

Figura 3. Distribuição da amostra de acordo com a lesão presente (* p-valor = 0.018).

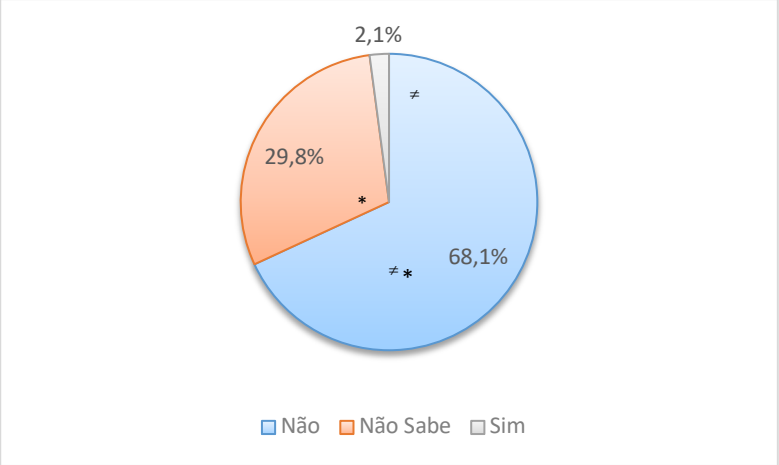

Figura 4. Distribuição da amostra conforme a resposta dos indivíduos que não tinham lesão clínica sobre se já tiveram a lesão, se não sabem ou não lembram se tiveram e se não tiveram a lesão (*≠ p-valor < 0,001).

5.2. PRESENÇA DOS HERPESVÍRUS NA AMOSTRA.

Foram avaliados os seguintes vírus: HSV-1, HSV-2, VZV, EBV, CMV, HHV-6, HHV-7 e HHV-8. Houve significância em relação a todos os vírus quanto a presença ou ausência de cada vírus na amostra com p-valor < 0,0001 para todos (Tabela 1). Nenhuma amostra foi positiva para o HSV-2 e para o VZV; para o HSV-1 oito (9,9%) indivíduos foram positivos; para o EBV vinte e oito (34,6%) testaram positivo; sete (8,6%) para o CMV; sete (8,6%) para o HHV-6; cinco (6,2%) para o HHV-7 e nove (11,1%) para o HHV8 (tabela 1 e Figura 5).

Tabela 1. Número total de indivíduos que contraíram cada tipo de HHV.

	N	%
CMV	7	8,6%
EBV	28	34,6%
HHV-6	7	8,6%
HHV-7	5	6,2%
HHV-8	9	11,1%
HSV-1	8	9,9%
HSV-2	0	0%
VZV	0	0%

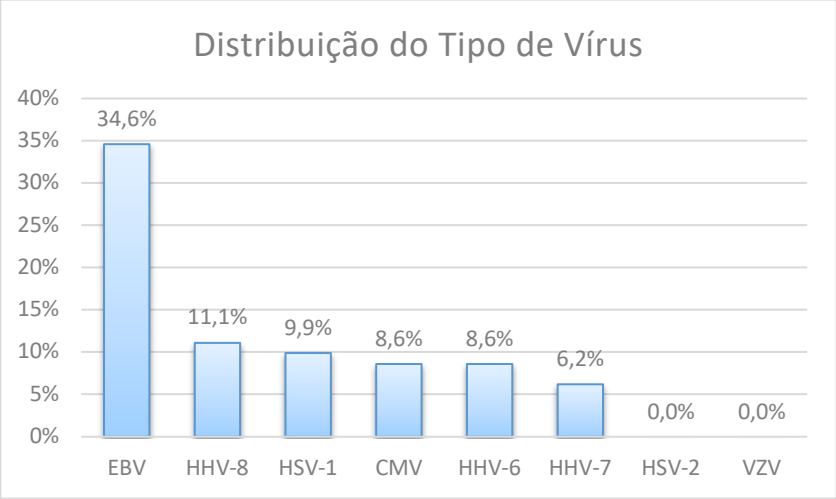

Figura 5. Distribuição dos diferentes tipos de vírus pelo número total da amostra.

Quando se relaciona a quantidade de HHV que afeta o individuo em nenhuma, uma, duas ou três vírus ao mesmo tempo e tem-se como referência o índice mais prevalente que foi o de trinta e nove (48,1%) indivíduos que não excretaram nenhum HHV na saliva; os que excretaram apenas um tipo de HHV foram de vinte e quatro (29,6%) indivíduos o que foi significativamente menor (p-valore = 0,016); dois tipos de

vírus foram excretados por catorze (17,3%) indivíduos (p-valor < 0,001); e quatro (4,9%) apresentaram três tipologias virais (p-valor < 0,001) (Figura 6).

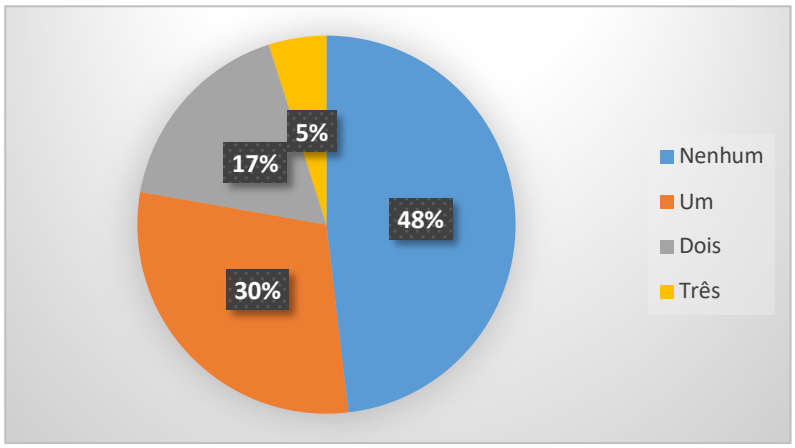

Figura 6. Coinfecções de HHV.

5.3. QUANTIFICAÇÃO DA LESÃO E DOS HERPESVÍRUS DE ACORDO COM AS FAIXAS ETÁRIAS.

Dividiu-se a amostra em três grupos etários. Utilizou-se o teste Qui-Quadrado para fazer a comparação da distribuição dos fatores qualitativos.

Não houve diferença estatística (p-valor = 0.159) quando se compara a presença ou não da lesão nas faixas etárias de 0 a 9 anos, 11 a 20 anos e acima de 21 anos.

Existe diferença estatisticamente significativa nos grupos etários para a distribuição de: EBV, HHV-6, HHV-8 e quantidade de Vírus.

Na relação dos grupos etários com EBV, tem-se que o índice positivo (resposta sim), ficou em 3,3% no grupo de 0 a 10 anos; 22,2% no grupo de 11 a 20 anos; e 87,5% no grupo de 21 anos ou mais (p-valor <0,001).

Com relação a quantidade de vírus em coinfecções, os indivíduos que não possuíam nenhum vírus ficaram em 83,3% no grupo de 0 a 10 anos; 51,9% no grupo de 11 a 20 anos e 0,0% no grupo de 21 anos ou mais.

O índice em que os indígenas apresentavam um vírus ficou em 16,7% no grupo de 0 a 10 anos; 29,6% no grupo de 11 a 20 anos; e 45,8% no grupo de 21 anos ou mais (p-valor <0,001) (Tabela 3).

Tabela 3. Perfil da amostra quanto a faixa etária dos vírus estudados, EBV, HSV-1, HSV-2, CMV e HHV-8 e da presença da lesão de HEF.

		De 0 a 10 anos		De 11 a 20 anos		≥ 21 anos		Total		P-valor
		N	%	N	%	N	%	N	%	
Gênero	Feminino	11	36,7%	10	37,0%	14	58,3%	35	43,2%	0,204
	Masculino	19	63,3%	17	63,0%	10	41,7%	46	56,8%	
Lesão presente	Não	15	50,0%	15	55,6%	18	75,0%	48	59,3%	0,159
	Sim	15	50,0%	12	44,4%	6	25,0%	33	40,7%	
CMV	Não	28	93,3%	24	88,9%	22	91,7%	74	91,4%	0,835
	Sim	2	6,7%	3	11,1%	2	8,3%	7	8,6%	
EBV	Não	29	96,7%	21	77,8%	3	12,5%	53	65,4%	<0,001
	Sim	1	3,3%	6	22,2%	21	87,5%	28	34,6%	
HHV-6	Não	30	100%	27	100%	17	70,8%	74	91,4%	<0,001
	Sim	0	0%	0	0%	7	29,2%	7	8,6%	
HHV-7	Não	30	100%	24	88,9%	22	91,7%	76	93,8%	0,192
	Sim	0	0%	3	11,1%	2	8,3%	5	6,2%	
HHV-8	Não	30	100%	24	88,9%	18	75,0%	72	88,9%	0,015
	Sim	0	0%	3	11,1%	6	25,0%	9	11,1%	
HSV-1	Não	28	93,3%	23	85,2%	22	91,7%	73	90,1%	0,562
	Sim	2	6,7%	4	14,8%	2	8,3%	8	9,9%	
HSV-2	Não	30	100%	27	100%	24	100%	81	100%	- x -
	Sim	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	
VZV	Não	30	100%	27	100%	24	100%	81	100%	- x -
	Sim	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	
Qtde Vírus	Nenhum	25	83,3%	14	51,9%	0	0,0%	39	48,1%	<0,001
	Um	5	16,7%	8	29,6%	11	45,8%	24	29,6%	
	Dois	0	0,0%	4	14,8%	10	41,7%	14	17,3%	
	Três	0	0,0%	1	3,7%	3	12,5%	4	4,9%	

5.4. RELAÇÃO DA LESÃO COM OS HERPESVIRUS

Realizou-se as principais análises do trabalho, comparou-se e/ou relacionou-se a lesão presente com todos os demais fatores avaliados. Começando com a relação dos fatores qualitativos, onde para isso utilizou-se o teste de Qui-Quadrado.

Os resultados das relações e/ou associações serão mostrados com valores absolutos e percentuais na mesma tabela. A tabela mostra a distribuição conjunta dos

vírus para valores absolutos e seus percentuais entre todas as combinações dos níveis dessas duas variáveis.

Observa-se que a lesão presente tem relação estatisticamente significante com dois tipos de vírus: HHV-6 (p-valor = 0,022) e HSV-1 (p-valor <0,001). Assim, tem-se um índice positivo (resposta sim) do HHV-6 14,6% entre as pessoas sem lesão contra 0,0% entre as pessoas com lesão. Já o índice positivo de HSV-1 ficou em 0,0% entre as pessoas sem lesão contra 24,2% entre as pessoas com lesão (tabela 4, gráfico 5).

Tabela 4: Relação da Lesão Presente com os Vírus.

		Sem Lesão		**Com Lesão**		**Total**		**P-valor**
		N	%	N	%	N	%	
CMV	Não	43	89,6%	31	93,9%	74	91,4%	0,493
	Sim	5	10,4%	2	6,1%	7	8,6%	
EBV	Não	28	58,3%	25	75,8%	53	65,4%	0,105
	Sim	20	41,7%	8	24,2%	28	34,6%	
HHV-6	Não	41	85,4%	33	100%	74	91,4%	0,022
	Sim	7	14,6%	0	0%	7	8,6%	
HHV-7	Não	45	93,8%	31	93,9%	76	93,8%	0,972
	Sim	3	6,3%	2	6,1%	5	6,2%	
HHV-8	Não	42	87,5%	30	90,9%	72	88,9%	0,631
	Sim	6	12,5%	3	9,1%	9	11,1%	
HSV-1	Não	48	100%	25	75,8%	73	90,1%	<0,001
	Sim	0	0%	8	24,2%	8	9,9%	

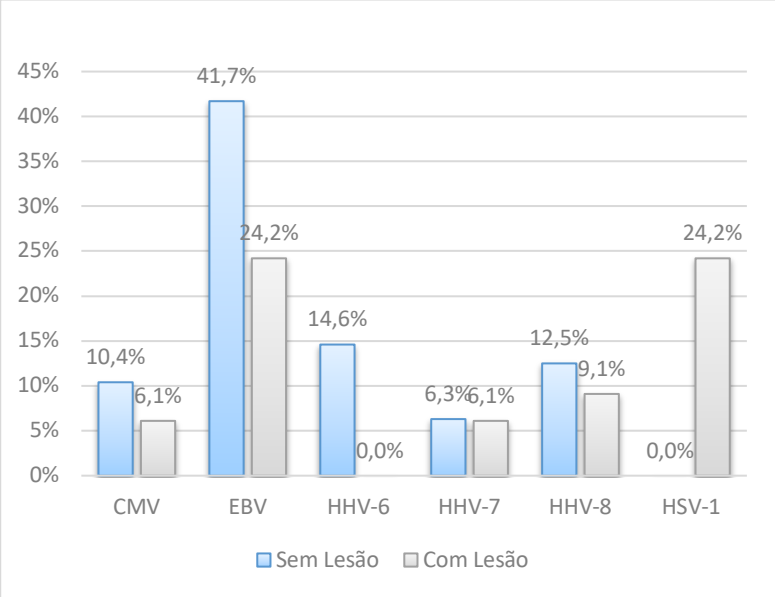

Figura 5: Relação da Lesão Presente com os Tipos de Vírus.

Comparou-se a Lesão Presente para a média tanto da Idade quanto da Quantidade de Vírus, onde para isso nós utilizou-se o teste T-Student.

Observa-se que não existe diferença média estatisticamente significante da Idade (p-valor = 0,089) ou da Quantidade de Vírus entre as pessoas Com e Sem Lesão (p-valor = 0,446) (Tabela 5, Figura 6).

Tabela 5: Compara Lesão Presente para Idade e Quantidade de Vírus

Lesão presente		Média	Mediana	Desvio Padrão	CV	Min	Max	N	IC	P-valor
Idade	Com Lesão	14,3	11	10,5	74%	4	43	33	3,6	0,089
	Sem Lesão	19,2	15	14,0	73%	2	56	48	4,0	
Qtde Vírus	Com Lesão	0,70	1	0,73	104%	0	2	33	0,25	0,446
	Sem Lesão	0,85	0,5	1,01	118%	0	3	48	0,29	

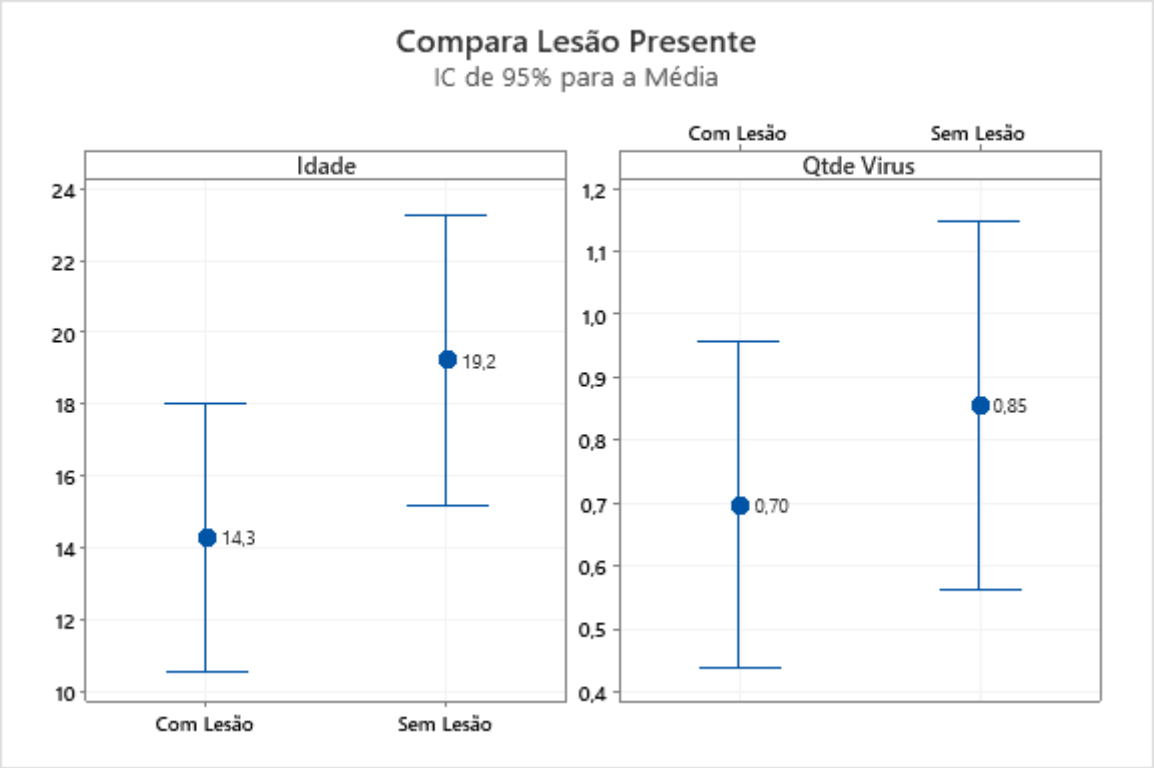

Gráfico 6: Compara Lesão Presente para Idade e HHV Presente.

6. DISCUSSÃO

Indígenas da etnia Yanomami são considerados populações isoladas das demais sociedades (30,31), o que faz com que algumas doenças ou microrganismos que causam doenças se manifestem de maneira diferente naquelas populações (18,19,22,90,93), o que pode acontecer as vezes de forma mais exacerbada, outras vezes de forma mais atenuada e algumas vezes de maneira diversa do que seria previsível para aquela condição em populações não indígenas(23,24). Os vírus nos mostram muitas dessas considerações, como os vírus HPV e HHV, mais especificamente os que provocam a hiperplasia focal epitelial (HEF), o herpesvírus associado ao sarcoma de Kaposi (KSVH) e o Epstein-Barr vírus (EBV) muito discutidos neste trabalho. O vírus da HEF se desenvolve muito bem nestas populações e tem expressão rara em não indígenas (8,11,13,45). O KSVH é um vírus cosmopolita, mas alguns estudo mostram maior prevalência em algumas populações especificas como os ameríndios e baixa prevalência em não indígenas(21,57). O EBV se desenvolve plenamente nas duas populações, porém, tem comprovadamente alta prevalência em não indígenas (5,27,62) e pouco estudado em indígenas, portanto, para o completo entendimento das manifestações das doenças e sua prevenção e controle, faz-se necessário a busca pelas respostas mais bem elucidadas e dentro das evidências científicas para se descobrir mecanismos alternativos de defesa contra essas doenças em comunidades indígenas.

Este estudo verificou a presença de HSV-1, EBV, HSV-1, HSV-2, CMV e HHV-8 na saliva de indivíduos da etnia Yanomami com ou sem lesão de HEF. O HSV-2 e o VZV não foram detectados em nenhuma amostra, enquanto o EBV foi detectado em 34,6% dos indivíduos, representando 41,7% dos indivíduos sem lesão de HEF e 24,2% dos indivíduos com lesão de HEF; o HHV-8 foi detectado em 11,1%, representando 12,5% dos indivíduos sem lesão e 9,1% dos indivíduos com lesão; para o HSV-1, 9,9% dos indivíduos foram positivos, representando 24,2% dos indivíduos com lesão e 0% dos indivíduos sem lesão; para o CMV, 8,6% foram acometidos representando 10,4% dos indivíduos sem lesão e 6,1% dos indivíduos com lesão; o HHV-6 acometeu 8,6% dos indivíduos, representando 14,6% dos indivíduos sem

lesão e 0% dos indivíduos com lesão; e o HHV-7 acometeu 6,2% dos indivíduos representando 6,3% dos indivíduos sem lesão e 6,1% dos indivíduos com lesão.

As informações a respeito da interferência desses vírus nas populações indígenas e suas doenças relacionadas são escassas (43,90) e o aumento de pesquisas, sobre o comportamento desses vírus nessas populações servirão como embasamento para o desenvolvimento de políticas públicas de saúde voltadas para capacitações de profissionais para detecção precoce, prevenção e tratamento de doenças e relaciona-las à uma possível malignização ou até mesmo a interferência na qualidade de vida destes indivíduos, o que atualmente não é feito de forma adequada para atendimento destes povos, que são mais vulneráveis e tem sido negligenciados por parte do poder público (25,90).

A lesão de HEF e as doenças potencialmente causadas pelo HHV, afetam de forma considerável populações indígenas e causam problemas de agravos em saúde e também funcionais e estéticos, sendo negligenciadas pela maioria dos profissionais de saúde que atendem essas populações, o que se dá muitas vezes pela barreira intercultural que impede esses profissionais de realizar uma investigação mais aprofundada (91) e outras vezes pelo desconhecimento sobre sua etiologia, transmissão e forma de tratamento, ou seja, pelo desconhecimento da História natural das doenças que afetam esses povos. Outro agravante é a rotatividade desses profissionais que faz com que a situação que já é precária de atendimento se torne ainda pior, pois quando começa a relação de confiança e troca de informações mais precisas entre os indígenas e os profissionais de saúde, estes resolvem pedir demissão, forçados pelas condições de trabalho precarizadas e não comuns de uma profissão e pela falta de oportunidade de se capacitar, pois estão longe dos centros de capacitação e sua entrada para as comunidades impede uma regularidade nos cursos de formação continuada tradicionais (91,92).

Em estudo feito com comunidades Waimiri-atroari na região central da Amazônia foi encontrada alta frequência de indivíduos acometidos pela hiperplasia focal epitelial com prevalência exata da doença desconhecida pela falta de estudo nesta etnia (36). Chama-se a atenção para o fato dessas comunidades serem livres do hábito de consumir bebidas alcoólicas, fumar e uso de chupetas pelas crianças, o que corrobora com o presente estudo pois as características da comunidade são semelhantes a encontrada nas comunidades Yanomamis, pois eles também vivem de

sua cultura e não sofrem tanta interferência dos hábitos da sociedade envolvente devido ao seu isolamento geográfico.

A maioria dos autores citam que a HEF ocorrem mais na infância (25,42,46), porém esses trabalhos não estabeleceram uma relação significativa dessas afirmações. No presente trabalho verificou-se que não existe diferença estatística na presença da lesão na infância (0 a 10 anos), na adolescência (11 a 20 anos) e na vida adulta (acima de 20 anos), porém verifica-se a tendência de um maior acometimento antes dos 20 anos de idade com regressão espontânea após essa faixa etária, isso pode ter acontecido talvez pelo tamanho da amostra, ou por serem menos prevalentes nessa etnia, ou até mesmo pelo fato de os adultos não se importarem tanto com o autocuidado e como são lesões assintomáticas, geralmente tendem a releva-las e não procurar o atendimento em saúde.

Poucos estudos na literatura testaram a prevalência dos herpesvírus neste tipo de população, um estudo mostrou alta prevalência (75,4%) para HHV-8 no soro de 517 ameríndios (94) o que vai contra esse estudo, com apenas 8 (11,1%) dos 81 indivíduos analisados que manifestaram o HHV-8 na saliva, levando-se ao despertar de uma dúvida quanto a prevalência alta em alguns ameríndios e em outros prevalência similar as populações não indígenas.

Em áreas endêmicas, há um aumento linear de HHV-8 antes da puberdade e discreto aumento na fase adulta (21), porém alguns estudos mostraram tendencia inversa a essa afirmação em indígenas da Amazonia Brasileira nos quais foram estudadas duas etnias isoladas (Tyriyó e Waiampi) e descobriu-se que há um aumento da soroprevalência para HHV-8 com o aumento da idade(85), o que corrobora com esse estudo, pois a maior soroprevalência para HHV-8 foi detectado na terceira década de vida.

O VZV não foi detectado em nenhuma das 81 amostras, talvez por ser um vírus que se perpetua ciclicamente em populações maiores e com maior contato que a população Yanomami e devido a efetividade das campanhas de vacinação em indígenas que foram estabelecidas em meados dos anos 2000 após surtos e mortes por esses vírus em comunidades indígenas (51), o que corrobora com este estudo em termos do isolamento e da vacinação dos indígenas Yanomami.

A primeira e segunda décadas de vida da população Yanomami estudada são as que apresentam indivíduos com maior número de lesões de HEF, porém com detecção de EBV baixa (8%), já os maiores índices de EBV foram encontrados na terceira década de vida (12,34%). A relação do desenvolvimento da HEF com a presença do EBV é rara e quando acontece, provavelmente está relacionada a imunossupressão dos indivíduos, pois são vírus oportunistas e altamente infectantes e os baixos valores mostra que é muito provável que seja ocasional (95). A presença do EBV em coinfecção com HPV está mais relacionada com desenvolvimento de câncer de nasofaringe e com HPV de alta possibilidade de malignização como o HPV 18 (77), o que sugere que o surgimento da HEF, que está mais relacionada aos HPV 13 e 32 (15,44,71), não depende de uma coinfecção entre os dois tipos de vírus, e, como o EBV é um vírus ubiquitário e possui sorologia em mais de 90% da população mundial (27,62). Estes dados nos mostra uma direção contraria nesta comunidade indígena, ou seja, o que se tem são baixos índices de contágio, pois essa população não foi tão afetada pelo EBV.

Em um estudo feito com 1140 mulheres de comunidades tribais com os nomes de Koraga, Marathi Naika e Malekudiya; e 1100 da população em geral (Distrito de Udupi) no Sul da Índia verificou-se alta prevalência de HPV (40,6% em indígenas vs. 14,3% em não indígenas); HSV (1,8% em indígenas vs. Nenhum em não-indígenas) e baixa prevalência de EBV (55,1% em indígenas vs. 74,2% em não indígenas) e CMV (49,5% em indígenas vs. 77,5% não indígenas) respectivamente, o que foi atribuído a menor renda, menor nível educacional, menores níveis de emprego, menor status socioeconômico e utilização de absorventes caseiros pelas mulheres tribais (96), porém, em contrapartida, os níveis mais estressantes de estilo de vida e a busca incessante pelo acumulo de bens materiais de pessoas vivendo nas cidades demonstram maiores níveis de marcadores da função imune como no caso dos anticorpos para Epstein-Barr vírus (96,97). Esses dados foram comparáveis aos mostrado neste trabalho, onde a prevalência de EBV e CMV foram baixas em relação ao que a literatura mostra em não indígenas possivelmente pelo qualidade de vida que é menos estressante e não se tem a motivação da vida voltada para obtenção de bens materiais e sim conservação do ambiente para continuar fornecendo a alimentação e moradia, em contrapartida e comparando-se com os não índios, tem-se um menor nível educacional nessas comunidades e compartilhamento de utensílios

de um modo geral com alta transmissibilidade para os HPV como os que provocam HEF.

A interessante e significativa relação entre a lesão de HEF, que está relacionada a um HPV, e os herpesvírus HSV-1 encontrada nesse trabalho e o fato de que não existem trabalhos com esta correlação na literatura, acendeu uma perspectiva a mais com relação a HEF. Na literatura há estudos que relatam a relação entre os HSV-1 e HPV relacionados ao desenvolvimento de malignização (49), porém não existem relatos com relação aos HPVs não relacionados com malignização de células como os que causam HEF, o que faz com que haja a reflexão de novos estudos para se descobrir como estes seres tão ínfimos e ao mesmo tempo tão complexos conseguem se associar para expoliar e sobreviver dentro de um organismo considerado quase intransponível como o corpo humano.

7. CONCLUSÃO

Houve forte relação de associação da HEF com o HSV-1. O HHV-8 prevalência diversa da relatada na literatura e as demais herpesviroses ocorreram de maneira semelhante à encontrada na literatura.

REFERÊNCIAS

1. Matta GC, Rego S, Souto EP, Segata J, organizadores. Os impactos sociais da Covid-19 no Brasil: populações vulnerabilizadas e respostas à pandemia. Série Informação para ação na Covid-19 | Rio de Janeiro. Fiocruz; 2021, 221p.

2. Ellwanger JH, Veiga ABG da, Kaminski V de L, Valverde-Villegas JM, Freitas AWQ de, Chies JAB. Control and prevention of infectious diseases from a One Health perspective. Genet Mol Biol. 2021;44(1 suppl 1):e20200256.

3. Tonoyan L, Vincent-Bugnas S, Olivieri CV, Doglio A. New Viral Facets in Oral Diseases: The EBV Paradox. Int J Mol Sci. 2019;20(23):5861.

4. Díaz de León-Martínez LD de, de la Sierra-de la Vega L, Palacios-Ramírez A, Rodriguez-Aguilar M, Flores-Ramírez R. Critical review of social, environmental and health risk factors in the Mexican indigenous population and their capacity to respond to the COVID-19. Sci Total Environ. 2020;733:139357.

5. Atyeo N, Rodriguez MD, Papp B, Toth Z. Clinical Manifestations and Epigenetic Regulation of Oral Herpesvirus Infections. Viruses. 15 de abril de 2021;13(4):681.

6. Syrjänen S. Oral manifestations of human papillomavirus infections. Eur J Oral Sci. outubro de 2018;126(S1):49–66.

7. Magalhães IM, Moysés N, Afonso LA, Oliveira LH. Comparação de dois pares de oligonucleotídeos utilizados na reação em cadeia da polimerase para detecção de papilomavírus humanos em esfregaços cervicais. 2008;20(2):93-98.

8. Leto M das GP, Santos Júnior GF dos, Porro AM, Tomimori J. Infecção pelo papilomavírus humano: etiopatogenia, biologia molecular e manifestações clínicas. An Bras Dermatol. 2011;86(2):306–17.

9. Gershon AA, Breuer J, Cohen JI, Cohrs RJ, Gershon MD, Gilden D, et al. Varicella zoster virus infection. Nat Rev Dis Primer. 2015;1(1):1–18.

10. Leite MS. Transformação e persistência: antropologia da alimentação e nutrição em uma sociedade indígena amazônica. Rio de Janeiro, RJ: Editora Fiocruz; 2007. 239 p. (Coleção Saúde dos povos indígenas).

11. Cuberos V, Perez J, Lopez CJ, Castro F, Gonzalez LV, Correa LA, et al. Molecular and serological evidence of the epidemiological association of HPV 13 with focal epithelial hyperplasia: A case-control study. J Clin Virol. setembro de 2006;37(1):21–6.

12. Gemigniani F, Hernández-Losa J, Ferrer B, García-Patos V. Focal epithelial hyperplasia by human papillomavirus (HPV)-32 misdiagnosed as HPV-16 and treated with combination of retinoids, imiquimod and quadrivalent HPV vaccine. J Dermatol. 2015;42(12):1172–5.

13. Archard HO, Heck JW, Stanley HR. Focal epithelial hyperplasia: An unusual oral mucosal lesion found in Indian children. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1965;20(2):201–12.

14. Bennett LK, Hinshaw M. Heck's Disease: Diagnosis and Susceptibility. Pediatr Dermatol. 2009;26(1):87–9.

15. Schwartz Z, Magro C, Nuovo G. The molecular-based differentiation of Heck's disease from its mimics including oral condyloma and white sponge nevus. Ann Diagn Pathol. 2019;43:1-6.

16. Stojanov IJ, Woo SB. Human papillomavirus and Epstein–Barr virus associated conditions of the oral mucosa. Semin Diagn Pathol. 2015;32(1):3–11.

17. Lima LRP, Silva AP da, Schmidt-Chanasit J, Paula VS de. Diagnosis of human herpes virus 1 and 2 (HHV-1 and HHV-2): use of a synthetic standard curve for absolute quantification by real time polymerase chain reaction. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2017;112(3):220–3.

18. Santos PP de A, Vasconcelos MG, Pereira KMA, Souza LB de, Freitas R de A, Costa A de LL, et al. Hiperplasia epitelial focal (doença de Heck) em descendente de índios brasileiros: relato de caso. J Bras Patol E Med Lab. 2007;43(6):431-4.

19. Hall C, McCullough M, Angel C, Manton D. Multifocal epithelial hyperplasia: a case report of a family of Somalian descent living in Australia. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology. 2010;109(1):e20–4.

20. Wu JSA, Florian MC, Rodrigues DA, Tomimori J. Skin diseases in indigenous population: retrospective epidemiological study at Xingu Indigenous Park (XIP) and review of the literature. Int J Dermatol. 2017;56(12):1414–20.

21. de Souza VAUF, Sumita LM, Nascimento M, Oliveira J, Mascheretti M, Quiroga M, et al. Human Herpesvirus-8 Infection and Oral Shedding in Amerindian and Non-Amerindian Populations in the Brazilian Amazon Region. J Infect Dis. 2007;196(6):844–52.

22. Gru AA, Jaffe ES. Cutaneous EBV-related lymphoproliferative disorders. Semin Diagn Pathol. 2017;34(1):60–75.

23. Melbye M, Ebbesen P, Bennike T. Infectious Mononucleosis in Greenland: A Disease of the Non-indigenous Population. Scand J Infect Dis. 1984; 16: 9-15.

24. Setoh JWS, Ho CKM, Yung CF, Tam C, Yelen, Tee NWS. Epstein-Barr Virus Seroprevalence and Force of Infection in a Multiethnic Pediatric Cohort, Singapore: Pediatr Infect Dis J. 2019;38(12):1173–6.

25. Zavala-Garcia A, Briceño-Mena R, Romero-Beltran L, Kelly GAF, Ceron-Espinosa J, Gonzalez- Losa MR. Focal Epithelial Hyperplasia Prevalence in an Endemic Population, Molecular Association of HPV-13 to Asymptomatic Patients and Comparison Between Three Elementary Schools of Different Income Levels. J Immunobiol. 2017;02(04):1227-31.

26. Martin JN, Ganem DE, Osmond DH, Page-Shafer KA, Macrae D, Kedes DH. Sexual Transmission and the Natural History of Human Herpesvirus 8 Infection. N Engl J Med. 1998;338(14):948–54.

27. Nowalk A, Green M. Epstein-Barr Virus. Microbiol Spectr. American Society for Microbiology Press. New York. 2015;4(3):DMIH2-0011

28. Guidry J, Birdwell C, Scott R. Epstein-Barr virus in the pathogenesis of oral cancers. Oral Dis. 2018;24(4):497–508.

29. Boaventura RM, Kussaba ST, Sendyk WR, Pallos D, Roman-Torres CVG. Oral and Periodontal Conditions of the Macuxi Ethnic Group. Iran J Public Health. 2022;51(1):205-206.

30. Roman-Torres CVG, Pallos D, Boaventura RM. Hábitos alimentares e de higiene oral dos índios de Roraima e sua relação com a condição bucal. Veredas Revista Interdisciplinar de Humanidades. 2020;3(6):44–59.

31. Pereira CB, Riesinger A, Riesinger AS, Mooneyj JB. Saúde periodontal, oclusão, desgaste e

outras características dentárias nos índios yanomamis - (aborígenes brasileiros). 1972;5(1):39-54.

32. Guimarães SMF. O sistema médico Sanumá-Yanomami e sua interação com as práticas biomédicas de atenção à saúde. Cad Saúde Pública. 2015;31(10):2148–56.

33. Akoğlu G, Metin A, Ceylan GG, Emre S, Akpolat D, Süngü N. Focal epithelial hyperplasia associated with human papillomavirus 13 and common human leukocyte antigen alleles in a Turkish family. Int J Dermatol. 2015;54(2):174–8.

34. Sethi S, Ali A, Ju X, Antonsson A, Logan R, Jamieson L. An update on Heck's disease—a systematic review. J Public Health. 2021;fdaa256.

35. Ledesma-Montes C, Mendez-Mendoza A. Unusually high incidence of multifocal epithelial hyperplasia in children of the Nahuatl population of Mexico. Indian J Dermatol Venereol Leprol. 2017;83(6):663-6.

36. dos Santos PJB, Bessa CFN, de Aguiar MCF, do Carmo MAV. Cross-sectional study of oral mucosal conditions among a central Amazonian Indian community, Brazil. J Oral Pathol Med. 2004;33(1):7–12.

37. Harris AMP, Wyk CW. Heck's disease (focal epithelial hyperplasia): a longitudinal study. Community Dent Oral Epidemiol. 1993;21(2):82–5.

38. Clausen FP, Møgeltoft M, Roed-Petersen B, Pindborg JJ. Focal epithelial hyperplasia of the oral mucosa in a south-west Greenlandic population. Eur J Oral Sci. 1970;78(1–4):287–94.

39. Henke RP, Milde-Langosch K, Löning T, Koppang HS. Human papillomavirus type 13 and focal epithelial hyperplasia of the oral mucosa: DNA hybridization on paraffin-embedded specimens. Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol. 1987;411(2):193–8.

40. Said AK, Leao JC, Fedele S, Porter SR. Focal epithelial hyperplasia - an update. J Oral Pathol Med. 2013;42(6):435–42.

41. Bennett LK, Hinshaw M. Heck's Disease: Diagnosis and Susceptibility. Pediatr Dermatol. 2009;26(1):87–9.

42. González-Losa MR, Suarez-Allén RE, Canul-Canche J, Conde-Ferráez L, Eljure-Lopez N. Multifocal epithelial hyperplasia in a community in the Mayan area of Mexico: Multifocal epithelial hyperplasia in Mexico. Int J Dermatol. 2011;50(3):304–9.

43. Bascones-Martínez A, Cok S, Bascones-Ilundáin C, Arias-Herrera S, Gomez-Font R, Bascones-Ilundáin J. Multifocal epithelial hyperplasia: A potentially precancerous disease? (Review). Oncol Lett. 2012;3(2):255–8.

44. Khanal S, Cole ET, Joh J, Ghim SJ, Jenson AB, Rai SN, et al. Human papillomavirus detection in histologic samples of multifocal epithelial hyperplasia: a novel demographic presentation. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2015;120(6):733–43.

45. Peixoto RF, De Araújo GM, De Araújo RM, Silvestre VD, De Medeiros AMC. Focal epithelial hyperplasia in a Brazilian family. Rev Fac Odontol - UPF. 2014;18(2):197-200.

46. Lopez-Villanueva ME, Conde-Ferráez L, Ayora-Talavera G, Cerón-Espinosa JD, González-Losa M del R. Human papillomavirus 13 in a Mexican Mayan community with multifocal epithelial hyperplasia: could saliva be involved in household transmission? Eur J Dermatol. 2011;21(3):396–400.

47. Jayasooriya P, Abeyratne S, Ranasinghe A, Tilakaratne W. Focal epithelial hyperplasia

(Heck's disease): report of two cases with PCR detection of human papillomavirus DNA. Oral Dis. 2004;10(4):240–3.

48. Cunningham AL, Taylor R, Taylor J, Marks C, Shaw J, Mindel A. Prevalence of infection with herpes simplex virus types 1 and 2 in Australia: a nationwide population based survey. Sex Transm Infect. 2006;82(2):164–8.

49. Guidry JT, Scott RS. The interaction between human papillomavirus and other viruses. Virus Res. 2017;231:139–47.

50. Wald A, Corey L. Persistence in the population: epidemiology, transmission. In: Arvin A, Campadelli-Fiume G, Mocarski E, et al., editors. Human Herpesviruses: Biology, Therapy, and Immunoprophylaxis. Cambridge: Cambridge University Press; 2007. Chapter 36.

51. Lafer MM, Moraes-Pinto MI de, Weckx LY. Prevalence of IgG varicella zoster virus antibodies in the Kuikuro and Kaiabi indigenous communities in Xingu National Park, Brazil, before varicella vaccination. Rev Inst Med Trop São Paulo. 2005;47(3):139–42.

52. Sampaio FC, Freitas CHS de M, Cabral MB de F, Machado AT de AB. Dental caries and treatment needs among indigenous people of the Potiguara Indian reservation in Brazil. Rev Panam Salud Pública. 2010;27(4):246–51.

53. Collin V, Flamand L. HHV-6A/B Integration and the Pathogenesis Associated with the Reactivation of Chromosomally Integrated HHV-6A/B. Viruses. 2017;9(7):1-14.

54. Pantry S, Medveczky P. Latency, Integration, and Reactivation of Human Herpesvirus-6. Viruses. 2017;9(7):1-12.

55. Flamand L. Chromosomal Integration by Human Herpesviruses 6A and 6B. Em: Kawaguchi Y, Mori Y, Kimura H, organizadores. Human Herpesviruses. Singapore: Springer Singapore; 2018;1045:209–26.

56. Yadav M, Umamaheswari S, Ablashi D. Antibody reactivity with two strains of human herpesvirus-6 in Malaysians. J Med Virol. 1991;33(4):236–9.

57. Ishak M de OG, Martins RN, Machado PRL, de Souza LLB, Machado LFA, Azevedo VN, et al. High diversity of HHV-8 molecular subtypes in the Amazon region of Brazil: Evidence of an ancient human infection. J Med Virol. 2007;79(10):1537–44.

58. Freitas RB, Freitas MR, Linhares AC. Prevalence of human herpesvirus 8 antibodies in the population of Belém, Pará, Brazil. Rev Inst Med Trop São Paulo. 2002;44(6):309–13.

59. Campisi G, Panzarella V, Giuliani M, Lajolo C, Di Fede O, Falaschini S, et al. Human papillomavirus: Its identikit and controversial role in oral oncogenesis, premalignant and malignant lesions (Review). Int J Oncol. 2007;30:813-823.

60. González-Duarte A, Zambrano-González E, Medina-Franco H, Alberú-Gómez J, Durand-Carbajal M, Hinojosa CA, et al. II. The Research Ethics Involving Vulnerable Groups. Rev Investig Clígongnica. 2019;71(4):217-225.

61. Lopez-Jornet P, Sanchez Perez A, Amaral Mendes R, Tobias A. Medication-related osteonecrosis of the jaw: Is autologous platelet concentrate application effective for prevention and treatment? A systematic review. J Cranio-Maxillofac Surg. 2016;44(8):1067–72.

62. Caves EA, Cook SA, Lee N, Stoltz D, Watkins S, Shair KHY. Air-Liquid Interface Method To Study Epstein-Barr Virus Pathogenesis in Nasopharyngeal Epithelial Cells. Damania B, organizador. mSphere. 2018;3(4):e00152-18.

63. Cohen JI. Epstein–Barr Virus Infection. N Engl J Med. 2000;343(12):1-12.

64. Flaitz CM, Hicks MJ. Molecular piracy: the viral link to carcinogenesis. Oral Oncol. 1998;34(6):448–53.

65. Marinho-Dias J, Ribeiro J, Monteiro P, Loureiro J, Baldaque I, Medeiros R, et al. Characterization of cytomegalovirus and epstein-barr virus infection in cervical lesions in Portugal: CMV and EBV Infection in Cervical Samples. J Med Virol. 2013;85(8):1409–13.

66. Kosuge H. HHV-6, 7 and their related diseases. J Dermatol Sci. 2000;22(3):205–12.

67. Falaki F, Amir Chaghmaghi M, Pakfetrat A, Delavarian Z, Mozaffari PM, Pazooki N. Detection of human papilloma virus DNA in seven cases of focal epithelial hyperplasia in Iran. J Oral Pathol Med. 2009;38(10):773–6.

68. Slots J, Saygun I, Sabeti M, Kubar A. Epstein-Barr virus in oral diseases. J Periodontal Res. 2006;41(4):235–44.

69. Contreras A, Zadeh HH, Nowzari H, Slots J. Herpesvirus infection of inflammatory cells in human periodontitis: Virally infected gingival cells. Oral Microbiol Immunol. 1999;14(4):206–12.

70. Hammerschmidt W, Sugden B. Epstein–Barr virus sustains Burkitt's lymphomas and Hodgkin's disease. Trends Mol Med. 2004;10(7):331–6.

71. Jiménez Aguilar SM, Rodríguez DL, Muñoz Estrada VF, Cázarez Salazar SG, Velarde Félix JS, Méndez Martínez RS. Great diversity of oncogenic human papillomaviruses is revealed in an outbreak of multifocal epithelial hyperplasia. J Am Acad Dermatol. 2019:1-8.

72. Roman CB, Sedano HO. Multifocal papilloma virus epithelial hyperplasia. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1994;77(6):631–5.

73. García-Corona C, Vega-Memije E, Mosqueda-Taylor A, Yamamoto-Furusho JK, Rodríguez-Carreón AA, Ruiz-Morales JA, et al. Association of HLA-DR4 (DRB1*0404) With Human Papillomavirus Infection in Patients With Focal Epithelial Hyperplasia. Arch Dermatol. 2004;140(10):1-5.

74. Jha HC, Verma SC. Editorial: Molecular and Cellular Interactions Between the Host and Herpesviruses. Front Cell Infect Microbiol. 2021;11:771331.

75. Kis A, Fehér E, Gáll T, Tar I, Boda R, Tóth ED, et al. Epstein-Barr virus prevalence in oral squamous cell cancer and in potentially malignant oral disorders in an eastern Hungarian population. Eur J Oral Sci. 2009;117(5):536–40.

76. Grenier G, Gagnon G, Grenier D. Detection of herpetic viruses in gingival crevicular fluid of patients suffering from periodontal diseases: prevalence and effect of treatment. :4.

77. Victória JMN, Guimarães ALS, da Silva LM, Kalapothakis E, Gomez RS. Polymerase chain reaction for identification of herpes simplex virus (HSV-1), cytomegalovirus (CMV) and human herpes virus-type 6 (HHV-6) in oral swabs. 2005;160(1):61–5.

78. Casper C, Krantz E, Selke S, Kuntz SR, Wang J, Huang M, et al. Frequent and Asymptomatic Oropharyngeal Shedding of Human Herpesvirus 8 among Immunocompetent Men. J Infect Dis. 2007;195(1):30–6.

79. Makielski KR, Lee D, Lorenz LD, Nawandar DM, Chiu YF, Kenney SC, et al. Human papillomavirus promotes Epstein-Barr virus maintenance and lytic reactivation in immortalized oral keratinocytes. Virology. 2016;495:52–62.

80. Jiang R, Ekshyyan O, Moore-Medlin T, Rong X, Nathan S, Gu X, et al. Association between human papilloma virus/Epstein-Barr virus coinfection and oral carcinogenesis. J Oral Pathol Med. 2015;44(1):28–36.

81. Barrett TM, Liebert MA, Eick GN, Ridgeway-Diaz JG, Madimenos FC, Blackwell AD, et al. Age-related patterns of cytomegalovirus antibodies accompanying Epstein-Barr virus co-infection. Am J Hum Biol. 2021;

82. Bennett JM, Glaser R, Malarkey WB, Beversdorf DQ, Peng J, Kiecolt-Glaser JK. Inflammation and reactivation of latent herpesviruses in older adults. Brain Behav Immun. 2012;26(5):739–46.

83. de Oliveira Lopes A, Spitz N, Martinelli KG, de Paula AV, de Castro Conde Toscano AL, Braz-Silva PH, et al. Introduction of human gammaherpesvirus 8 genotypes A, B, and C into Brazil from multiple geographic regions. Virus Res. 2020;276:197828.

84. Barrett L, Chen J, Dai L, Plaisance-Bonstaff K, Del Valle L, Qin Z. Role of Interleukin-1 Family Members and Signaling Pathways in KSHV Pathogenesis. Front Cell Infect Microbiol. 2020;10:587929.

85. Cunha AMG, Caterino-de-Araujo A, Costa SCB, Santos-Fortuna E, Boa-Sorte NCA, Gonçalves MS, et al. Increasing seroprevalence of Human herpesvirus 8 (HHV-8) with age confirms HHV-8 endemicity in Amazon Amerindians from Brazil. J Gen Virol. 2005;86(9):2433–7.

86. de Villiers EM, Neumann C, Le JY, Weidauer H, zur Hausen H. Infection of the oral mucosa with defined types of human papillomaviruses. Med Microbiol Immunol (Berl). 1986;174(6):287–94.

87. Jamiyan T, Nakazato Y, Kuroda H, Kojima M, Imai Y. Characteristic Histological Findings of Asymptomatic EBV-associated Lymphoproliferative Disorders in Tonsils. J Clin Exp Hematop. 2018;58(3):122–7.

88. Ikeda T, Kobayashi R, Horiuchi M, Nagata Y, Hasegawa M, Mizuno F, et al. Detection of lymphocytes productively infected with Epstein–Barr virus in non-neoplastic tonsils. Microbiology. 2000;81(5):1211–6.

89. Johnson G, Nelson S, Petric M, Tellier R. Comprehensive PCR-Based Assay for Detection and Species Identification of Human Herpesviruses. J Clin Microbiol. 2000;38(9):3274–9.

90. Wu JSA, Florian MC, Rodrigues DA, Tomimori J. Skin diseases in indigenous population: retrospective epidemiological study at Xingu Indigenous Park (XIP) and review of the literature. Int J Dermatol. 2017;56(12):1414–20.

91. Da Silva EC, E Silva NCD de L, Café LA, De Almeida PMO, De Souza LN, Da Silva AD. Dificuldades vivenciadas pelos profissionais de saúde no atendimento à população indígena. Rev Eletrônica Acervo Saúde. 2021;13(1):e5413.

92. Santos LFR dos, Maurício H de A, Lins F de M, Silva IKS da, Moreira R da S. Formação ampliada durante residência multiprofissional em saúde: relato de experiência de um cirurgião-dentista com o povo Xukuru do Ororubá (Pernambuco/Brasil). Interface - Comun Saúde Educ. 2021;25:e200549.

93. Leite MS. Transformação e persistência: antropologia da alimentação e nutrição em uma sociedade indígena amazônica. Rio de Janeiro, RJ: Editora Fiocruz; 2007. 239 p. (Coleção Saúde dos povos indígenas).

94. Borges JD, Souza VAUF, Giambartolomei C, Dudbridge F, Freire WS, Gregorio SA, et al. Transmission of Human Herpesvirus Type 8 Infection Within Families in American Indigenous

Populations From the Brazilian Amazon. J Infect Dis. 2012;205(12):1869–76.

95. Arbelo-Ramos N, Anderson K, Joshi A, Wieland C, Tyring S, Rady P, et al. Heck's disease occurring after Epstein-Barr virus-associated smooth muscle tumors in an immunosuppressed child. Pediatr Dermatol. 2021;38(1):257–9.

96. Ghosh S, Shetty RS, Pattanshetty SM, Mallya SD, Pandey D, Kabekkodu SP, et al. Human papilloma and other DNA virus infections of the cervix: A population based comparative study among tribal and general population in India. Bhargava M, organizador. Plos One. 2019;14(6):e0219173.

97. Sorensen MV, Snodgrass JJ, Leonard WR, McDade TW, Tarskaya LA, Ivanov KI, et al. Lifestyle incongruity, stress and immune function in indigenous Siberians: The health impacts of rapid social and economic change. Am J Phys Anthropol. 2009;138(1):62–9.

ANEXO 1 – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA

PlataForma Brasil

PARECER CONSUBSTANCIADO DA CONEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Estudo das condições bucais em populações indígenas no Estado de Roraima
Pesquisador: CAIO VINICIUS GONÇALVES ROMAN TORRES
Área Temática: Estudos com populações indígenas;
Versão: 5
CAAE: 60086116.2.0000.0081
Instituição Proponente: Universidade de Santo Amaro - UNISA
Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.998.028

Apresentação do Projeto:
INTRODUÇÃO
A população indígena, assim como a não indígena, vem sendo assolada por doenças orais no decorrer da sua história. Dentro da população de um modo geral, as doenças periodontais exibem grande expressividade, elas aparecem como as doenças crônicas mais comuns, porém, na população indígena verifica-se certa invisibilidade epidemiológica. Nesta população, há uma escassez nos estudos, alguns destes mostram que as maiores prevalências de perdas do nível de inserção e de profundidade de sondagem ocorrem em indivíduos com idade mais avançada e que eles são acometidos de doenças periodontais leves e moderadas sendo pouco acometidos com doenças periodontais severas, outros autores, relacionam o surgimento destas doenças de maneira intrínseca, por motivos socioeconômico-culturais, ou pelo contato com civilizações não indígenas. Baseado na explicação da teoria do estreito de Behring, os povos indígenas são os habitantes mais antigos presentes nas Américas de que se tem notícia, eles estão presentes em todo continente americano sendo que sua predominância ocorre principalmente na América do Sul, na qual está incluído o Brasil, e dentro deste, a região norte do país. O estado de Roraima possui uma imensa faixa de terras de preservação destinadas à cultura destes povos. Dentre os povos indígenas que habitam este estado estão as etnias: Yanomami, Wapichana, Macuxi, Ingaricó, Patamona, Taurepang, Yecuana, Wai-Wai, Waimiri-atroari, assim como outras etnias que migram

em busca de melhores condições de vida, compondo um mosaico extremamente heterogêneo e notável do ponto de vista étnico, léxico, suas formas de organização social, expressões culturais, vida produtiva, história do contato e grau de interação com a sociedade nacional. No campo da saúde estão agrupados em duas grandes unidades de responsabilidade sanitária federal denominada Distrito Sanitário Especial Indígena (DSEI), vinculados à Secretaria Especial de Saúde Indígena (SESAI) do Mistério da Saúde do Governo Federal. Todas as etnias dos dois DSEI, conta com uma população escasseada de indivíduos principalmente pelo longo contato histórico com os não índios, o que pressupõe ter alastrado doenças, levando, à necessidade de atenção diferenciada de intervenções na saúde destes povos para minimizar os efeitos devastadores que ocorreram com estas populações ao longo dos anos. Mesmo neste contexto organizacional de assistência básica à saúde, ainda há outros agravantes como a própria região geográfica em que se encontram as comunidades indígenas, dificultando o acesso do atendimento na comunidade, ficando a mesma, sem a devida atenção continuada à saúde bucal, deixando-a vulnerável apenas aos atendimentos eletivos por demanda espontânea, quando o indígena procura o atendimento nas referências do sistema, por consequência, ocorre a protelação do atendimento, agravando ainda mais o quadro de doenças orais como cáries e doença periodontal. Poucas são as literaturas abordadas referentes a ocorrência de doenças bucais em comunidades indígenas, particularmente nas populações com pouco grau de contato com comunidades não indígenas como acontece com os povos indígenas do estado de Roraima. Considerando a grande expressividade da população indígena no estado de Roraima, a ampla diversidade entre estes povos e ainda se esta dessemelhança poderia refletir nas condições bucais destes povos, este estudo tem como objetivo, investigar por meio de exame clínico e análise estatística as condições periodontais da população indígena adstrita na CASAI (Casa de Saúde Indígena) do estado de Roraima, identificando a severidade, extensão e prevalência da doença periodontal, desgaste oclusal e CPO-D como forma de subsidiar as ações básicas de saúde bucal proporcionando levantamentos epidemiológicos para elaboração do plano operacional naquela região.

HIPÓTESE

Populações indígenas que moram mais próximos a unidades de assistência odontológica possuam condições de saúde oral melhores dos que moram em regiões mais afastadas destes centros de atendimento.

METODOLOGIA

O presente projeto foi submetido à anuência da Coordenação do Distrito Sanitário Especial Indígena Yanomami, da presidência do CONDISI e da chefia da CASAI. Serão avaliados cerca de 200 indígenas adstritos da CASAI das etnias supracitadas, de ambos os gêneros e com idade entre 17 e 70 anos, com participação voluntária e mediante a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido do mesmo ou do seu responsável. A pesquisa será realizada na CASAI localizada no Município de Boa Vista, Estado de Roraima, durante o período de 6 meses, com permanência dos avaliadores em dias programados e agendados. A metodologia do levantamento de dados se baseará no levantamento SB Brasil 2010: Pesquisa Nacional de Saúde Bucal, com o objetivo de assegurar a uniformidade de interpretação dos critérios coleta de dados e resultados para as diversas condições observadas. Os parâmetros clínicos que serão avaliados são os de Profundidade de Sondagem (PS), Nível Clínico de Inserção (NCI), Índice de Placa (IP), Índice de Sangramento (IS), Classificação de Desgaste Dental e Índice de Dentes Cariados, Perdidos e Obturados (CPO-D); A coleta de dados será feita com formulário padrão e com bandeja clínica composta por sonda, espelho bucal, pinça clínica e sonda periodontal milimetrada. Os seguintes critérios de exclusão: Indivíduos que tenha realizado tratamento odontológico nos últimos 6 meses; Indivíduos submetidos a antibioticoterapia nos últimos 6 meses; necessidade de medicação para avaliação clínica. Os examinadores serão previamente calibrados por meio de mensurações dos parâmetros clínicos periodontais e comparados intra-examinador e inter-examinador pelos testes erro padrão da medida e teste de Kappa (k>0,8).Os dados obtidos serão tabulados e receberão tratamento estatístico adequado (p<0,05).

Desfecho Primário:
Os indivíduos com melhor acesso aos programas de saúde bucal realizados pela Secretaria de Saúde terão melhores condições bucais.

Desfecho Secundário:
Os indivíduos mais velhos apresentarão piores condições bucais.

CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO
- Indivíduos que tenha realizado tratamento odontológico nos últimos 6 meses;
- Indivíduos submetidos a antibioticoterapia nos últimos 6 meses;
- Necessidade de medicação para avaliação clínica.

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo do presente estudo observacional transversal será avaliar as condições bucais de indígenas do estado de Roraima, comparando hábitos e condições de higiene em cada etnia avaliada.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

RISCOS

O exame clínico que será realizado é imprescindível para determinar o diagnóstico periodontal. O exame clínico consiste na sondagem dos dentes e quando há presença de inflamação pode acontecer leve desconforto e por vezes sangramento que deverá cessar em poucos segundos; assim que relatado ao pesquisador qualquer necessidade do paciente o exame será imediatamente interrompido para solução da sintomatologia relatada.

BENEFÍCIOS

Os indivíduos examinados terão acesso a informações de higiene bucal, e terão um mapeamento das condições bucais e orientação quanto aos tratamentos necessários e onde e como realizar.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Vide item "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Vide item "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

Recomendações:

Vide item "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

RESPOSTA AO PARECER CONSUBSTANCIADO CONEP Nº 1.858.541

1. Quanto ao Termo de Consentimento Livre e Esclarecido intitulado "TCLEINDIOSOF.doc":
RESPOSTA: O TCLE foi ajustado;
ANÁLISE: Pendência Atendida

1.1 O TCLE esta redigido em forma de declaração. Solicita-se que o TCLE seja redigido EM FORMA DE CONVITE, uma vez que se entende por processo de Consentimento Livre e Esclarecido todas as etapas a serem necessariamente observadas para que o convidado a participar de uma pesquisa possa se manifestar, de forma autônoma, consciente, livre e esclarecida (item IV da Resolução CNS

nº 466 de 2012).
RESPOSTA: O TCLE foi redigido em forma de convite;
ANÁLISE: Pendência Atendida

1.2 Solicita-se que os procedimentos adotados estejam explicitados de forma menos sintética no TCLE (Resolução CNS n° 466 de 2012 item IV.3.a).
RESPOSTA: Os procedimentos a serem realizados foram explicitados;
ANÁLISE: Pendência Atendida

1.3 Na página 1 de 3, lê-se: "Benefícios para o participante: Diagnóstico bucal e conhecimento das doenças bucais que poderão estarem presentes. Tratamento odontológico parcial ou total na clínica de Odontologia da Faculdade Cathedral - RR.". Solicita-se apresentar anuência do gestor da clínica de Odontologia da Faculdade Cathedral – RR para realização do tratamento mencionado.
RESPOSTA: Foi anexado documento de anuência da clínica onde poderão ter atendimento os envolvidos no estudo;
ANÁLISE: Pendência Atendida

2. Considerando que foi mencionado no TCLE que será fornecido o tratamento parcial ou total, solicita-se esclarecer como e onde será realizado este tratamento.
RESPOSTA: Foi determinado onde deverá ser realizado tratamento quando necessário.
ANÁLISE: Pendência Atendida

Considerações Finais a critério da CONEP:
Diante do exposto, a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - Conep, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS nº 466 de 2012 e na Norma Operacional nº 001 de 2013 do CNS, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto.

Situação: Protocolo aprovado.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_P	05/03/2017		Aceito

Básicas do Projeto	ETO_733033.pdf	11:37:31		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEINDIOSof1.docx	05/03/2017 11:32:43	CAIO VINICIUS GONÇALVES ROMÁN TORRES	Aceito
Recurso Anexado pelo Pesquisador	respostasdasconsideracoesCONEP.docx	25/02/2017 18:32:34	CAIO VINICIUS GONÇALVES ROMÁN TORRES	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	AnuenciaCathedral.pdf	25/02/2017 18:31:58	CAIO VINICIUS GONÇALVES ROMÁN TORRES	Aceito
Declaração de Pesquisadores	cartapesquisaCASAI.pdf	17/10/2016 15:51:25	CAIO VINICIUS GONÇALVES ROMÁN TORRES	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	parecerCONDISI.pdf	18/09/2016 17:31:44	CAIO VINICIUS GONÇALVES ROMÁN TORRES	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	parecerCaloRTorres.pdf	18/09/2016 17:31:06	CAIO VINICIUS GONÇALVES ROMÁN TORRES	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoIndiosof.docx	18/09/2016 17:29:41	CAIO VINICIUS GONÇALVES ROMÁN TORRES	Aceito
Folha de Rosto	folhaderostoCAIOROMANTORRES.pdf	18/09/2016 17:25:27	CAIO VINICIUS GONÇALVES ROMÁN TORRES	Aceito

Situação do Parecer:
Aprovado

BRASILIA, 03 de Abril de 2017

Assinado por:
Jorge Alves de Almeida Venancio
(Coordenador)

ANEXO 2 – **TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Este TCLE deverá ser lido na frente de testemunha imparcial, sem envolvimento direto com o projeto de pesquisa.

PROJETO: Estudo das condições bucais em populações indígenas no Estado de Roraima

Estes esclarecimentos estão sendo apresentados para solicitar sua participação livre e voluntária, no projeto **Avaliação clínica e microbiana de técnica de desinfecção total de boca em indivíduos com periodontite crônica**, do Curso de Odontologia da Universidade de Santo Amaro - UNISA, que será realizado pelos pesquisadores Caio Vinicius Gonçalves Roman Torres, Sergio Takashi Kussaba e Richardson Mondego Boaventura.

Justificativa: Para um propósito de estudo específico em uma determinada região ou população faz necessário o conhecimento deste território e suas populações adstritas. Considerando as poucas literaturas abordadas referentes a ocorrência de doenças bucais em comunidades indígenas, particularmente nas populações do estado de Roraima, na sua grande maioria encontram-se distantes do acesso assistencial preconizado no SUS, e ainda, considerando a grande representatividade desta população indígena no estado de Roraima com sua ampla diversidade entre eles e que todas essas condições possam refletir diretamente na saúde bucal destas populações, propusemos este estudo das condições bucais nesta população com intuito que os resultados obtidos subsidiará as ações básicas de saúde bucal proporcionando levantamentos epidemiológicos para elaboração do plano operacional naquela região, tendo uma grande expressividade para literatura regional.

Objetivo principal: Investigar por meio de exame clínico e análise estatística as condições periodontais da população indígena adstrita na CASAI (Casa de Saúde Indígena) do estado de Roraima, identificando a severidade, extensão e prevalência da doença periodontal, desgaste oclusal e CPO-D.

Descrição dos Procedimentos:

Identificação do paciente, Preenchimento da ficha (anamnese), Exame clínico intrabucal, Encaminhamento do paciente para tratamento odontológico

Possíveis riscos e desconfortos: nenhum risco diante dos procedimentos que deverão ser realizados, o exame clínico consiste da sondagem dos dentes, pode gerar leve desconforto e assim que relatado ao pesquisador o exame será imediatamente interrompido para solução da sintomatologia relatada.

Benefícios para o participante: Diagnóstico bucal e conhecimento das doenças bucais que poderão estarem presentes. Tratamento odontológico parcial ou total na clínica de Odontologia da Faculdade Cathedral - RR.

É garantido o acesso, em qualquer etapa do estudo, aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas ou informações sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores.

É garantido o acesso, em qualquer etapa do estudo, aos profissionais responsáveis pela pesquisa para **esclarecimento de eventuais dúvidas ou informações** sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores.

O pesquisador responsável é o Prof. Caio Vinicius Gonçalves Roman Torres, que pode ser encontrado no endereço Rua Prof. Enéas de Siqueira Neto, 340, Jardim das Imbuías, SP, Telefone(s) 011 2141-8502. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP-UNISA) – Rua Prof. Enéas de Siqueira Neto, 340, Jardim das Imbuías, SP – Tel.: 2141-8687, os pesquisadores responsáveis pela coleta serão Sergio Takashi Kussaba e Richardson Mondego Boaventura que poderão ser imediatamente contatados nos endereços: Via das Flores, 1813- Pricumã. Roriama - RR (95) 36284255, e Rua Freijó, 383 – Paraviana. (95) 3624 8817 Roraima – RR.

É **garantida sua liberdade da retirada de consentimento** a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de qualquer benefício que você tenha obtido junto à Instituição, antes, durante ou após o período deste estudo. As informações obtidas pelos pesquisadores serão analisadas em conjunto com as de outros participantes, **não sendo divulgada a identificação** de nenhum deles.

Não há **despesas pessoais** para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há **compensação financeira** relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa. Em caso de dano pessoal, diretamente relacionado aos procedimentos deste estudo (nexo causal comprovado), a qualquer tempo, fica **assegurado ao participante o respeito a seus direitos legais**, bem como procurar obter **indenizações** por danos eventuais.

Uma via deste Termo de Consentimento ficará em seu poder.

Boa Vista,____/____/_____

_____
Prof. Dr. Caio Vinicius Gonçalves Roman Torres

Se você concordar em participar desta pesquisa assine no espaço determinado abaixo e coloque seu nome e o nº de seu documento de identificação.

Impressão dactiloscópica

_____
Nome:..... ..... Doc.

Identificação:.....

Declaro(amos) que obtive(mos) de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste participante (ou do representante legal deste participante) para a participação neste estudo, conforme preconiza a Resolução CNS 466, de 12 de dezembro de 2012, IV.3 a 6.

Assinatura do pesquisador responsável pelo estudo Data / /

ANEXO 3 - TABELA 1 – INDIVÍDUOS COM E SEM LESAO SEUS NÚCLEOS FAMILIARES

ordem numerica	família letra do alfabeto	nome	idade	Gênero	Lesão presente	Se já teve a lesão
1	A	KARINA	35	F	S	
2	A	TINILSON	13	M	S	
3	A	FILHO DE KARINA	5	M	S	
1	B	MAMALASI SARUMA	33	F	N	?
2	B	TARCISO SARUM	12	M	S	
3	B	EDUARDO SARUMA	15	M	N	?
4	B	HELENA SARUMA	5	F	N	N
5	B	RAMON SARUMA	4	M	N	N
6	B	DAVINE SARUMA	8	F	N	N
7	B	HELIO SARUMA	31	M	N	S
1	C	SARA	27	F	N	N
2	C	JONATAN	9	M	S	
3	C	SCHEILA	4	F	N	N
4	C	ABRAIN	6	M	N	N
5	C	MISAEL	11	M	N	N
6	C	HUTI	32	M	N	N
1	D	SUZI SANUMA	22	F	N	N
2	D	MASAKANI SANUMA	28	M	N	?
3	D	DEMIR SANUMA	12	M	S	
4	D	ALISA PESEA	20	F	N	?
5	D	CARLOS BERTO	11	M	S	
6	D	SARASOMA	56	F	N	?
1	E	ALMEIDA	9	M	S	
2	E	SONIA	34	F	S	
3	E	AGENOR	47	M	N	N
4	E	BRANCO	18	M	N	N
5	E	GILDENBERG	12	M	S	
6	E	ADRIELE	15	F	N	N
7	E	ALVINO	21	M	N	N
1	F	MARIANA SANUMA	29	F	S	
2	F	DAVI SANUMA	34	M	N	?
3	F	JEMILI SANUMA	5	F	S	
1	G	NAIME	10	F	S	
2	G	AMAHIMA	36	F	S	
3	G	FILHO AMAHIMA	4	M	N	N
4	G	FILHA AMAHIMA	6	F	S	
5	G	MIRIAM	13	F	S	
6	G	JAIR	43	M	S	
1	H	ALALISOMA SANUMA	34	F	S	

2	H	MARCELINHO	15	M	N	
3	H	PITALHO	12	M	N	?
4	H	KOLENA	6	F	S	
5	H	MARISA	4	F	S	
6	H	AURELIO	9	M	S	
1	I	INES CONSOLTA	11	F	S	
2	I	DIONISIA	14	F	N	N
3	I	GRACIONE	4	M	N	N
4	I	RUAPIRIMA	32	F	N	N
1	J	SUBILITA SANUMA	8	F	S	
2	J	SIKOISOMA	26	M	N	?
3	J	MOZARILDO	4	M	N	N
4	J	TUSIRENE	12	F	N	N
5	J	LIKSON	14	M	S	
1	L	NEUSA	37	F	N	?
2	L	GERSON	11	M	N	N
3	L	ROMERI	5	M	S	
1	N	ALEX RAIMUNDO	47	M	N	?
2	N	TAILANE SANUMA	11	F	N	?
3	N	MARINIO	15	F	N	?
4	N	MARLINDO	16	M	N	N
5	N	ADIMEU	9	M	N	N
6	N	ARLENE	8	F	N	N
7	N	JUNILSON	4	M	N	N
8	N	RODRIGO	19	M	N	N
9	N	ELIZABETE	26	F	N	N
10	N	WALALOMA	48	F	N	?
11	N	EDIVALDO	13	M	S	
12	N	RAFAEL	21	M	N	N
13	N	ROGERO	8	M	N	N
14	N	HOMASIO	10	M	N	N
1	P	MADALENA RODRIGUES	47	F	N	?
2	P	NIRE	8	M	S	
3	P	ELISEO	5	M	N	N
4	P	ELISSANDRO	2	M	N	N
5	P	MARILEIA ESPERANÇA	18	F	N	N
6	P	ADRIANO	14	M	S	
7	P	INDIRA	11	F	S	
8	P	CATIUSCA	10	F	S	
1	R	GEOVANI	13	M	S	
1	T	FABIANO	8	M	S	
1	V	MICHEL	9	M	S	