



**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO GONÇALO MONIZ**

**Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina
Investigativa**

TESE DE DOUTORADO

**TAXA DE INFECÇÃO DO VÍRUS LINFOTRÓPICO DE CÉLULAS T HUMANAS
(HTLV), VÍRUS DA HEPATITE C (HCV), COINFECÇÃO HTLV/HCV NO ESTADO
DA BAHIA E IMPACTO DA COINFECÇÃO HTLV/HCV NO PERFIL DE
CITOCINAS.**

FELICIDADE MOTA PEREIRA

**Salvador - Bahia
2019**

**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO GONÇALO MONIZ**

**Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina
Investigativa**

**TAXA DE INFECÇÃO DO VÍRUS LINFOTRÓPICO DE CÉLULAS T HUMANAS
(HTLV), VÍRUS DA HEPATITE C (HCV), COINFECÇÃO HTLV/HCV NO ESTADO
DA BAHIA E IMPACTO DA COINFECÇÃO HTLV/HCV NO PERFIL DE
CITOCINAS.**

FELICIDADE MOTA PEREIRA

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa para a obtenção do grau de Doutor.

Orientadora: Prof. Dra. Maria Fernanda Rios Grassi

**Salvador - Bahia
2019**

* COINFECÇÃO ENTRE O VÍRUS LINFOTRÓFICO DE CÉLULAS T HUMANAS (HITLV) E O VÍRUS DA HEPATITE C (HCV) NO ESTADO DA BAHIA.*

FELICIDADE MOTA PEREIRA

FOLHA DE APROVAÇÃO

Salvador, 18 de setembro de 2019.

COMISSÃO EXAMINADORA



Dra. Maria Aparecida Araújo Figueredo
Professora Adjunta
UNEB



Dr. Guilherme de Sousa Ribeiro
Pesquisador
IGM/FIOCRUZ



Dra. Fabiana Márcia Maranhão Itatiaia
Médica pesquisadora
UFBA

FONTES DE FINANCIAMENTO

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

AGRADECIMENTOS

Eis que se conclui mais uma etapa da minha vida e é necessário agradecer aqueles que estiveram ao meu lado nesta caminhada.

À Deus, pela minha vida, pela força, fé, perseverança e resistência para concluir este trabalho.

Um agradecimento especial a minha orientadora Dra. Maria Fernanda Grassi pelo aceite em me orientar, pela confiança, apoio, incentivo, amizade, estímulo, pelas conversas no decorrer deste trabalho, ensinamentos e paciência. Levarei comigo seu exemplo de mulher, amiga e profissional.

A Prof. Maria da Conceição Chagas de Almeida pela colaboração nas análises do banco de dados.

Ao Dr. Fred Luciano Neves Santos pela colaboração nas análises dos dados e elaboração das figuras.

Ao Prof. Pablo Ivan Pereira Ramos pela colaboração nas análises das citocinas.

A Roberto Perez Carrero pela colaboração na formatação do banco de dados.

Ao Prof. Carlos Antônio de Souza Teles Santos pela colaboração na análise do banco de dados

Ao Prof. Ajax Atta e Isabela Oliveira do laboratório LAPIM da Faculdade de Farmácia – UFBA pelo apoio e colaboração técnica nas análises de citocinas.

A Dra. Monique Lírio Cantharino de Carvalho, Infectologista, pela colaboração na coleta dos dados clínicos dos indivíduos da pesquisa.

Ao Dr. Marcelo Costa Silva, Hepatologista, pela colaboração na coleta dos dados clínicos dos indivíduos da pesquisa.

Ao Dr. Fabio Carneiro Vosqui Nascimento, Hepatologista, pela colaboração na coleta dos dados clínicos dos indivíduos da pesquisa.

À Coordenação de Ensino do IGM pela atenção e cordialidade.

Aos Professores e Alunos da Pós-Graduação pela convivência e ensinamentos.

Aos Funcionários da Biblioteca, pela atenção e cordialidade no atendimento, em particular a Bibliotecária Sra. Ana Maria Fiscina Vaz Sampaio.

Aos Funcionários do IGM pela atenção e cordialidade, principalmente aos funcionários do LASP pela eficiência e prontidão em servir.

Aos Colegas do LASP pela convivência, dicas e aprendizado.

A Jean Rios Novaes Silva, estudante de Iniciação Científica, pela colaboração na coleta dos dados laboratoriais dos indivíduos da pesquisa.

A Dra. Rosane Maria Magalhães Martins Will, ex diretora do LACEN/BA, que na sua gestão apoiou o início do projeto e me incentivou a realizar este curso.

A Dra. Maria Alice S. Zarife pela incentivo e confiança.

As colegas do laboratório de Biologia Molecular do LACEN, Amália Chagas, Alba Souza, Maria Tereza Pereira, Eline Pimentel e Haydée Lordelo pela atenção, apoio e colaboração na separação e guarda das amostras do projeto.

À minha família que é a base de tudo que sou hoje, pelos valores, incentivo, apoio, força e encorajamento.

Aos meus queridos amigos que sempre torceram por mim e que me influenciaram positivamente ao longo da minha vida. Sei que mesmo não sendo citados nominalmente aqui, estão felizes por ver mais uma etapa da minha vida concluída.

Ao LACEN/BA pelas oportunidades e o apoio a esta pesquisa.

“O Senhor não olha tanto a grandeza das nossas obras. Olha mais o amor com que são feitas.”

Santa Teresa de Ávila.

PEREIRA, Felicidade Mota. Taxa de infecção do vírus linfotrópico de células T humanas (HTLV), vírus da hepatite C (HCV), coinfeção HTLV/HCV no estado da Bahia e impacto da coinfeção HTLV/HCV no perfil de citocinas. 2019. 152 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa) – Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, 2019.

RESUMO

INTRODUÇÃO: Os vírus linfotrópico de células T humanas (HTLV) e vírus da hepatite C (HCV) são endêmicos no Brasil. Ambos causam uma infecção persistente, assintomática em alguns casos, sendo o diagnóstico tardio. Estes vírus compartilham algumas vias de transmissão, o que pode favorecer a coinfeção. **OBJETIVOS:** Determinar a taxa de infecção do HTLV, HCV e coinfeção HTLV/HCV no estado da Bahia. Descrever o perfil de citocinas inflamatórias nos indivíduos coinfectados com HTLV/HCV. **MÉTODOS:** Um estudo retrospectivo ecológico foi conduzido usando o banco de dados do LACEN – Bahia. Todos os testes sorológicos para HTLV e HCV foram selecionados entre as 32 microrregiões da Bahia, no período de 2004 a 2013, constituindo um banco com 602.908 registros únicos. Para a avaliação imune, foram selecionados prospectivamente amostras de 31 indivíduos coinfectados HTLV/HCV e de 27 indivíduos monoinfectados com HCV, recebidas no LACEN para quantificar a carga viral do HCV no período de 2014 a 2016. Foram analisadas as citocinas IFN- γ , TNF- α , IL-10, IL-8 e IL-1. O grupo controle foi formado por 30 indivíduos sadios.

RESULTADOS: Foram avaliadas 233.876 amostras para o diagnóstico laboratorial do HTLV. Destas, 1.813 (91,7%) foram positivas para HTLV-1 (prevalência de 0,78%), 58 (2,9%) para HTLV-2 (prevalência de 0,025%) e 107 (5,4%) foram positivas para ambos HTLV-1 e HTLV-2 (prevalência de 0,05%). A taxa de infecção na Bahia foi 0,84% (14,4 casos /100.000 habitantes). A infecção pelo HTLV foi predominante em mulheres (75%) com média de idade de 46 anos. Foram identificados três novos clusters do HTLV, localizados nas regiões Sul, Central e Oeste do estado. Amostras de 247.837 indivíduos foram avaliadas para o diagnóstico laboratorial do HCV. A taxa de infecção do HCV foi de 1,3% que corresponde a 21,2 casos/ 100.000 habitantes. Os homens com idade acima de 55 anos foram os mais acometidos. A cidade de Ipiaú apresentou a maior taxa de infecção para o HCV (112,04 casos/100.000 habitantes). Os genótipos 1 e 3 foram mais prevalentes, seguidos dos genótipos 2, 4 e 5. Para determinar a taxa de coinfeção entre HTLV e HCV amostras de 120.192 indivíduos foram avaliados. A taxa de infecção do HTLV/HCV foi de 14,3% que equivale a 2,8 casos/100.000 habitantes. Os casos de coinfeção HTLV/HCV predominou em homens com média de idade de 59 anos. As maiores taxas foram encontradas em três microrregiões: Salvador, Ilhéus-Itabuna e Porto Seguro. Quanto ao perfil de citocinas, o grupo coinfectados HTLV/HCV teve uma maior tendência a produzir IFN- γ , comparado ao grupo monoinfectado HCV. Houve uma correlação positiva entre os pares IL-1 e IL-8 no grupo coinfectado pelo HTLV/HCV e entre os pares IL-8 - IL10 e INF- γ - IL-10 no grupo monoinfectado pelo HCV. **CONCLUSÕES:** As infecções pelo HTLV e HCV estão disseminadas nas microrregiões do estado Bahia, no entanto a coinfeção HTLV/HCV está concentrada em apenas três microrregiões. A coinfeção HTLV/HCV está associada à produção de IFN- γ , enquanto indivíduos infectados pelo HCV apresentaram correlação positiva entre as citocinas inflamatórias (IL-8 e IFN- γ) e a citocina reguladora IL-10.

Palavras-chave: HTLV, HCV, Coinfeção, Hepatite Viral, Citocinas.

PEREIRA, Felicidade Mota. Infection rate of Human T-cell lymphotropic virus (HTLV), hepatitis C virus (HCV), HTLV / HCV coinfection in state of the Bahia and impact of HTLV / HCV coinfection on cytokine profile. 2019. 152 f. Thesis (Doctorate in Biotechnology in Health and Investigative Medicine) - Gonçalo Moniz Institute, Oswaldo Cruz Foundation, Salvador, 2019.

ABSTRACT

BACKGROUND: The human T-lymphotropic virus (HTLV) and hepatitis C virus (HCV) are endemic in Brazil. Both cause a persistent infection, asymptomatic in some cases, with a late diagnosis. These viruses share some of the routes of transmission, which may favor co-infection. **AIMS:** To determine the infection rate of HTLV, HCV and HTLV / HCV coinfection in the state of Bahia. Describe the profile of inflammatory cytokines in HTLV/HCV coinfecting subjects. **METHODS:** A retrospective ecological study was conducted using data obtained from the Central Laboratory of Public Health of Bahia (LACEN-BA). All serological tests for HTLV and HCV were selected among the 32 Bahia microregions from 2004 to 2013, constituting a database of 602,908 unique records. To the immune evaluation, samples from 31 HTLV/HCV-coinfecting individuals and 27 HCV-monoinfecting individuals were prospectively selected from 2014 to 2016. These samples were sent to LACEN in order to quantify HCV viral load. The cytokines IFN- γ , TNF- α , IL-10, IL-8 and IL-1 were analyzed. The control group consisted of 30 healthy individuals. **RESULTS:** A total of 233,876 samples were evaluated for laboratory diagnosis of HTLV. 1,813 (91.7%) were found to be positive for HTLV-1 (prevalence of 0.78%), 58 (2.9%) for HTLV-2 (prevalence 0.025%) and 107 (5.4%) were positive for both HTLV-1 and HTLV-2 (prevalence of 0.05%). The infection rate in the state was 0.84% (14.4 cases / 100,000 inhabitants). The HTLV infection was predominant in women (75%) with a mean age of 46 years. Three new HTLV clusters were identified located in the southern, central and western regions of the state. Samples of 247,837 individuals were evaluated for laboratory diagnosis of HCV. The rate of HCV infection was 1.3%, which corresponds to 21.2 cases/100,000 inhabitants. Men older than 55 years were the most affected. The city of Ipiaú had the highest infection rate for HCV (112.04 cases / 100,000 inhabitants). Genotypes 1 and 3 were the most prevalent, followed by genotypes 2, 4 and 5. To determine the rate of HTLV/HCV coinfection, samples from 120,192 individuals were evaluated. The HTLV/HCV infection rate in the state of Bahia was 14.3% (2.8 cases/100,000 inhabitants.) The cases of HTLV/HCV coinfection was predominant in men with a mean age of 59 years. The highest rates were found in three microregions of Bahia: Salvador, Ilhéus-Itabuna and Porto Seguro. Regarding the cytokine profile, the HTLV/HCV-coinfecting group had tendency for higher IFN- γ production compared with the HCV-monoinfecting group. There was a positive correlation between IL-1 and IL-8 pairs in the HTLV/HCV-coinfecting group and between the IL-8 - IL10 and INF- γ - IL-10 pairs in the HCV-monoinfecting group. **CONCLUSIONS:** HTLV and HCV infections are widespread in the microregions of the state of Bahia; however, HTLV/HCV coinfection is concentrated in only three microregions. HTLV/HCV coinfection is associated with IFN- γ production, while HCV monoinfecting individuals presented a positive correlation between both inflammatory cytokines (IL-8 and IFN- γ) and the regulatory cytokine IL-10.

Keywords: HTLV, HCV, Coinfection, Viral Hepatitis, Cytokines.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1	HTLV	12
2.1.1	<i>Estrutura da partícula viral</i>	13
2.1.2	<i>Ciclo de multiplicação viral</i>	14
2.1.3	<i>Patogênese do HTLV-1</i>	15
2.1.4	<i>Epidemiologia</i>	16
2.1.5	<i>Transmissão</i>	19
2.1.6	<i>Diagnóstico laboratorial</i>	20
2.2	HCV	22
2.2.1	<i>Estrutura da partícula viral</i>	23
2.2.2	<i>Ciclo de vida do HCV</i>	24
2.2.3	<i>História natural da infecção pelo HCV</i>	25
2.2.4	<i>Epidemiologia da Hepatite C</i>	26
2.2.5	<i>Transmissão</i>	29
2.2.6	<i>Diagnóstico laboratorial</i>	31
2.2.6.1	Testes sorológicos de triagem	31
2.2.6.2	Diagnóstico molecular do HCV	32
2.2.7	<i>Diagnóstico histológico</i>	33
3	OBJETIVOS	40
3.1	OBJETIVO GERAL.....	40
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	40
4	ARTIGOS	41
4.1	CAPÍTULO 1: DETERMINAR A TAXA DE INFECÇÃO, DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E PERFIL SÓCIO DEMOGRÁFICO DO HTLV EM UM PERÍODO DE DEZ ANOS.	41
4.2	CAPÍTULO 2: DETERMINAR A TAXA DE INFECÇÃO, DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E PERFIL SÓCIO DEMOGRÁFICO DO HCV EM UM PERÍODO DE DEZ ANOS	54
4.3	CAPÍTULO 3: DETERMINAR A TAXA DE INFECÇÃO, DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E PERFIL SÓCIO DEMOGRÁFICO DA COINFECÇÃO HCV/HTLV EM UM PERÍODO DE DEZ ANOS.	73
4.4	CAPÍTULO 4: QUANTIFICAR OS NÍVEIS DAS CITOCINAS (TNF-A, IFN- γ , IL 1, IL- 8 E IL-10) DOS PACIENTES COINFECTADOS COM HCV/HTLV, MONOINFECTADOS COM HCV E INDIVÍDUOS SADIOS.	92
5	DISCUSSÃO	112
	REFERENCIAS	122

1. INTRODUÇÃO

O vírus linfotrófico de células T humanas (HTLV) é um retrovírus de distribuição mundial, sendo endêmico em várias regiões do mundo, incluindo a América do Sul e Brasil. Estudos realizados previamente evidenciaram que a entrada no vírus no país se deu com a chegada dos escravos vindos do continente africano, fato que justifica altas taxas de infecção do vírus em áreas onde vivem afrodescendentes.

A infecção causada pelo HTLV ocorre na maioria dos indivíduos de forma silenciosa e assintomática. Entretanto, indivíduos sintomáticos podem desenvolver manifestações inflamatórias, doenças neurológicas e doença hematológica. O vírus pode ser transmitido de mãe para filho, pelo leite materno, contato sexual sem proteção, transfusão sanguínea, contato com sangue e órgãos contaminados, compartilhamento de seringas e agulhas.

No Brasil, a infecção causada pelo HTLV é negligenciada. Ao contrário do que ocorre com o vírus da imunodeficiência humana (HIV), o Ministério da Saúde não dispõe de uma política pública de saúde voltada para prevenção, diagnóstico e cuidado para os indivíduos que vivem com o HTLV. Além disso, a infecção pelo HTLV não consta na lista nacional de agravos de notificação compulsória e os profissionais de saúde, em sua grande maioria, não reconhecem o HTLV como uma doença sexualmente transmissível e têm dificuldade de associar os sintomas clínicos com as doenças causadas por este vírus. Entretanto, no estado da Bahia existe uma política pública de saúde que prevê o acesso ao diagnóstico laboratorial, instituiu a notificação compulsória da infecção pelo HTLV em 2011, bem como garante a distribuição da fórmula láctea para filha de mães HTLV positivas até o primeiro ano de vida.

O HTLV foi isolado no início da década de 1980 e, no Brasil, somente a partir de 1993 a triagem sorológica para o HTLV tornou-se obrigatória nos bancos de sangue. O diagnóstico laboratorial da infecção pelo HTLV é realizado por um teste de triagem, por elisaimunoensaio, quimioluminescência para detecção de anticorpos anti-HTLV 1/2. As

amostras com resultado reagente no teste de triagem devem ser confirmadas por um teste de outra metodologia que pode ser western blot, immunoblot ou PCR.

Atualmente, não existe esquema terapêutico para o HTLV e os indivíduos sintomáticos são tratados de acordo com o quadro clínico e a doença relacionada ao vírus.

O vírus das hepatite C (HCV), assim como o HTLV, é um sério problema de saúde pública no Brasil e no mundo. A infecção causada pelo HCV também conhecida como hepatite C, ocorre de forma silenciosa, assintomática, que pode passar despercebida. Muitas vezes o diagnóstico é realizado tardiamente, já em estágio avançado da doença hepática. A hepatite C se caracteriza pela alta taxa de cronicidade, e risco de evolução para o desenvolvimento de carcinoma hepático celular ou cirrose.

A transmissão do vírus ocorre principalmente pelo contato com sangue e seus derivados contaminados com o HCV, como pelo compartilhamento de seringas e agulhas. A transmissão sexual tem sido associada como uma possível rota para a transmissão do vírus, porém menos efetiva (ALTER *et al.*, 1998). No Brasil, a triagem em banco de sangue para o HCV passou a ser realizada em 1993 e no ano de 1999 o HCV foi inserido na lista de agravos do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN). Desde o ano de 2002, o Ministério da Saúde definiu uma política pública de saúde universal para as hepatites virais que constituiu diretrizes para prevenção, diagnóstico e tratamento para estas infecções.

O diagnóstico laboratorial do HCV é realizado por sorologia para detecção dos anticorpos anti-HCV. A quantificação da carga viral é realizada por PCR em tempo real, bem como a genotipagem do HCV. Diferente das hepatites A e B, não existe vacina para a prevenção da hepatite C. No entanto, o tratamento está padronizado e disponibilizado pelo Ministério da Saúde para os usuários do Sistema Único de Saúde (SUS).

O HTLV e HCV possuem como similaridade vias de transmissão o que favorece a coinfeção. De fato ambos os vírus induzem a infecções crônicas persistentes, portanto, a

coinfecção destes vírus pode ter um impacto importante no curso clínico de ambas infecções. Estudos prévios realizados sobre esse tema, sobretudo no Japão têm revelado um pior prognóstico para os indivíduos coinfectados com HTLV/HCV do que para os indivíduos monoinfectados com o HCV (KAMIHIRA *et al.*, 1991; BOSCHI-PINTO *et al.*, 2000; KISHIHARA *et al.*, 2001).

No Brasil, dados sobre o perfil epidemiológico e prevalência do HTLV, HCV e coinfecção do HTLV/HCV são escassos. Na Bahia, alguns estudos sobre a prevalência do HTLV e HCV foram conduzidos com grupos populacionais específicos, tais como gestantes, hemofílicos e usuários de drogas (SILVA *et al.*, 2005; SILVA *et al.*, 2010; BOA-SORTE *et al.*, 2014). Além desses, na cidade de Salvador destacaram-se dois estudos de base populacional para o HTLV e HCV (DOURADO *et al.*, 2003; ZARIFE, SILVA, *et al.*, 2006). Todavia, nenhum dos estudos já realizados estimou a taxa de infecção de ambos os vírus nos demais municípios do estado. Neste presente estudo, nossa hipótese é que ambas as infecções causadas pelo HTLV e HCV estão disseminadas em outros municípios da Bahia, além de Salvador. Com relação a coinfecção HTLV/HCV, destacam-se dois estudos que avaliaram o impacto da infecção pelo HTLV-1 em pacientes coinfectados com HCV atendidos em ambulatórios especializados, porém não foram avaliadas os aspectos epidemiológicos desta coinfecção (BAHIA *et al.*, 2011; SILVA *et al.*, 2016).

Diante da gravidade destas doenças, se faz necessária a realização de novas pesquisas, que venham a contribuir para elucidar os fatores relacionados à coinfecção entre o HTLV e a hepatite C, assim como demonstrar o perfil epidemiológico do HTLV, HCV e a coinfecção HTLV/HCV no estado da Bahia.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 HTLV

O vírus linfotrópico de linfócitos T humanos (HTLV) pertence à família *Retroviridae*, subfamília *Orthoretrovirinae* e gênero *Deltaretrovirus*. Até o momento foram identificados quatro tipos de HTLV, a saber o HTLV-1, HTLV-2, HTLV-3 e HTLV-4. Os vírus HTLV-1, HTLV-2 e HTLV-3, juntamente com seus homólogos STLV-1, STLV-2, STLV-3 (vírus linfotrópico da célula T de símios - Simian T-lymphotropic virus) constituem o grupo PTLV (vírus linfotrópico de células T de primatas - Primate T-lymphotropic). Estes diferentes *Deltaretrovirus* apresentam características epidemiológicas e moleculares semelhantes (SLATTERY *et al.*, 1999; LAIMORE, 2007). Não há evidências de identificação do vírus linfotrópico da célula T de símios homólogo do HTLV-4 (WOLFE *et al.*, 2005).

O HTLV-1 foi o primeiro retrovírus oncogênico humano a ser identificado no ano de 1979, em linhagens de células T de pacientes com linfoma cutâneo de células T (POIESZ *et al.*, 1980). Desde então, o HTLV-1 foi associado com o desenvolvimento de linfoma/leucemia de células T (HINUMA *et al.*, 1981). Anos depois, este vírus foi associado a severas doenças como paraparesia espástica tropical (TSP) e mielopatia associada à HTLV (HAM), conhecida como HAM/TSP (GESSAIN *et al.*, 1985; OSAME *et al.*, 1986), uveíte (MOCHIZUKI *et al.*, 1992) e dermatite infecciosa (LAGRENADE *et al.*, 1990). A infecção pelo HTLV-1 também está associada a doenças inflamatórias, tais como bronquiectasia (HONARBAKHS E TAYLOR, 2015), ceratoconjuntivite seca (CASTRO-LIMA VARGENS *et al.*, 2011) e artrite (YAKOVA *et al.*, 2005). Além disso, os indivíduos infectados com HTLV-1 são susceptíveis a outras doenças infecciosas como tuberculose (MARINHO *et al.*, 2005; VERDONCK, GONZALEZ, HENOSTROZA, *et al.*, 2007;

GRASSI *et al.*, 2016), *Strongyloides stercoralis* disseminada (NERA *et al.*, 1989) e escabiose norueguesa (BRITES *et al.*, 2002).

Em 1982, foi isolado um novo tipo de HTLV, HTLV-2, a partir de células esplênicas de um paciente com leucemia de células pilosas que apresentava perfil antigênico diferente do HTLV-1 (KALYANARAMAN *et al.*, 1982). O HTLV-2 tem sido raramente associado a doença neurológica, HAM/TSP e linfocitoses (ROUCOUX E MURPHY, 2004).

Em 2005, outros dois tipos, HTLV-3 e HTLV-4, foram identificados em indivíduos do sul dos Camarões que caçavam primatas não humanos (CALATTINI *et al.*, 2005; WOLFE *et al.*, 2005). Não existem relatos na literatura se o HTLV-3 e HTLV-4 podem ser transmitidos entre seres humanos e se são capazes de desencadear doenças em seus portadores, como ocorre com o HTLV-1 e HTLV-2 (GESSAIN *et al.*, 2013).

2.1.1 Estrutura da partícula viral

O HTLV-1 é um vírus envelopado com aproximadamente 100 nm de diâmetro. O envelope é composto de uma proteína de superfície (SU) extracelular e uma proteína transmembrana (TM) que atravessa esta estrutura e ancora a SU. A membrana interna do envelope do vírus é revestida pela proteína da matriz viral (MA). Essa estrutura envolve o capsídeo viral (CA), que carrega duas fitas idênticas de RNA genômico, bem como as enzimas protease (PR), integrase (IN) e transcriptase reversa (RT) (DELAMARRE *et al.*, 1996; KANNIAN E GREEN, 2010).

Todos os retrovírus compartilham similaridade em sua organização genômica, com quatro genes que codificam as proteínas necessárias para a produção de virions infecciosos, a ordem destes genes são invariavelmente *gag*, *pro*, *pol*, *env* (de 5' a 3'). *Gag* codifica as

proteínas estruturais interna do vírus, *pro* codifica a protease viral, *pol* codifica a enzima transcriptase reversa e *env* codifica as glicoproteínas do envelope do vírus. As extremidades do genoma estão margeadas por duas regiões repetidas, denominadas LTR (*long terminal repeats*) que contêm elementos *cis* que atuam na regulação da expressão de proteínas virais necessárias para o vírus infectar e replicar em células hospedeiras. O genoma proviral do HTLV-1 apresenta uma região denominada pX entre 3' LTR que codifica as proteínas regulatórias *tax*, *rex*, *p12*, *p21*, *p30*, *p13* e o HTLV-1 bZIP- fator (GAUDRAY *et al.*, 2002).

2.1.2 Ciclo de multiplicação viral

O ciclo de multiplicação viral do HTLV-1 é semelhante aos demais retrovírus (Figura 3). A primeira etapa se caracteriza pela adsorção do vírus. O domínio SU da proteína do envelope interage com o transportador de glicose GLUT-1, com os proteoglicanos heparan sulfato (HSPGs) e a neuropilina-1 (NRP1), receptores presentes nas membranas das células, para facilitar a entrada do vírus nas células (MANEL *et al.*, 2003; JONES *et al.*, 2005; GHEZ *et al.*, 2006).

Após a entrada do HTLV-1 na célula hospedeira, o capsídeo do vírus é rompido e seu conteúdo liberado no citoplasma da célula hospedeira. Em seguida, o RNA genômico é transcrito em uma forma de DNA de fita dupla pela enzima transcriptase reversa (RT). A fita dupla de DNA é integrada ao DNA cromossômico da célula hospedeira pela proteína IN, formando o provírus. Este, por sua vez, expressa genes virais para obter mais transmissão. (MATSUOKA E JEANG, 2007).

Acredita-se que o HTLV-1 se replique primariamente não como partículas virais livres, mas como provírus, induzindo a proliferação de células hospedeiras infectadas (BANGHAM, 2003). Em suma, o HTLV é transmitido célula a célula utilizando uma

“sinapse viral” induzida, ou seja, o vírus induz eventos de polarização das células e facilita a junção das células infectadas com as não infectadas, facilitando a passagem viral. Quando o equilíbrio entre a replicação viral e a resposta imune é alcançado, o HTLV-1 se multiplica principalmente pela expansão clonal dependente da mitose das células do hospedeiro (IGAKURA *et al.*, 2003; TANAKA *et al.*, 2005)

O HTLV-1 pode infectar vários tipos de células, como células dendríticas, células B, macrófagos e células T (FAN *et al.*, 1992; JONES *et al.*, 2008). No entanto, o vírus induz, preferencialmente, a expansão clonal de células T CD4 (RICHARDSON *et al.*, 1990; ETOH *et al.*, 1997). O achado de grandes clones de células infectadas (WATTEL *et al.*, 1996) sugerem que o HTLV-1 se replica predominantemente pela mitose de células infectadas, e não pela infecção de novas células alvo previamente não infectadas. Estudos têm evidenciado que a proliferação das células T CD4 infectadas com HTLV-1 parece ser induzida por proteínas acessórias ou reguladoras virais, com destaque para a *Tax* (YOSHIDA, 2001).

2.1.3 Patogênese do HTLV-1

O HTLV-1 está associado a doenças severas que podem ser divididas em três categorias, a saber doenças neoplásicas (leucemia/linfoma de células-T em adulto - ATLL), síndromes inflamatórias (paraparesia espástica tropical e mielopatia associada ao HTLV-1 (HAM/TSP), uveíte e dermatite infecciosa em crianças – IDH) e infecções oportunistas (hiperinfecção por *Strongyloides stercoralis* entre outras) (PROIETTI *et al.*, 2005; VERDONCK, GONZALEZ, VAN DOOREN, *et al.*, 2007). Dependendo da etnia e do sexo, aproximadamente 2–3% dos indivíduos infectados desenvolvem ATL e 0,25–4% desenvolvem HAM / TSP ou outras doenças relacionadas ao vírus, tais como uveíte associada a HTLV e dermatite infecciosa. (COOK *et al.*, 2013). A infecção pelo HTLV-1 está associada a uma variedade de manifestações clínicas, tais como sintomas neurológicos, como parestesia

e fraqueza, artralgia e disfunção erétil que ocorrem com relativa frequência em pacientes que não têm ou ainda não desenvolveram mielopatia (CASKEY *et al.*, 2007).

A Tax, a mais importante proteína regulatória viral, funciona como um agente principal no desenvolvimento das diferentes doenças, devido as suas interações com os genes das células hospedeiras, responsáveis pela proliferação celular, reparo do DNA, controle do ciclo celular e apoptose (MARRIOTT E SEMMES, 2005). Trata-se de uma proteína composta por 353 aminoácidos (40 kDa) que contém vários domínios que permitem interagir com uma infinidade de fatores celulares, afetando assim um grande número de funções e produtos celulares (CURRER *et al.*, 2012). Outra proteína que tem importância na leucemogênese da leucemia de células T adulta (ATL) é a HBZ. Trata-se de uma proteína viral codificada pela cadeia complementar de RNA que é transcrito por um promotor funcional presente na cadeia antisense da extremidade terminal 3' de 1,8 kb do genoma proviral do HTLV-1, contendo o 3'LTR (LAROCCA *et al.*, 1989).

Outro aspecto relevante é que os indivíduos infectados pelo HTLV-1 têm uma proliferação de células mononucleares do sangue periférico, com uma forte produção de citocinas inflamatórias, tais como o fator de necrose tumoral (TNF)- α e interferon (IFN)- γ . Por outro lado, níveis elevados de interleucinas IL-4, IL-5 e IL-10 (citocinas do tipo Th2) foram observados em portadores assintomáticos de HTLV-1 quando comparados com indivíduos soronegativos (CARVALHO *et al.*, 2001).

2.1.4 Epidemiologia

Estima-se que 5 a 10 milhões de pessoas estão infectadas com HTLV-1 no mundo. As maiores prevalências estão localizadas no Japão, continente Africano, Caribe, Ilhas Melanésias e América do Sul (GESSAIN E CASSAR, 2012). Observa-se uma distribuição

geográfica heterogênea do HTLV, caracterizada por áreas com prevalências elevadas e outras com baixas prevalências. Nos Estados Unidos, a prevalência está estimada em 5,1/100.000 para o HTLV-1 e 14,7/100.00 para o HTLV-2 em doadores de sangue. (CHANG *et al.*, 2014). No entanto, sugere-se uma prevalência da população geral nos Estados Unidos de 0,1% a 0,2%. (COOK E TAYLOR, 2014) Figura 1.

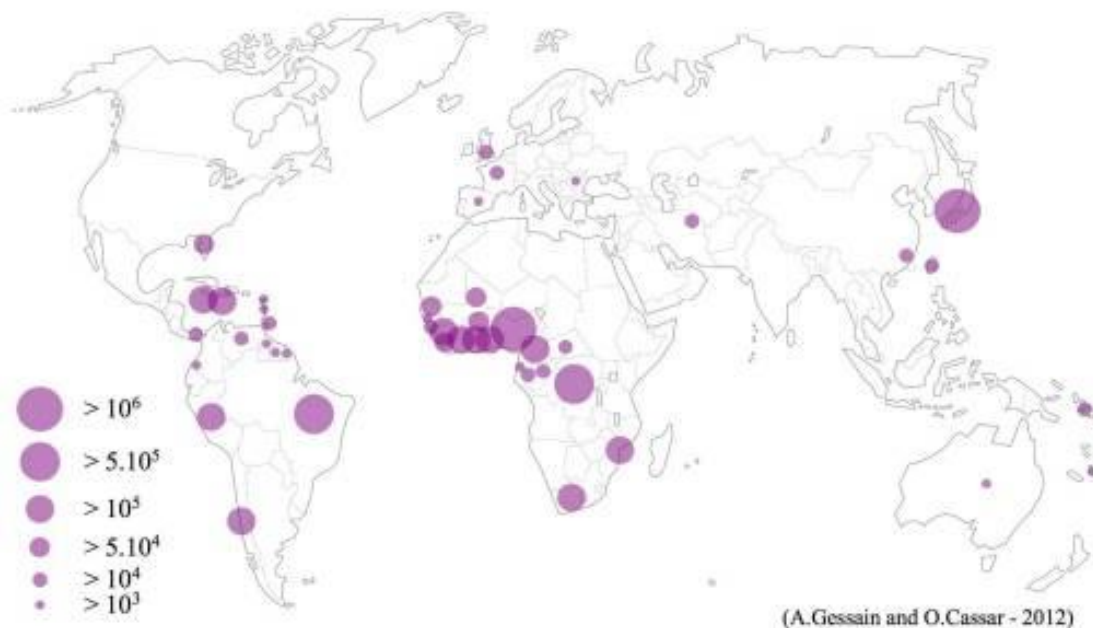


Figura 1. Distribuição mundial do HTLV por (GESSAIN E CASSAR, 2012).

O HTLV-2 é menos prevalente e predomina nas populações indígenas das Américas do Norte, Central e Sul, além dos usuários de drogas dos Estados Unidos, América do Sul e Europa (ISHAK, R. *et al.*, 1995; HALL *et al.*, 1996; BERINI *et al.*, 2007). No Brasil, observa-se uma elevada prevalência de HTLV-2 na população indígena (CARNEIRO-PROIETTI *et al.*, 2002), porém estudos mais recentes mostram a circulação deste vírus em outras populações, como os usuários de drogas injetáveis e população urbana (CATALAN-SOARES, BARBOSA-STANCIOLI, *et al.*, 2005).

O Brasil com mais de 200 milhões de habitantes tem cerca de 800.000 pessoas infectadas com HTLV-1, representando uma das maiores áreas endêmicas para doenças associadas ao HTLV-1 (GESSAIN E CASSAR, 2012). Uma análise recente indica que um grande número de novos casos de infecções por HTLV devido à transmissão de mãe para filho no Brasil ocorre a cada ano (ROSADAS *et al.*, 2018). De fato, o vírus está presente em todo país e a prevalência varia de acordo com a região geográfica, sendo mais elevada nas regiões Norte e Nordeste e menor na região sul (GALVAO-CASTRO *et al.*, 1997; CATALAN-SOARES, CARNEIRO-PROIETTI, *et al.*, 2005). A origem do HTLV no Brasil está associada à introdução do vírus na era pós-Colombiana, pelo tráfico de escravos da África no período da colonização portuguesa, principalmente nas cidades da região Nordeste (ALCANTARA *et al.*, 2003; MAGALHAES *et al.*, 2008; REGO *et al.*, 2008).

Alguns estudos realizados no Brasil, especificamente nas regiões Norte e Nordeste estimaram a prevalência do HTLV em grupos populacionais específicos. No Maranhão, a prevalência do HTLV em doadores de sangue foi de 0,15% (VIANA *et al.*, 2014). No estado do Piauí, as prevalências do HTLV-1 e HTLV-2 em doadores de sangue foram de 0,59/1000 e 0,37/1000, respectivamente (RIBEIRO *et al.*, 2018). Em Maceió, a prevalência do HTLV em gestantes foi estimada em 0,3% (MOURA *et al.*, 2015). Em uma comunidade indígena do Amazonas a prevalência do HTLV foi de 2,8% (MATA *et al.*, 2018), enquanto que em indivíduos da cidade de Belém a prevalência do HTLV está estimada em 2% (SILVA, I. C. *et al.*, 2018).

A Bahia é o maior estado do Nordeste e compreende 417 municípios. Alguns estudos previamente realizados indicam que a infecção pelo HTLV-1 está presente em algumas cidades e regiões do estado (BRITTO *et al.*, 1998; REGO *et al.*, 2008). Nos últimos anos, a prevalência do HTLV na Bahia tem sido estimada em grupos populacionais específicos, tais como gestantes, (0,14 a 1,05%) (BITTENCOURT *et al.*, 2001; MAGALHAES *et al.*, 2008;

BOA-SORTE *et al.*, 2014; MELLO *et al.*, 2014), doadores de sangue (1,35%) (GALVAO-CASTRO *et al.*, 1997), pacientes em hemodiálise (2,48%) (SANTOS *et al.*, 2017) e usuários de drogas (35,2%) (DOURADO *et al.*, 1998). No entanto, estes dados são insuficientes para estimar a prevalência do HTLV, assim como a distribuição geográfica dos casos em todo estado da Bahia.

Salvador, a capital do estado da Bahia é conhecida como o epicentro da infecção do HTLV-1 no Brasil (GALVAO-CASTRO *et al.*, 1997). Um estudo de base populacional foi conduzido nesta cidade e identificou que 1,76% da população estava infectada com HTLV-1. A maior prevalência foi encontrada entre mulheres, atingindo cerca de 10% delas com idade acima de 50 anos (DOURADO *et al.*, 2003).

2.1.5 Transmissão

A transmissão do HTLV-1 pode ocorrer de mãe para filho pelo leite materno. O risco da infecção na criança está relacionado a carga proviral do HTLV no leite, assim como a duração do período de aleitamento (BITTENCOURT *et al.*, 2001; LI *et al.*, 2004). Se destacam como outras rotas de transmissão do HTLV-1, relação sexual, sendo mais eficiente do homem para mulher (KAJIYAMA *et al.*, 1986), nas quais, a disseminação cervical do HTLV-1 está associada a cervicite (ZUNT *et al.*, 2002). Recentemente, um estudo realizado em Salvador demonstrou que a transmissão sexual do HTLV-1 é a principal rota de transmissão do vírus nesta cidade (NUNES *et al.*, 2017). No ambiente intrafamiliar, o risco de transmissão da infecção é elevado pelo contato sexual e amamentação por mães portadoras do vírus (CY *et al.*, 1998). Além das vias já citadas, destaca-se também a via parenteral por transfusão de componentes do sangue contaminados (SULLIVAN *et al.*, 1991; MANNNS *et al.*, 1992). Com isso, no Brasil, a partir da publicação da Portaria 1.376, de 19 de novembro de 1993, do Ministério da Saúde tornou-se obrigatória a triagem para o HTLV 1/2

em doadores de sangue. O compartilhamento de agulhas e seringas contaminadas por usuários de drogas também em uma via importante para a transmissão do vírus (VERDONCK, GONZALEZ, VAN DOOREN, *et al.*, 2007).

2.1.6 Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico laboratorial para a infecção pelo HTLV é realizado utilizando um teste de triagem para a pesquisa de anticorpos anti-HTLV 1/2 no soro que pode ser por ensaio imunoenzimático (EIA), teste de aglutinação de partículas (VERDONCK, GONZALEZ, VAN DOOREN, *et al.*, 2007) ou ainda os ensaios de quimioluminescência (CLIA). A primeira geração de EIA era baseada em lisado viral o que causava frequentemente resultados falsos-positivos (WIKTOR *et al.*, 1991). Além disso, identificavam apenas anticorpos IgG e tinham limitados epítomos para identificação de HTLV II (HJELLE *et al.*, 1993). Os testes enzimáticos de segunda geração utilizam proteínas recombinantes e/ou peptídeos sintéticos do HTLV-1 para melhorar a performance do teste e reduzir o número de amostras falsas-positivas (THORSTENSSON *et al.*, 2002). Os testes enzimáticos de terceira geração apresentam alta sensibilidade e especificidade e utilizam proteínas recombinantes e peptídeos sintéticos. Os testes de quimioluminescência apresentam alta sensibilidade e são adequados para triagem do HTLV 1/2 em bancos de sangue (DA SILVA BRITO *et al.*, 2018).

Os resultados reagentes são confirmados por teste confirmatório que pode ser o Western blot (WB) ou immunoblot. No WB, os antígenos virais obtidos a partir de culturas de células infectadas, são submetidos a uma eletroforese em gel de poliacrilamida, que permite a separação das proteínas virais de acordo com o seu peso molecular (SABINO E CARVALHO, 2015). O immunoblot é semelhante ao WB, no entanto possui proteínas

recombinantes e peptídeos sintéticos específicos do HTLV adsorvidos a uma fita de nitrocelulose.

Os testes confirmatórios apresentam como limitações a ocorrência de resultados indeterminados, quando as amostras reagem a um ou mais dos antígenos incorporados no teste, mas não têm o perfil típico de HTLV, ou seja, há reatividade a pelo menos duas proteínas dos genes Gag e Env (MAHIEUX *et al.*, 2000) ou não tipificam o HTLV-1 e HTLV-2 (VERDONCK, GONZALEZ, VAN DOOREN, *et al.*, 2007). Entretanto, o poder discriminatório do immunoblot para o HTLV foi demonstrado, pois produziu resultados para a maioria das amostras consideradas indeterminadas ou positivas, mas não tipificáveis, em ensaios de WB (SABINO *et al.*, 1999; THORSTENSSON *et al.*, 2002).

Os casos de resultados indeterminados podem ser resolvidos com a utilização dos testes de PCR que definem o diagnóstico da infecção, além de identificar o tipo vírus presente HTLV-1 ou HTLV-2 (VANDAMME *et al.*, 1997). Os PCR genéricos e/ou específicos para o HTLV têm sido desenvolvidos e são frequentemente baseados nas regiões mais conservadas do genoma, a proteína tax. Nos ensaios de PCR convencional e PCR em tempo real, o DNA proviral do HTLV-1 é amplificado para um nível detectável. A PCR em tempo real tem a vantagem de que a carga proviral pode ser quantificada, sendo expressa como número de cópias de DNA do HTLV-1 por número fixo de células mononucleares do sangue periférico (DEHEE *et al.*, 2002; LEE *et al.*, 2004). Os ensaios moleculares também são indicados para o diagnóstico do HTLV-2 em população de alto risco como os usuários de drogas injetáveis, quando o WB não é capaz de identificar o HTLV-2 nas amostras dos indivíduos infectados (CATERINO-DE-ARAÚJO *et al.*, 2014).

2.2 HCV

O vírus da hepatite C (HCV) é um vírus membro da família *Flaviviridae* (MILLER E PURCELL, 1990), agente etiológico da hepatite C antes denominada hepatite não A e não B (HNANB) (ALTER *et al.*, 1989). Foi identificado e parcialmente caracterizado em 1989 através do genoma de vírus isolados de soros de pacientes com HNANB pós transfusão (CHOO *et al.*, 1989). Os alvos naturais do HCV são os hepatócitos e provavelmente células mononucleares do sangue periférico, particularmente os linfócitos B (ZIGNEGO *et al.*, 1995). Entretanto, o vírus já foi detectado em monócitos do sangue periférico e em células hematopoiéticas (LERAT *et al.*, 1996). O HCV tem como característica a habilidade de persistir no hospedeiro, causando infecção crônica, podendo evoluir para cirrose e a forma mais grave da doença – carcinoma hepatocelular em cerca de 70 a 80% dos casos (ALTER, H. J., 1995). O HCV causa infecção aguda e crônica, com diferentes graus de gravidade, podendo desenvolver manifestações extra-hepáticas, com a estimulação crônica do sistema imune e auto imunidade induzida pelo vírus (ALBERTI *et al.*, 1999). A progressão para a doença crônica causada pelo HCV tornou-se a principal indicação para o transplante de fígado (LAUER E WALKER, 2001).

A clonagem do genoma do HCV levou ao desenvolvimento de teste sorológico para detecção de anticorpos específicos contra o vírus da hepatite C (KUO *et al.*, 1989). A aplicação deste ensaio na prática clínica forneceu evidências definitivas de que o HCV era o principal agente de pós-transfusão (ALTER *et al.*, 1989). A partir de 1990, com a introdução do teste anti-HCV na triagem das amostras de doadores de sangue diminuiu consideravelmente a infecção por HCV associada à transfusão nos países desenvolvidos (LAUER E WALKER, 2001).

2.2.1 Estrutura da partícula viral

O HCV está classificado no gênero *Hepacivirus*, dentro da família *Flaviviridae*, que inclui os vírus implicados com as clássicas flavivirose, tais como a febre amarela, os vírus da dengue, pestivirose animal, como o vírus da diarréia viral bovina (BVDV) e o vírus da gripe bovina (GB) (MILLER E PURCELL, 1990; ALTER, H. J., 1995; MORADPOUR E BLUM, 2004).

O HCV é um vírus RNA de aproximadamente 50 nm de diâmetro, com envelope e genoma de fita simples e polaridade positiva (CHOO *et al.*, 1989) de 9,5 kb. O genoma consiste em um único quadro de leitura aberta e duas regiões não traduzidas (UTRs). Ele codifica uma poliproteína de aproximadamente 3000 aminoácidos, que é clivada em proteínas únicas por uma peptidase sinal hospedeira na região estrutural e as proteases codificadas pelo HCV na região não estrutural (NS). A região estrutural contém a proteína do núcleo e duas proteínas de envelope (E1 e E2). Duas regiões em E2, denominadas regiões hipervariáveis 1 e 2 (HVR 1 e HVR 2), mostram extrema variabilidade de sequência, que se acredita ser o resultado de pressão seletiva por anticorpos específicos de vírus. E2 também contém o local de ligação para o CD81, o suposto receptor ou co-receptor do HCV. As proteínas não estruturais foram atribuídas funções como proteases (no caso de NS2, NS3 e NS4A), helicase (no caso de NS3) e RNA polimerase dependente de RNA (NS5B) (LAUER E WALKER, 2001). A junção entre as proteínas estruturais e não estruturais é feita por um polipeptídeo p7 constituído de 63 aminoácidos composto por duas proteínas transmembranas, ambas com dois domínios N e C terminal orientados em direção ao lúmen do retículo endoplasmático. O p7 não é essencial para replicação do RNA, mas existem relatos sobre sua atividade como canal de íons (MORADPOUR E BLUM, 2004).

A região 5'UTR é altamente conservada e contém um local interno de entrada ribossomal (IRES) que direciona a translação viral. A região 3'UTR é curta e variável, altamente conservada com 98 nucleotídeos e é essencial para replicação viral (MORADPOUR E BLUM, 2004).

O HCV apresenta uma diversidade no seu genoma, sendo que a taxa de mutação do genoma é semelhante a de outros vírus de RNA (OGATA *et al.*, 1991). Através de análises filogenéticas o HCV foi classificado em seis principais genótipos baseados na sequência de similaridade dos nucleotídeos, sendo que dentro de alguns destes grupos são observados dois ou três grupos com variantes intimamente relacionadas. Os grupos principais de variação da sequência dos nucleotídeos são denominados de tipos, enquanto que os grupos relacionados intimamente dentro de alguns tipos são denominados de subtipos. (SIMMONDS *et al.*, 1993; SIMMONDS *et al.*, 1994). Na 2ª Conferência Internacional de HCV e Vírus Relacionados, foi proposto um sistema de nomenclatura de consenso a ser utilizado em estudos de genótipos e subtipos de HCV. Os tipos são representados por números Arábicos e os subtipos por letras minúsculas (SIMMONDS *et al.*, 2005). O complexo de variantes genéticas encontradas em um indivíduo isoladamente é chamado de *quasispecies*. A composição das *quasispecies* do HCV resulta da acumulação de mutações durante a replicação viral no hospedeiro (ZEIN, 2000).

2.2.2 *Ciclo de vida do HCV*

O HCV entra nos hepatócitos através de receptores putativos. A fusão, pH-dependente, do envelope viral e RNA genômico ocorre no endossoma. Em seguida o RNA genômico do HCV é liberado no citoplasma e traduzido em poliproteína, mediado pelo IRES no retículo endoplasmático rugoso (RE). As proteínas do HCV e suas associações no RE são mostradas na inserção. Logo após, ocorre a montagem dos complexos de ribonucleoproteínas

(RNP) e esses complexos RNP realizam a síntese de RNA para produzir RNAs de vírus de polaridade (+). Acredita-se que a síntese de RNA ocorre nas estruturas membranosas induzidas pelo HCV, denominadas "rede de membranas". As RNAs de polaridade positiva são encapsuladas e, após maturação, ocorre a liberação do HCV pela célula (SYED *et al.*, 2010).

2.2.3 História natural da infecção pelo HCV

A história natural da infecção pelo HCV é de difícil compreensão devido a vários fatores: o início silencioso da fase aguda e a escassez de sintomas nos estágios iniciais da fase crônica (LAUER E WALKER, 2001), o desconhecimento da época da contaminação; a presença de co-morbidades (etilismo crônico e coinfeções virais), a existência de diferentes genótipos e carga viral (THOMAS *et al.*, 2000) ou ainda a fatores relacionados ao hospedeiro como a incapacidade do hospedeiro em montar uma resposta imune protetora que poderia levar à reativação ou reinfeção com o mesmo vírus (FARCI *et al.*, 1992).

A infecção pelo HCV é raramente diagnosticada durante a fase aguda da infecção. Manifestações clínicas podem ocorrer, geralmente dentro de 7 a 8 semanas após a exposição ao HCV, mas a maioria das pessoas não apresenta sintomas ou apresenta sintomas leves como icterícia, mal-estar e náusea (LAUER E WALKER, 2001). Há relatos de hepatite fulminante durante esse período, embora seja muito rara (FARCI *et al.*, 1996).

O curso da infecção do HCV varia muito entre os indivíduos. Fatores que diminuem o risco de progressão incluem sexo feminino e uma idade mais jovem na infecção. Os fatores que aumentam o risco incluem a ingestão de álcool, idade mais avançada da infecção, sexo masculino e coinfeção com outros vírus. Pessoas com um perfil de risco favorável, muitas vezes não têm doença hepática progressiva até 30 ou mais anos após a infecção. Em contraste,

20% das pessoas com hepatite C crônica terão cirrose, e isso pode ocorrer 20 anos ou menos após a infecção, especialmente naqueles com abuso de álcool ou coinfeção com o vírus da imunodeficiência humana tipo 1 ou vírus da hepatite B. Uma vez estabelecida a cirrose, o risco de carcinoma hepatocelular é de 1 a 4% ao ano (Figura 2).

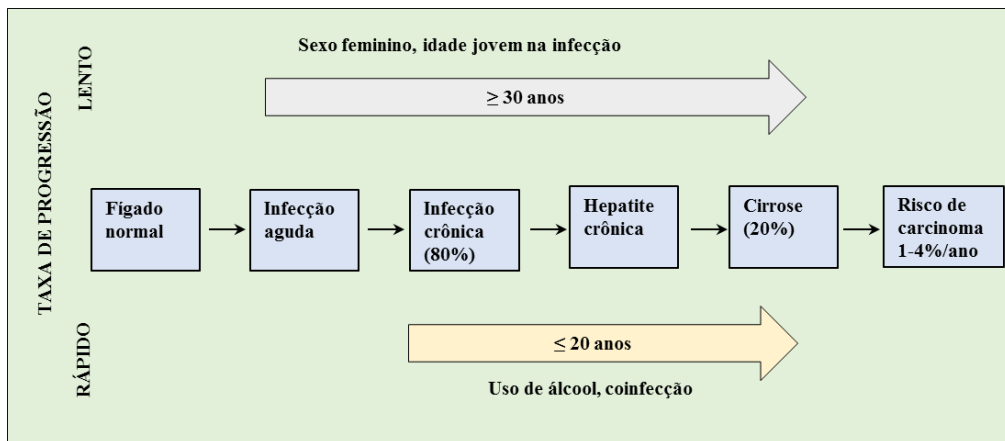


Figura 2. História natural da infecção pelo HCV adaptado de (LAUER E WALKER, 2001).

2.2.4 Epidemiologia da Hepatite C

A infecção pelo vírus da hepatite C é um problema de saúde pública no Brasil e no mundo. Em 2016, foi estimado que 2,5% da população mundial esteja infectada, o que equivale a cerca de 177 milhões de adultos infectados pelo HCV. A Ásia Central e a África Central têm alta prevalência ($> 3,5\%$); Leste, Sul e Sudeste da Ásia, África Ocidental e Oriental, Norte da África e Oriente Médio, Sul e Tropical da América Latina, Caribe, Australásia e Europa Oriental, possuem prevalência moderada (1,5% -3,5%); enquanto que a África Austral, América do Norte, América Latina, América Central, Ásia do Pacífico, Europa Ocidental e Central têm baixa prevalência inferior a 1,5% (PETRUZZIELLO *et al.*, 2016).

No Brasil, um estudo nacional de base populacional das hepatites virais nas capitais brasileiras no período de 2005 a 2009 apontaram uma prevalência de 1,38% (1,12–1,64%)

para o anti-HCV (PEREIRA *et al.*, 2013). O boletim epidemiológico das hepatites virais do Ministério da Saúde revela o número de indivíduos infectados de acordo com a região geográfica, estado, sexo e idade. A região Sudeste apresenta o maior número de casos de hepatite C no período de 1999 a 2017. A região Nordeste é a terceira região do Brasil com o maior número de casos registrados. A infecção é mais frequente em homens do que mulheres, prioritariamente na faixa etária acima de 40 anos. Em 2017, a taxa de detecção do anti-HCV ou RNA-HCV/100.000 habitantes na Bahia foi 2,3%, enquanto que em 2016 a taxa de mortalidade atribuída ao HCV como causa básica foi de 0,4/100.000 (BRASIL, 2018).

Vários estudos de soroprevalência realizados em grupos populacionais específicos foram realizados em diversas regiões do país ao decorrer dos últimos anos. Em 2017, um estudo retrospectivo de 11 anos em banco de sangue do Brasil estimou uma prevalência de 0,068% em doadores de sangue (LEVI *et al.*, 2017). A prevalência do HCV em mulheres profissionais do sexo de doze cidades brasileiras foi estimada em 0,9% (FERREIRA-JUNIOR *et al.*, 2018) enquanto que a prevalência do HCV foi muita baixa em mulheres transgênero de doze capitais brasileiras, próximo a zero (BASTOS *et al.*, 2018). Em doze unidades prisionais do estado de Mato Grosso do Sul, a prevalência do HCV foi de 2,7% (PUGA *et al.*, 2017). Outro estudo realizado em gestantes do Rio de Janeiro a prevalência da infecção pelo HCV foi estimada em 1,3% (BARROS *et al.*, 2018). A prevalência do HCV entre ameríndios e não-ameríndios que vivem na Amazônia Oriental está estimada em 0,8% (VILLAR *et al.*, 2018) e no estado do Tocantins a prevalência da hepatite C nos pacientes em hemodiálise está estimada em 2,8% (CORDEIRO *et al.*, 2018). Em usuários de drogas injetáveis de onze municípios do Arquipélago de Marajó, região Norte do Brasil, a prevalência do anti-HCV foi estimada em 88% (SILVA, F. Q. *et al.*, 2018). A prevalência do anti-HCV em pacientes HIV positivos, pacientes com insuficiência renal crônica e indivíduos com distúrbios de coagulação do estado do Ceará foi 1,3%, 12,6% e 47% respectivamente (RIBEIRO

BARBOSA *et al.*, 2017). A prevalência da hepatite C entre manipuladores de resíduos domésticos e de saúde na cidade de Belo Horizonte foi estimada em 3,3% para os trabalhadores expostos (resíduos de saúde) e 0,9% para os não expostos (resíduos domésticos) (MOL *et al.*, 2016). Em militares brasileiros trabalhadores do Rio de Janeiro com idade entre 18 e 25 anos foi de 0,7% (VILLAR *et al.*, 2015). Entretanto, em cortadores manuais de cana do estado de Goiás e Paraíba não houve positividade para o HCV (DE CASTRO ROCHA *et al.*, 2018).

Em Pernambuco, a hepatite C oculta (sem detecção de anti-HCV ou RNA-HCV no sangue) foi identificada em 16,5% (15/91) de indivíduos em prediálise (SETTE *et al.*, 2019). Na Bahia, um estudo de base populacional realizado na capital revelou uma prevalência de 1,5% para o HCV (ZARIFE, SILVA, *et al.*, 2006).

A identificação do genótipo do HCV permite obter informações epidemiológicas e clínicas relacionadas ao tratamento. Os genótipos 1 e 4 são mais resistentes ao tratamento antiviral do que os genótipos 2 e 3 (SIMMONDS *et al.*, 1996; SIMMONDS *et al.*, 2005). Há uma distribuição geográfica diferenciada em relação aos genótipos do HCV. Os genótipos 1 e 3 são os mais prevalentes em todo o mundo correspondendo respectivamente a cerca de 46,2% e 30,1% das infecções (MESSINA *et al.*, 2015). Embora, os genótipos 1, 2 e 3 apresentem uma distribuição mundial, suas prevalências relativas variam de uma área geográfica a outra. Os subtipos 1a e 1b são mais comuns nos Estados Unidos e também são predominantes na Europa. O subtipo 1b é o mais frequente na grande maioria do Continente Asiático, prevalecendo em cerca de 98,8% dos casos de infecção pelo HCV na Mongólia (POLARIS OBSERVATORY, 2017). O genótipo 2 é comum em países de baixa renda, tais como os países da África Ocidental (62,9%) e em algumas regiões da América do Sul, provavelmente causado por movimentos populacionais durante o comércio transatlântico de escravos no século XVIII (PETRUZZIELLO *et al.*, 2016). O genótipo 3a é particularmente

prevalente em usuários de drogas intravenosas na Europa e Estados Unidos (PAWLOTSKY *et al.*, 1995). O genótipo 4 prevalece na África do Norte, Egito e Oriente Médio. Os genótipos 5 e 6 são quase exclusivos da África do Sul e Hong Kong, respectivamente (GOWER *et al.*, 2014). Os genótipos 7, 8 e 9 do HCV foram identificados apenas em pacientes vietnamitas e os genótipos 10 e 11 foram identificados em pacientes da Indonésia (ZEIN, 2000).

No Brasil, estudos realizados previamente na região Nordeste (PARANA *et al.*, 2000; SILVA *et al.*, 2000), Sudeste (BASSIT *et al.*, 1999) e Sul (KRUG *et al.*, 1996) revelaram o predomínio do genótipo 1, seguido dos genótipos 3 e 2. O único estudo de base populacional realizado no Brasil revelou o predomínio do genótipo de 3, seguido dos genótipos 1 e 2 (ZARIFE, SILVA, *et al.*, 2006). Outros estudos realizados com grupos populacionais específicos, tais como doadores de sangue (AMORIM *et al.*, 2004; TORRES *et al.*, 2009), usuários de drogas injetáveis (SILVA *et al.*, 2010), hemofílicos (SILVA *et al.*, 2005), pacientes em hemodiálise (SILVA *et al.*, 2006; AMORIM *et al.*, 2010) revelaram a maior prevalência do genótipo 1 seguido do genótipo 3. A presença do genótipo 4 foi identificada em Salvador e São Paulo (BASSIT *et al.*, 1999; CAMPIOTTO *et al.*, 2005; ZARIFE, DE OLIVEIRA, *et al.*, 2006), enquanto que o genótipo 5 foi somente identificado em São Paulo (Campiotto *et al.*, 2005).

2.2.5 Transmissão

O vírus da hepatite C é transmitido por exposição percutânea ou de mucosa ao sangue infeccioso ou fluidos corporais derivados do sangue (ALTER, 2002). Os fatores de risco identificados para adquirir a infecção incluem transfusão de sangue e produtos de sangue, transplantes de órgãos sólidos de doadores infectados, uso de drogas injetáveis lícitas e ilícitas, injeções terapêuticas não seguras, exposição ocupacional ao sangue, transmissão vertical relacionada a elevada carga viral do HCV no momento do parto e coinfeção do HIV,

hemodiálise, tatuagens, procedimentos médicos e odontológicos, acupuntura, inalação de drogas com uso de canudos contaminados, sexo com parceiro infectado e múltiplos parceiros (ALTER, 2002).

A transfusão de sangue não testado, uso de drogas injetáveis ilícitas, bem como o uso de injeções terapêuticas não seguras são as formas mais importantes de transmissão (ALTER, 2006; PRATI, 2006). Desde a introdução da triagem sorológica do HCV em banco de sangue, o risco residual de transmissão por transfusão sanguínea só ocorre quando o sangue é coletado durante o período de janela imunológica do doador (PONDE, 2011).

A transmissão do HCV por atividade sexual e contato familiar apesar de serem controversos, podem ocorrer ainda que em baixa frequência (ALTER *et al.*, 1998). O HCV tem sido encontrado, em outros fluídos do corpo, além do sangue e seus derivados, entre eles a saliva (LINS *et al.*, 2005), líquido ascítico, urina, sêmen (LIOU *et al.*, 1992), leite materno (KUMAR E SHAHUL, 1998), fezes (BELD *et al.*, 2000) e secreções cervice-vaginal (BELEC *et al.*, 2003).

A contribuição das secreções genitais para disseminação do vírus não é clara, mas sexo não protegido quando envolve sangue ou micro trauma de mucosa é um meio possível de transmissão (THOMPSON *et al.*, 2003). Os indivíduos sem risco parenteral de adquirir a infecção podem ter adquirido o HCV pela via sexual (ABOU-SETTA, 2004; RE *et al.*, 2008). A transmissão do HCV entre casais heterossexuais estáveis é mínima ou insignificante (BESSA *et al.*, 2009). Entretanto, nos homossexuais usuários de drogas, heterossexuais com múltiplos parceiros e profissionais do sexo a taxa de transmissão por esta via é mais alta (ABOU-SETTA, 2004). A transmissão intra familiar do HCV pode ainda ocorrer com o compartilhamento de itens pessoais como lâminas de barbear, alicate de unha e escova de dente por cônjuges e filhos (STRAUSS, 2001; THOMPSON *et al.*, 2003).

Os genótipos de HCV podem estar associados a diferentes fontes de infecção. No Paquistão, o genótipo 3a é o mais prevalente e 85% dos pacientes infectados com este genótipo receberam múltiplas injeções, o genótipo 1a e 1b estão relacionados a pequenas cirurgias e tratamento dentário e o genótipo 2 a nenhuma aparente causa de transmissão (IDREES E RIAZUDDIN, 2008). Alguns estudos que utilizaram ferramentas epidemiológicas e moleculares, demonstraram que o surgimento dos principais genótipos do HCV em diferentes países coincide com aumento no uso de tratamento parenteral não seguro, como por exemplo, a terapia parenteral anti esquistossomose utilizada no Japão e Egito (PRATI, 2006).

2.2.6 *Diagnóstico laboratorial*

O diagnóstico laboratorial do HCV é realizado inicialmente através de testes sorológicos que irão detectar os anticorpos contra o vírus da hepatite C e testes de biologia molecular que vão detectar o RNA viral.

2.2.6.1 **Testes sorológicos de triagem**

O primeiro teste sorológico para diagnosticar o HCV foi desenvolvido em 1989 por Kuo e colaboradores, que utilizaram o antígeno recombinante C100-3, derivado da região não estrutural NS4, para revestir os poços da placa de micro titulação e assim capturar os anticorpos do HCV presentes nas amostras de sangue (KUO *et al.*, 1989). Em 1992, surgiu o teste de segunda geração que incorporou duas proteínas recombinantes do HCV: c22-3 derivada da região *core* e c33-c derivada da região não estrutural NS3 (ALTER, 1992). A introdução de novos antígenos levou a uma melhora substancial na sensibilidade e um discreto aumento na especificidade comparado ao teste de primeira geração (GRETCH, 1997) e a janela imunológica de soroconversão foi reduzida para 10 semanas com este teste

(RICHTER, 2002). O teste de terceira geração foi aprovado em 1996, apresentando na sua composição antígenos recombinantes ou peptídeos sintéticos da região *core*, NS3 e um antígeno da região NS5. Com este teste, o tempo médio para a soroconversão passou para 7 a 8 semanas e em situações de alta prevalência, a sensibilidade do teste aumentou para 97% e a especificidade ficou acima de 95%. (GRETCH, 1997; PAWLOTSKY, 1999).

Outras metodologias detectam o anti-HCV, tais como o teste de quimioluminescência (CIA), quimioluminescência por micropartículas (CMIA) e o de micropartícula imunoensaio (MEIA) que utilizam os mesmos antígenos utilizados na metodologia de ELISA (CONTRERAS, 2006). Estes testes apresentam uma sensibilidade equivalente, mas muito maior especificidade e valor preditivo positivo do que os testes por enzimaensaio (DUFOUR *et al.*, 2003). Além da detecção do anti-HCV, também é possível pesquisar a presença do antígeno do *core* do HCV, assim como a detectar este antígeno simultaneamente com o anti-HCV. (LAPERCHÉ *et al.*, 2005).

2.2.6.2 Diagnóstico molecular do HCV

Os testes moleculares têm um papel importante no diagnóstico e monitoramento do tratamento da hepatite C. O HCV foi o primeiro patógeno a ser identificado exclusivamente por diagnóstico molecular (CHOO *et al.*, 1989). Os testes de ácido nucléico (NAT) detectam diretamente a presença do RNA viral, usando a combinação de técnicas de amplificação e detecção. Os testes de ácido nucléico são classificados em testes qualitativos (reação em cadeia da polimerase - PCR e amplificação mediada por transcrição - TMA) e testes quantitativos (amplificação de cadeia de DNA - bDNA, PCR quantitativa e PCR em tempo real) (SCOTT E GRETCH, 2007).

A principal aplicação da quantificação do HCV-RNA é o monitoramento da resposta virológica sustentada (SVR), após o tratamento da infecção pelo HCV. Um resultado negativo para o HCV-RNA seis meses após o fim da terapia antiviral indica SVR. O monitoramento da carga viral após quatro e doze semanas de terapia prediz o tipo de SVR (SCOTT E GRETCH, 2007).

A genotipagem do vírus da hepatite C é clinicamente importante para o tratamento, antiviral, pois fornece informações sobre a probabilidade de resposta a terapia antiviral bem como determina a duração da mesma (SCOTT E GRETCH, 2007). Os testes de genotipagem do HCV pertencem a duas categorias: testes de triagem, que detectam pontos de mutação dentro do genoma do HCV e testes que avaliam segmentos maiores dos genes do HCV. A genotipagem do HCV também pode ser realizada pela metodologia da análise de *Restriction fragment length polymorphism* (RFLP) da região altamente conservada 5' não codificada (GRETCH, 1997).

2.2.7 Diagnóstico histológico

A avaliação histológica de uma biópsia hepática permanece o padrão ouro para determinar a atividade da doença hepática relacionada ao HCV e o estadiamento histológico permanece como o único preditor confiável de prognóstico e a probabilidade de progressão da doença (YANO *et al.*, 1996; LAUER E WALKER, 2001). A biópsia hepática fornece as informações mais precisas sobre o estágio da fibrose e o grau de necroinflamação, ambos com significado prognóstico. A repetição da biópsia hepática, 3 a 5 anos após uma biópsia inicial, é o meio mais preciso para avaliar a progressão da fibrose (MARCELLIN *et al.*, 2002).

Os resultados da biópsia hepática devem ser avaliados conforme a classificação da alteração arquitetural (estágio de fibrose) e da atividade inflamatória. Duas classificações de

avaliação de fibrose nas biópsias hepáticas são mais usadas rotineiramente: a classificação de Ishak e a de Metavir. No sistema Metavir, são avaliadas fibrose e atividade necroinflamatória no tecido hepático. Esta avaliação é representada por um sistema de pontuação que classifica o estágio de fibrose em uma escala de cinco pontos, F0 = sem fibrose, F4 = cirrose e atividade histológica em uma escala de quatro pontos, A0 = sem atividade, A3 = atividade grave. Na classificação de Ishak o estágio de fibrose varia de F0 a F6, enquanto que a atividade inflamatória varia de A0 a A4 (ISHAK, K. *et al.*, 1995; BEDOSSA E POYNARD, 1996; ZIOL *et al.*, 2005).

A biópsia hepática tem como inconveniente ser um procedimento invasivo que requer estrutura adequada para sua realização. No entanto, outros métodos não invasivos para avaliar o grau de fibrose hepática, utilizando amostra de sangue têm sido estudados, como por exemplo a avaliação da citocina TNF- α como marcador de fibrose tem se tornado importante em algumas avaliações (LEROY, 2008).

2.3 COINFECÇÃO HTLV E HCV

A coinfeção entre o HTLV e o HCV é favorecida pela similaridade das vias de transmissão, tais como compartilhamento de agulhas e seringas por usuários de drogas injetáveis, transfusão de sangue com componentes celulares contaminados, relação sexual e transmissão vertical de mãe para filho, além da circulação de ambos os vírus em uma mesma área geográfica, sendo esperado altas prevalências de coinfeção para regiões endêmicas para os vírus. O risco de adquirir tais infecções depende de fatores intrínsecos relacionados a genética dos indivíduos, bem como da área geográfica, condições socioeconômicas e atitudes comportamentais (CATALAN-SOARES, CARNEIRO-PROIETTI, *et al.*, 2005; PEREIRA *et al.*, 2013; ASSONE *et al.*, 2016). No entanto, estudos realizados previamente têm atribuído o uso de drogas injetáveis o principal fator de risco para adquirir a coinfeção HTLV/HCV

(CARDOSO *et al.*, 2009; MILAGRES *et al.*, 2009; MOREIRA *et al.*, 2013; CATERINO-DE-ARAÚJO *et al.*, 2015).

No Brasil e no mundo, dados sobre a prevalência da coinfeção HTLV/HCV são escassos. Em áreas endêmicas para o HTLV, a prevalência da coinfeção HTLV/HCV é elevada (NAKASHIMA *et al.*, 1994). Por outro lado, no Sudeste da Etiópia, um estudo realizado com 165 pacientes em um hospital da zona rural não identificou nenhum caso de coinfeção HTLV/HCV (RAMOS *et al.*, 2012). Da mesma forma, em 108 pacientes hemofílicos na província Sudeste Khorasan no Irã, onde o percentual de indivíduos infectados com HTLV-1/2 é de 3%, a coinfeção do HTLV/HCV foi registrada em um único indivíduo (ZIAEE *et al.*, 2015). Em Madrid, a coinfeção HTLV/HCV não foi evidenciada entre 432 portadores crônicos de HCV (LOZA E MATEOS, 2015) enquanto que indivíduos com HTLV-2 em Barcelona e Madri tinham associação de coinfeção com HCV e uso de drogas injetáveis (DE LA FUENTE *et al.*, 2006). Na Polônia, um estudo realizado com 71 indivíduos hemofílicos não identificou nenhum caso de coinfeção HTLV/HCV (KUCHARSKA *et al.*, 2016). Na Indonésia, um estudo realizado em 375 indivíduos privados de liberdade e usuários de drogas identificou uma prevalência de 3,2% para coinfeção HTLV/HCV (PRASETYO *et al.*, 2013). Enquanto que na Argentina foi encontrado um alto percentual de coinfeção do HTLV-2 com o HCV (96,3%, 26/27) entre os usuários de drogas (BERINI *et al.*, 2007).

No Brasil, alguns estudos realizados em grupos populacionais específicos têm estimado a prevalência da coinfeção HTLV/HCV. Em São Paulo, a cidade mais populosa e com maior renda da América Latina, situada na região Sudeste do Brasil, 5,3% dos indivíduos infectados com HCV estão coinfectados com HTLV-1/2 (CATERINO-DE-ARAÚJO *et al.*, 2018). Na cidade do Rio de Janeiro, a coinfeção foi identificada em 7,5% dos indivíduos portadores crônicos de HCV (MACIEL E MELLO, 2015). Na cidade de Ribeirão Preto, localizada na região Nordeste do estado de São Paulo um estudo avaliou durante 11 anos a

prevalência do HTLV e coinfeções em doadores de sangue. A prevalência do HCV nos doadores com HTLV reagente foi de 35,9% (PINTO *et al.*, 2012). Em Campinas, terceira cidade mais populosa do estado de São Paulo, foi conduzido um estudo para estimar a prevalência das infecções causadas pelo vírus hepatotrópicos, retrovírus, HPV e treponema em homens que fazem sexo com homens. Foi observado que a infecção pelo HTLV foi predominantemente encontrada como mono- infecção (63%), enquanto que o HCV apareceu apenas como uma coinfeção com os outros agentes (CATALAN-SOARES *et al.*, 2014).

A partir da década de 1980 vários estudos foram realizados, a fim de elucidar os efeitos e mecanismo de interação das duas infecções virais nos indivíduos. Alguns deles sugerem que a infecção pelo HTLV exerce um impacto negativo na resposta celular, agrava a progressão das doenças crônicas do fígado causada pelo HCV e interfere negativamente na resposta ao tratamento dos pacientes coinfectados com HTLV/HCV (OKAYAMA *et al.*, 1995; BOSCHI-PINTO *et al.*, 2000; KISHIHARA *et al.*, 2001). Em verdade, a coinfeção HTLV-1/HCV tem alto risco para o desenvolvimento de carcinoma hepatocelular (CHC), mas não para ATL ou HAM (KAMIHIRA *et al.*, 1991), inclusive há evidências que a infecção pelo HTLV-1 piora o prognóstico do transplante hepático de doador vivo relacionado ao HCV (ICHIKAWA *et al.*, 2012). A infecção pelo HTLV-1 também tem sido associada a maior prevalência de CHC em indivíduos do sexo feminino com doença crônica do fígado, associada ao HCV (TOKUNAGA *et al.*, 2014).

O HTLV-1 é capaz de modular a resposta imune em pacientes coinfectados, aumentando a produção de citocinas Th1 (ABRAHAO *et al.*, 2012). Acredita-se, que em pessoas coinfectadas com HTLV-1/HCV, a infecção das células T pelo HTLV-1 interfira com a resposta dos linfócitos T citotóxicos a hepatócitos infectados pelo HCV (BOSCHI-PINTO *et al.*, 2000). Além disso, os portadores de HTLV-1 têm uma capacidade aumentada de induzir a proliferação de células T e produzir interferon IFN- γ que atua como um importante

fator antiviral, bem como a infecção pelo HTLV-1 leva a uma resposta imune mais forte, com alta produção de citocinas durante a coinfeção com o HCV, tais como IL-2, IL-6, IL-15 e IFN- γ (CASSEB, 2000).

Alguns estudos realizados na região de Miyazaki, sul do Japão, área altamente endêmica para o HTLV-1, apresentaram dados sobre a interação HTLV/HCV. A coinfeção com HTLV-1 foi significativa mais frequente em indivíduos com carcinoma hepático induzida pelo HCV do que em indivíduos com hepatite crônica associada ao HCV (OKAYAMA *et al.*, 1995). A coinfeção HTLV/HCV não parece ter nenhum impacto mensurável no alto risco da mortalidade por câncer hepático associado ao HCV (STUVER *et al.*, 1996). No entanto, foi encontrada uma forte interação positiva entre as infecções por HTLV-1 e HCV no resultado mais extremo associado a infecção pelo HCV que é a morte por câncer hepático (BOSCHIPINTO *et al.*, 2000).

Outro estudo realizado no sudeste do Japão, em uma área também endêmica para o HTLV e HCV, com pacientes coinfectados para ambos os vírus e em tratamento com interferon demonstrou que o HTLV inibiu a eliminação do HCV nestes pacientes (KISHIHARA *et al.*, 2001). Além disso, foi evidenciado que a proteína Tax, codificada pelo HTLV-1, regula positivamente a replicação do HCV (ZHANG *et al.*, 2007), mantendo a viremia do HCV persistente e com carga viral elevada. Nos indivíduos usuários de drogas de nove cidades do Estados Unidos e coinfectados com HTLV-2 e HCV foi observada uma maior carga viral de HCV do que em indivíduos coinfectados com HIV/HCV (HISADA *et al.*, 2003). Entretanto, um estudo realizado na cidade de São Paulo identificou que os homens apresentavam cargas virais mais altas de HCV, assim como os indivíduos coinfectados por HIV/HCV, HIV/HTLV-1/HCV, enquanto que menor carga viral do HCV foi detectada em mulheres e em indivíduos coinfectados pelo HTLV-2/HCV (ALVES *et al.*, 2018).

Com relação aos aspectos laboratoriais e histopatológicos, indivíduos coinfectados com HTLV/HCV apresentam número maior de plaquetas, maiores contagens de linfócitos T CD8+, enquanto que as enzimas hepáticas estão mais elevadas em indivíduos monoinfectados HCV e não há diferença entre os indivíduos coinfectados e monoinfectados no que diz respeito à análise histopatológica do fígado (KAMIHIRA *et al.*, 1991; STUVER *et al.*, 2000; CARDOSO *et al.*, 2009; MILAGRES *et al.*, 2009; MACIEL E MELLO, 2015; SILVA *et al.*, 2016; ESPINDOLA *et al.*, 2017). Além disso, foi evidenciado uma maior concentração de INF- γ e menor grau de esteatose hepática em pacientes coinfectados com HCV/HTLV-1 do que em indivíduos monoinfectados com HCV (SILVA *et al.*, 2016).

A tripla infecção pelo HTLV-1/HIV/HCV está associada a níveis mais altos de citocinas pró-inflamatórias, tais como INF- γ , TNF- α , IL-1b, MIP-1a, IL-2, IP-10 e RANTES, em comparação com indivíduos coinfectados com HIV/HCV (BRITES *et al.*, 2018), além de baixo grau de fibrose hepática com maior contagem de células CD4 (BAHIA *et al.*, 2011). Esses dados subsidiam a necessidade de triagem precoce da infecção pelo HTLV-1 em pacientes coinfectados pelo HIV e /ou HCV, visto que o tratamento mais precoce do HIV e HCV pode prevenir o desenvolvimento de fibrose hepática e alcançar melhores resultados com a terapia crônica da hepatite C (BAHIA *et al.*, 2011). Na tripla infecção, o HTLV pode ter um efeito positivo na eliminação espontânea do HCV do que em pacientes coinfectados com HIV/HCV ou ainda monoinfectados com HCV (LE MARCHAND *et al.*, 2015) e o HTLV-2 provoca um retardo no desenvolvimento de fibrose nos pacientes coinfectados com HIV e HCV, além de manter baixos níveis de alanina aminotransferases (ABAD-FERNANDEZ *et al.*, 2015). A influência do HTLV sobre a eliminação do HCV observada nos estudos realizados no Brasil difere dos resultados obtidos nos estudos realizados no Japão, sendo que as diferenças encontradas podem estar relacionadas a fatores genéticos dos indivíduos coinfectados (CASTRO E ROGER, 2016).

Diferente do que ocorre na coinfeção HIV/HCV, foi evidenciado que a depuração espontânea do HCV é significativamente mais provável de ocorrer em pacientes coinfectados pelo HTLV-1/HCV, do que em pacientes com HIV/HCV, provavelmente como consequência de modulação imunológica (MOREIRA *et al.*, 2013). De fato, alterações no ambiente imunológico induzidas pela infecção pelo HTLV-1 podem levar a uma redução do dano hepático, mesmo sem uma depuração significativa do HCV, como também a coinfeção HTLV/HCV não altera de maneira mutualística o desfecho em relação às manifestações neurológicas causadas pelo HTLV (ESPINDOLA *et al.*, 2017).

Com relação a proliferação basal de células T, não foi observado aumento significativo das células T em indivíduos coinfectados HTLV-1/HCV. Esta interação pode estar implicada em danos no fígado, agravando o prognóstico de doentes coinfectados ou, pelo contrário, induzindo uma maior eliminação espontânea da infecção pelo HCV (ASSONE *et al.*, 2018).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Determinar a taxa da infecção do HTLV, HCV e coinfeção HTLV/HIV no estado da Bahia e o impacto da coinfeção entre HTLV e HCV no perfil de citocinas.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Determinar a taxa de infecção, distribuição geográfica e perfil sócio demográfico do HTLV, HCV e coinfeção HTLV/HCV no período de 2004 a 2013;
- ✓ Descrever o perfil das citocinas inflamatórias e regulatórias (TNF- α , IFN- γ , IL 1, IL- 8 e IL-10) dos pacientes coinfectados com HTLV/HCV, monoinfectados com HCV e indivíduos saudáveis.

4. ARTIGOS

4.1 CAPÍTULO 1: DETERMINAR A TAXA DE INFECÇÃO, DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E PERFIL SÓCIO DEMOGRÁFICO DO HTLV EM UM PERÍODO DE DEZ ANOS.

O artigo “*Evidence of New Endemic Clusters of Human T-cell leukemia virus (HTLV) infection in Bahia, Brazil*” apresenta a distribuição geográfica do HTLV tipo -1 e HTLV-tipo-2 e coinfeção do HTLV-1/2 no estado da Bahia, no período de 2004 a 2013. Os casos de infecção pelo HTLV identificados neste presente estudo foram avaliados por sexo e faixa etária. Neste artigo, nós verificamos o número de casos positivos de HTLV por ano e observamos que durante o período do estudo houve um aumento dos casos diagnosticados para o HTLV, sobretudo a partir de 2009. Com os dados obtidos foi possível identificar três novos *clusters* do HTLV na Bahia, além de estimar o número de pessoas infectadas pelo HTLV no estado. O artigo foi publicado em 14 de maio de 2019 na revista *Frontiers in Microbiology*.



Evidence of New Endemic Clusters of Human T-Cell Leukemia Virus (HTLV) Infection in Bahia, Brazil

Felicidade Mota Pereira^{1,2}, *Maria da Conceição Chagas de Almeida*³, *Fred Luciano Neves Santos*¹, *Roberto Perez Carreiro*⁴, *Carlos Gustavo Regis-Silva*¹, *Bernardo Galvão-Castro*^{1,5} and *Maria Fernanda Rios Grassi*^{1,5*}

OPEN ACCESS

Edited by:
Louis M. Mansky,
University of Minnesota, United States

Reviewed by:
Julia Fonseca De Moraes Caporali,
Federal University of Minas Gerais,
Brazil
Carlos Brites,
Federal University of Bahia, Brazil
Marina Lobato Martins,
Fundação Centro de Hematologia e
Hemoterapia de Minas Gerais, Brazil
Antoine Gessain,
The Institut Pasteur, France
Houshangh Rafatpanah,
Mashhad University of Medical
Sciences, Iran

***Correspondence:**
Maria Fernanda Rios Grassi
fernanda.grassi@fiocruz.br;
mfrgrassi@gmail.com

Specialty section:
This article was submitted to
Virology,
a section of the journal
Frontiers in Microbiology

Received: 05 October 2018

Accepted: 18 April 2019

Published: 14 May 2019

Citation:
Pereira FM, Almeida MCC,
Santos FLN, Carreiro RP,
Regis-Silva CG, Galvão-Castro B and
Grassi MFR (2019) Evidence of New
Endemic Clusters of Human T-Cell
Leukemia Virus (HTLV) Infection
in Bahia, Brazil.
Front. Microbiol. 10:1002.
doi: 10.3389/fmicb.2019.01002

¹ Laboratório Avançado de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, Brazil, ² Laboratório Central de Saúde Pública Prof. Gonçalo Moniz – Secretaria da Saúde do Estado da Bahia, Salvador, Brazil, ³ Laboratório de Epidemiologia Molecular e Bioestatística, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, Brazil, ⁴ Centro de Integração de Dados e Conhecimentos para Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, Brazil, ⁵ Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, Salvador, Brazil

Background: Salvador, Bahia (northeastern Brazil), has been identified as the epicenter of Human T-cell leukemia virus Human T-cell leukemia virus (HTLV) type 1 infection in the country. This study aims to estimate the rate of HTLV infection and the geographical distribution of this virus in this state.

Methods: All HTLV tests (chemiluminescence/ELISA assays/Western Blotting) performed in the Central Laboratory of Public Health of Bahia (LACEN) from 2004 to 2013 were included. Data was extracted from LACEN's database using high volume extract, transformation and load throughput. Infection rate was expressed as the number of infected individuals per 100,000 inhabitants considering municipalities grouped in microregions and/or mesoregions as the unit of analysis.

Results: A total of 233,876 individuals were evaluated. Individuals were from 394 out of 417 municipalities of Bahia (94.5%). HTLV chemiluminescence/ELISA assay was found to be reactive for 3,138 individuals from whom 2,323 had WB results (1,978 positives, 62 negative and 282 indeterminate). Out of 1978 reactive samples, 1,813 (91.7%) were positive for HTLV-1, 58 (2.9%) for HTLV-2 and 107 (5.4%) were for both HTLV-1 and HTLV-2. The cumulative mean rate of HTLV-positive cases in Bahia was 14.4 per 100,000 inhabitants. Three microregions presented rates >20 HTLV-positive cases/100,000 inhabitants: Barreiras (24.83 cases per 100,000 inhabitants), Salvador (22.90 cases per 100,000 inhabitants), and Ilhéus-Itabuna (22.60 cases per 100,000 inhabitants).

Conclusion: HTLV infection is disseminated in the state of Bahia, with an overall moderate rate of infection. Further studies should be conducted to characterize the epidemiological and clinical profile of HTLV-infected individuals better and to propose effective prevention measures.

Keywords: HTLV, clusters, epidemiology, Bahia, spatial distribution

INTRODUCTION

Human T-cell leukemia virus (HTLV) type 1 was the first human oncogenic retrovirus to be identified in 1979 (Poiesz et al., 1980). Subsequently, in 1982, HTLV-2 was identified (Kalyanaraman et al., 1982). HTLV types 3 and 4 were identified only in 2005 in samples of patients from Cameroon (Calattini et al., 2005; Wolfe et al., 2005). To date, only HTLV-1 has been associated with the development of severe diseases, such as adult T-cell leukemia/lymphoma (Hinuma et al., 1981) and tropical spastic paraparesis/HTLV-1 associated myelopathy (TSP/HAM) (Gessain et al., 1985; Osame et al., 1986), uveitis (Mochizuki et al., 1992) and infective dermatitis (LaGrenade et al., 1990). HTLV-1 infection has also been associated with inflammatory diseases, such as bronchiectasis (Einsiedel et al., 2014; Honarbakhsh and Taylor, 2015), Keratoconjunctivitis sicca (Castro-Lima Vargens et al., 2011) and arthritis (Yakova et al., 2005). In addition, HTLV-1-infected individuals are known to be more susceptible to infectious diseases, such as tuberculosis (Marinho et al., 2005; Verdonck et al., 2007a; Grassi et al., 2016), disseminated *Strongyloides stercoralis* (Nera et al., 1989) and Norwegian scabies (Brites et al., 2002). The transmission of HTLV-1 occurs through the transfusion of contaminated blood or tissue, including needle sharing among drug users, from mother-to-child, predominantly through breastfeeding (Bittencourt et al., 2001), as well as through sexual contact (Gessain and Cassar, 2012). Recently, the sexual transmission of HTLV-1 was reported as the main route in Salvador, Bahia (Nunes et al., 2017).

It is estimated that at least 5–10 million people are infected with HTLV-1 worldwide, with the highest prevalence occurring in Japan, on the African continent, in the Caribbean, the Melanesian Islands and South America (Gessain and Cassar, 2012). HTLV-2 is less prevalent and is predominantly found in the indigenous populations of North, Central, and South America, as well as in injection drug users in the United States and Europe (Ishak et al., 1995; Hall et al., 1996).

Brazil is home to around 800,000 HTLV-1-infected people and represents one of the largest endemic areas for the diseases associated with HTLV-1 (Gessain and Cassar, 2012). The virus is present throughout the country, with variable prevalence in accordance with geographical region, being highest in the Northeast and North regions. Salvador, the capital of the state of Bahia, has been identified as the epicenter of HTLV-1 infection in Brazil (Galvao-Castro et al., 1997; Catalan-Soares et al., 2005). A population-based study conducted in this city found that 1.76% of the population was infected with HTLV-1. A higher prevalence was found among women, reaching 10% of those aged 50 years or older (Dourado et al., 2003).

Bahia is the largest state in the Brazilian Northeast, with a total of 417 municipalities. Sparse studies have indicated that HTLV-1 infection may be present in some regions of the state. However, these studies have investigated specific population groups, such as pregnant women, blood donors or drug users (Dourado et al., 1998; Magalhaes et al., 2008; Boa-Sorte et al., 2014; Mello et al., 2014). Large-scale population-based assessments are considered the gold standard to determine the prevalence of a given infection; however, the high cost associated with these

make them difficult to perform (Hlela et al., 2009). The present study aimed to estimate the seroprevalence and geographical distribution of HTLV infection in the state of Bahia over a 10-year period (2004–2013). All available serological tests for HTLV-1/2 were evaluated using the database of the Bahia state public health reference laboratory, which tests blood samples from all municipalities in the state.

MATERIALS AND METHODS

Ethics Statement

The Institutional Review Board (IRB) for Human Research at the Gonçalo Moniz Institute of the Oswaldo Cruz Foundation (Salvador, Bahia, Brazil) provided ethical approval to conduct this study (CAAE number 22478813.7.0000.0040).

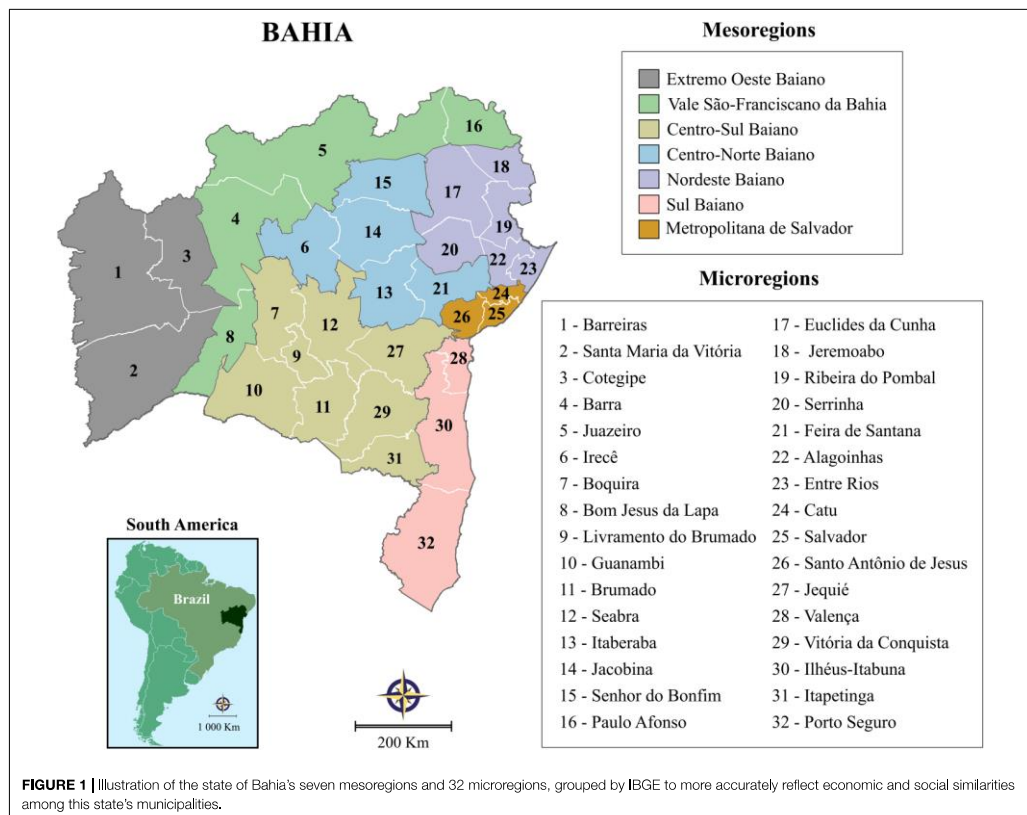
Study Area

This study was performed in the state of Bahia, Brazil, the fourth largest state in terms of population size, and the fifth largest in terms of area: 565,733 km². The state is comprised of 417 municipalities, which have been grouped into 32 microregions and seven mesoregions by the Brazilian National Institute of Geography and Statistics (IBGE) in accordance with the economic and social similarities among them (Figure 1). According to the 2015 Brazilian national census, the state's total population size was 15,203,934 inhabitants, with an overall density of 27 inhabitants per km² (<http://www.ibge.gov.br>).

Study Design

A retrospective ecological study was conducted using data obtained from the Central Laboratory of Public Health of Bahia (LACEN-BA), which is responsible for infectious disease surveillance throughout the state via laboratory analysis. The target population was comprised mainly of blood donors, pregnant women and individuals exhibiting symptoms of infectious disease, referred by blood banks, prenatal physicians or clinicians in the public health system.

All serological tests for HTLV were included among the 32 Bahia microregions from 2004 to 2013. From 2004 to 2008, testing was carried out by ELISA using the Murex HTLV-1/2 immunoassay (DiaSorin S.p.A., Dartford, United Kingdom), from 2009 to 2010 using the anti-HTLV-1/2 Sym Solution kit (Symbiosis Diagnostica LTDA, Leme, Brazil) and, from 2011, the CLIA chemiluminescence assay (Architect rHTLV-1/2, Abbott Diagnostics Division, Wiesbaden, Germany) was used. When HTLV seropositivity was detected, Western blotting (HTLV Blot 2.4, Genelabs Diagnostics®, Singapore) was used throughout the study period for confirmation. HTLV-negative samples were defined as lack of reactivity to HTLV-specific proteins; HTLV-1-positive samples were defined as reactive to GAG (p19 with or without p24) and two ENV (GD21 and rgp46-I) proteins; HTLV-2-positive samples were those reactive to GAG (p24 with or without p19) and two ENV (GD21 and rgp46-II) proteins; HTLV seropositive samples were defined as samples reactive to GAG (p19 and p24) and ENV (GD21). The samples that indicated co-infection of HTLV -1/2 demonstrated reactivity for



specific markers of both HTLV-I and HTLV-II: GD21, p19, p24, rgp46-II and rgp46-I. Samples were considered indeterminate when no specific bands for HTLV-I, HTLV-II, or HTLV were detected. All serological tests for HTLV that lacked confirmatory results were excluded.

Data Analysis

All serological tests performed in each year of the study period were extracted from the SMART LAB laboratory management system using high volume extract, transformation and load throughput. Each individual's unique registration number was considered as the key variable. In order to avoid multiplicity, each individual's most recent serological result was considered. The database was validated using the R software package and analyzed with STATA v13.0. Median and interquartile range (IQR) intervals were calculated for the age variable, and individuals were grouped accordingly. Absolute and relative frequencies were calculated for all categorical variables (age groups: <15/15–30/31–50/>50; sex: male/female, and serological test results: reactive/non-reactive). Geographic information system

techniques and spatial analysis tools were employed to determine the geographical distribution of HTLV throughout the state of Bahia. Population data were acquired from IBGE, supported by national census data from 2010 and official estimates for all other years¹.

Infection rate was expressed as the number of infected individuals per 100,000 inhabitants. Microregions and/or mesoregions were adopted as the unit of analysis in order to obtain improved accuracy concerning differences among regions. Digital maps were obtained from the IBGE cartographic database in shapefile (.shp), which were subsequently reformatted and analyzed using TerraView version 4.2, open source software freely available from the National Institute for Space Research². Spatial distribution maps based on moving averages were constructed by applying 3-year intervals to data from 2004 to 2013. This method was also used to minimize the effects of random fluctuation for a time-series of infection rates calculated

¹<http://www.ibge.gov.br>

²www.dpi.inpe.br/terraview

for rare events. Annual incidence rates were calculated for each of the 32 micro-regions and the entire state using standardized methods. To assess the relative risk of HTLV in each microregion, maps were constructed using the moving average for the first 3-year rate in Bahia as the denominator assuming no changes in time and space.

RESULTS

A total of 249,869 serologies for HTLV were performed during the studied period. Due to multiplicity (i.e., the presence of multiple serological test results in the database for a given individual), 15,993 samples were excluded (Figure 2). The final sample comprised 233,876 serological tests from unique individuals. Out of 3,138 HTLV-positive samples, the 2,323 samples submitted to Western blotting produced 1,978 positive (85.2%) 63 negative (2.7%) and 282 (12.1%) indeterminate results, yielding an overall prevalence of 0.84%. However, 815 samples were not submitted to Western Blot due to a lack of reagents at some points during the study period, and were excluded from the analysis. Assuming that 85.2% of these 815 samples Blot would have been HTLV positive, it follows that the overall prevalence of HTLV would have been 1.18%.

Of the positive samples, 1,813 (91.7%) were positive for HTLV-1 (prevalence of 0.78%), 58 (2.9%) for HTLV-2 (prevalence of 0.025%) and 107 (5.4%) were positive for both HTLV-1 and HTLV-2 (prevalence of 0.05%). A total of 394 (94.5%) of the 417 municipalities in the state reported at least one positive result during the study period. Information regarding the municipality of sample origin was missing for 1.4% of the HTLV-positive samples. Figure 3 illustrates the spatiotemporal distribution of HTLV positivity at eight distinct time points. An overall increase in the number of positive cases was observed in all microregions, most notably after 2008, as evidenced by the first 5 years of study (2004–2008) in which 4.3 cases of HTLV per 100,000 inhabitants was found, compared to 10.5 cases per 100,000 inhabitants during the final period (2009–2013).

The cumulative mean rate of HTLV-positive cases in Bahia was 14.4 per 100,000 inhabitants. Considering the grouping of HTLV-positive samples into microregions (Figure 4), three demonstrated rates above 20 HTLV-positive cases per 100,000 inhabitants: Barreiras (24.83 cases per 100,000 inhabitants), Salvador (22.90 cases per 100,000 inhabitants), and Ilhéus-Itabuna (22.60 cases per 100,000 inhabitants). Elevated rates of HTLV infection ranging from 8.96 to 19.30 cases per 100,000 inhabitants were also seen in nine other microregions. In the remaining microregions, a homogenous distribution of HTLV positivity was observed. No information was retrieved from two microregions (Santa Maria da Vitória and Jeremoabo).

The microregions of Barreiras, Salvador and Porto Seguro were all notable for high rates of HTLV-1 and HTLV-2 infection, as well as HTLV-1/2 coinfection. HTLV-1 was also predominant in Ilhéus-Itabuna and Itapetinga microregions. Higher rates of HTLV-2 infection were also found in the Livramento do Brumado and Juazeiro microregions. HTLV-1/2

coinfection was most prevalent in the Entre Rios and Valença microregions (Figure 4).

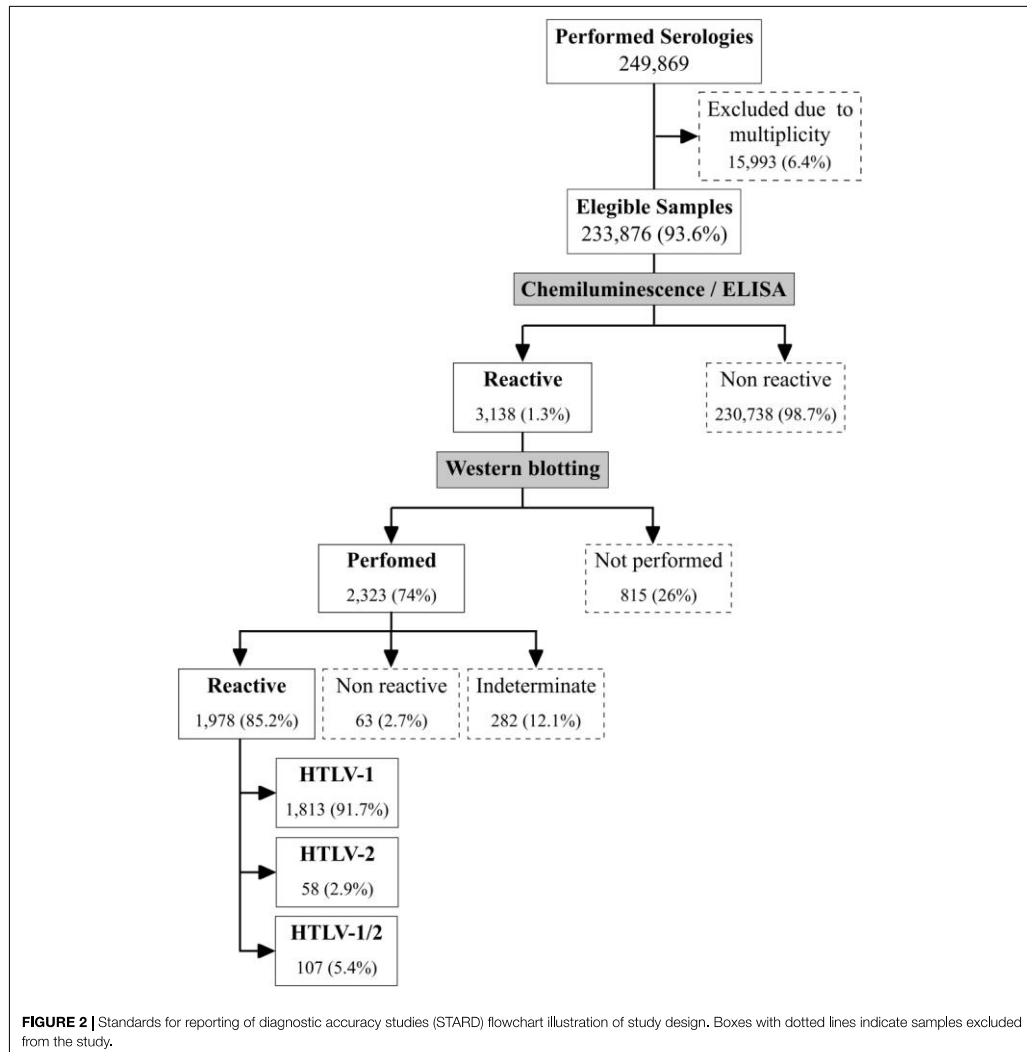
The median age of the studied population was 31 years (interquartile range: 25–39 years) and the female:male ratio was 8:1. The median age of HTLV-infected persons was 46 years (IQR: 33–59 years), and 75% were women. Overall, our analysis of HTLV-positivity according to age and sex showed much higher frequencies in individuals aged 31 years or older for both males (85.7%) and females (79.3%) (Figure 5). Our stratified age analysis identified 42 positive individuals aged 15 years or younger from all of the mesoregions. The highest frequency of this age group was found in Nordeste Baiano. Three children, two male and one female, younger than 48 months of age, tested positive for HTLV.

In two mesoregions, Extremo Oeste Baiano and Nordeste Baiano, higher frequencies of positive cases were observed among females aged 15–30 years as compared to males. Conversely, a higher frequency of positive cases among males aged >30 years was found in the Vale do São Francisco da Bahia mesoregion.

DISCUSSION

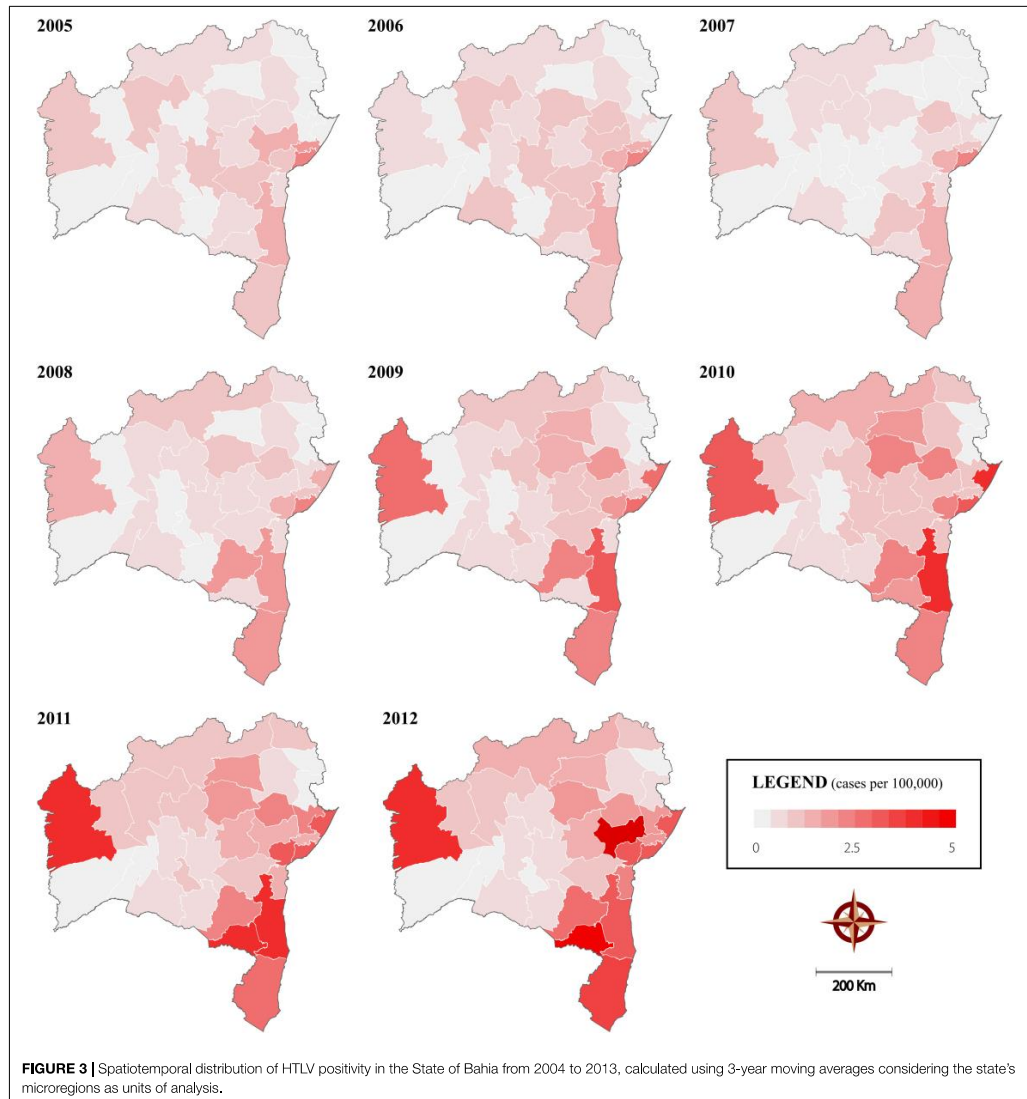
Salvador, the capital of the Brazilian state of Bahia, has been considered the epicenter of HTLV-1 infection in Brazil. A population-based study conducted in 2003 estimated a total of 40,000 infected individuals in this city (Dourado et al., 2003). Scattered studies have evidenced the presence of the virus in specific population groups throughout the state, such as pregnant women (Bittencourt et al., 2001; Magalhaes et al., 2008; Mello et al., 2014). To date, no information on the number of HTLV-infected individuals in the State of Bahia (the fourth-most populous in Brazil), nor the geographical distribution of these individuals, has been available. The present results demonstrate that HTLV infection is indeed widespread throughout the state, with an overall rate of 14.4 per 100,000 inhabitants. HTLV-1 can be considered predominant, as it corresponds to 91.2% of all cases, followed by HTLV-1/HTLV-2 coinfection (5.4%) and HTLV-2 (2.9%).

Notably, our results identified one important cluster of HTLV infection comprising four microregions surrounding the Salvador microregion (Entre Rios, Santo Antonio de Jesus and Catu). This cluster consists of 43 cities and concentrates almost a third of the state's population. Geographically, the municipalities in this cluster are mainly located in the area surrounding the Baía de Todos os Santos, which is considered to have a subtropical climate characterized by Atlantic Forest. The population is largely of similar ethnic origin (mainly of African descent) with uniform socialdemographic characteristics. As expected, the Salvador microregion which includes 10 municipalities, presented a high overall rate of HTLV-infection (22.90/100,000 inhabitants). This finding confirms previous reports indicating that Salvador is highly affected by this virus (Dourado et al., 2003). Cruz das Almas, a city located in the Santo Antônio de Jesus microregion was also previously identified as having a 1% prevalence in pregnant women (Magalhaes et al., 2008).



Unexpectedly, the present results also identified three other endemic clusters: one located in the southernmost (comprising four microregions, 86 municipalities, ~2.7 million inhabitants), one in the central region (two microregions, 33 municipalities, ~750,000 inhabitants) and another in the westernmost region of the state (comprising one microregion, 7 municipalities, ~280,000 inhabitants). Scarce studies identified the presence of HTLV-1 infection in some cities located in these regions: a recent study evaluating pregnant women in Ilhéus and Itabuna, cities in the southern region of Bahia, found 1.05% were infected with

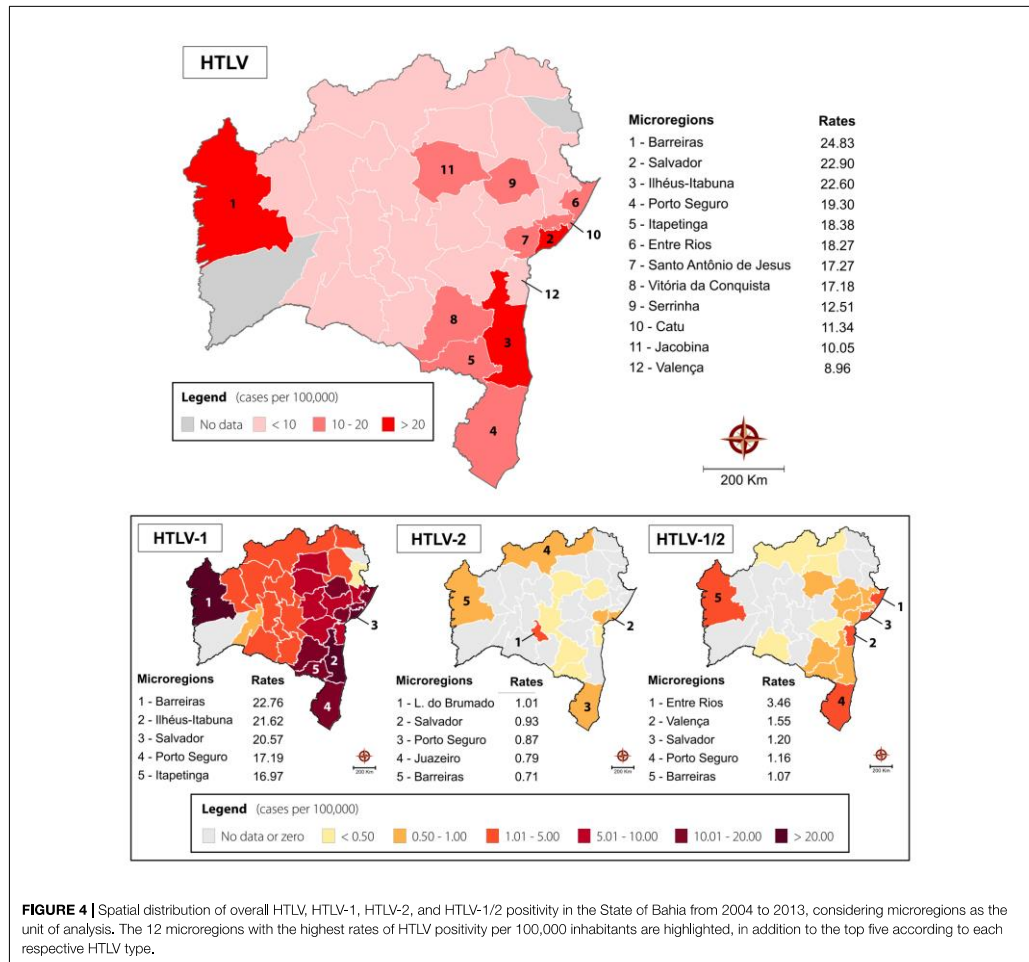
HTLV-1 (Mello et al., 2014), while another study found HTLV-1 infection in people from the Jacobina microregion (Britto et al., 1998; Rego et al., 2008). The Ilhéus-Itabuna microregion is located around the southern coastal region of Bahia, having a humid tropical climate with areas of Atlantic Forest. This regional center is home to important commercial, service, and industrial activities. The economic importance of this region grew during the golden era of cocoa production. Nowadays, the economy is based on tourism and other activities related to the seaport. By contrast, the Jacobina microregion has a



tropical climate with a dry season. Surrounding lakes, mountains, rivers and waterfalls favor ecological tourism. Regarding the Barreiras microregion, located in the westernmost part of Bahia, to the best of our knowledge no previous studies reported this area being endemic to HTLV infection. We cannot exclude the possibility that these microregions received samples from surrounding areas. Barreiras is the most important municipality located in the microregion, and the city borders Tocantins state.

This microregion has a tropical climate and the predominant vegetation is the arboreal cerrado. The regional economy is mainly based on agribusiness, and migrants from all over Brazil moved here in the 1970s and 1980s.

While higher rates of HTLV-1/2 co-infection were mainly present in some microregions identified as HTLV-1 clusters, including Salvador, Barreiras and Porto Seguro, the highest rates of HTLV-2 were present in Livramento do Brumado microregion,



located in the center of the state, and Juazeiro, located in the north. In Brazil, few studies have reported on the prevalence of HTLV-1/2 coinfection (Gabbai et al., 1993). HTLV-2 infection has been predominantly reported in indigenous populations residing in northern Brazil (Ishak et al., 1995) and among injectable drug users in urban areas (Gabbai et al., 1993). It is possible that HTLV-1/2 coinfection found in Bahia may result from the introduction of drug users infected with HTLV-2 into areas in which HTLV-1 is already prevalent.

Of note, a progressive increase in the incidence of HTLV infection was observed throughout the study period. This is likely due to an expansion in the number of municipal primary health clinics provided by the federal Family Health Program, as well as increases in testing and counseling centers (aimed primarily

at sexually transmitted diseases) in the countryside of the state. In addition, awareness surrounding HTLV infection increased during the study period and HTLV was included on the list of compulsory disease notifications for the state of Bahia in 2011.

With respect to HTLV infected individuals profile, the mean age was 46 years with a predominance of female (75%). HTLV infection is known to be more prevalent in women, and its prevalence increases with age (Dourado et al., 2003; Mota et al., 2006). Herein, a higher proportion of HTLV-1-infected women was detected in the 31–50 age range among most mesoregions. This could be due to the non-random nature of the sample, which was young (median age of 31 years) and consisted mostly of females. Increased sexual activity is more common in this age range, and virus transmission is known to be more efficient from

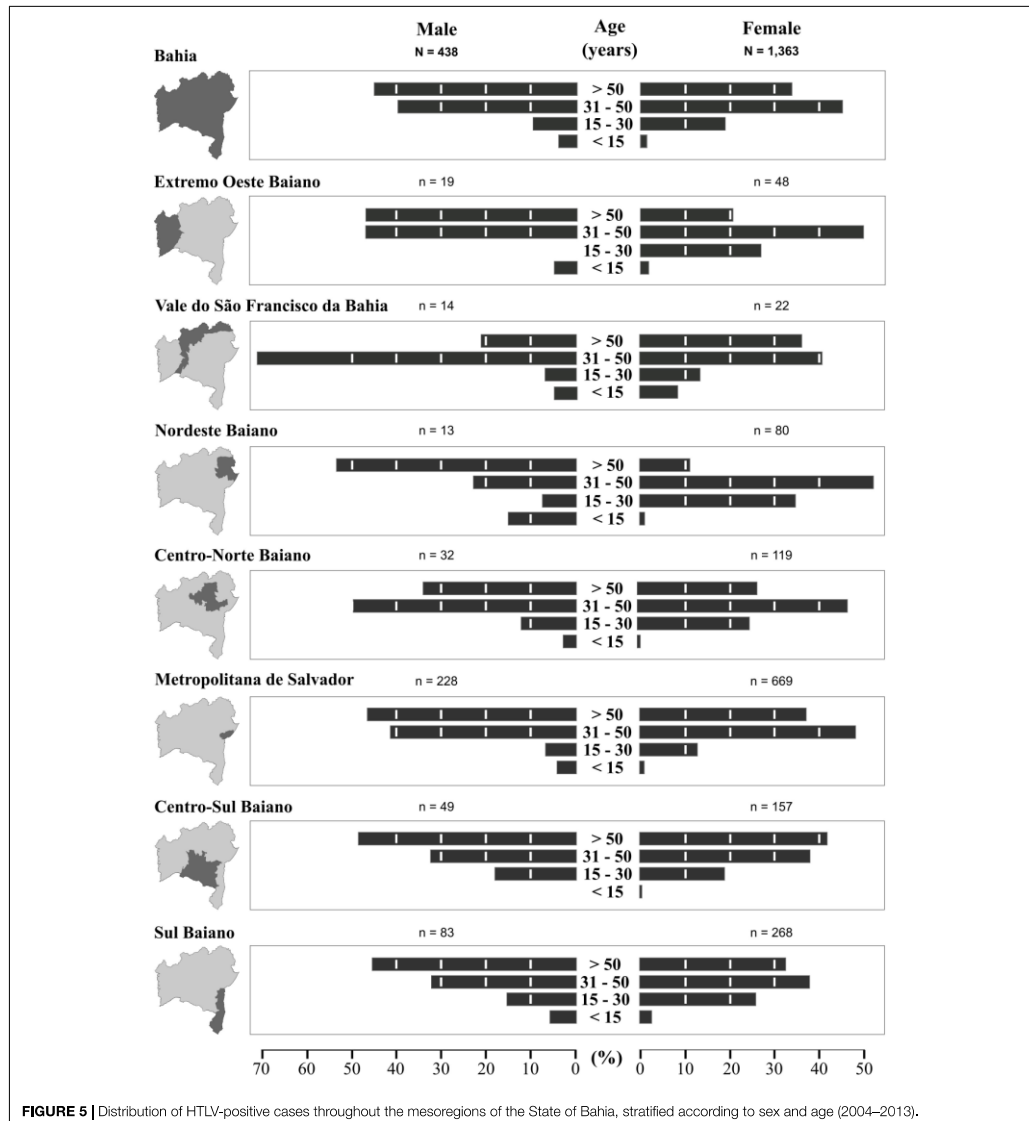
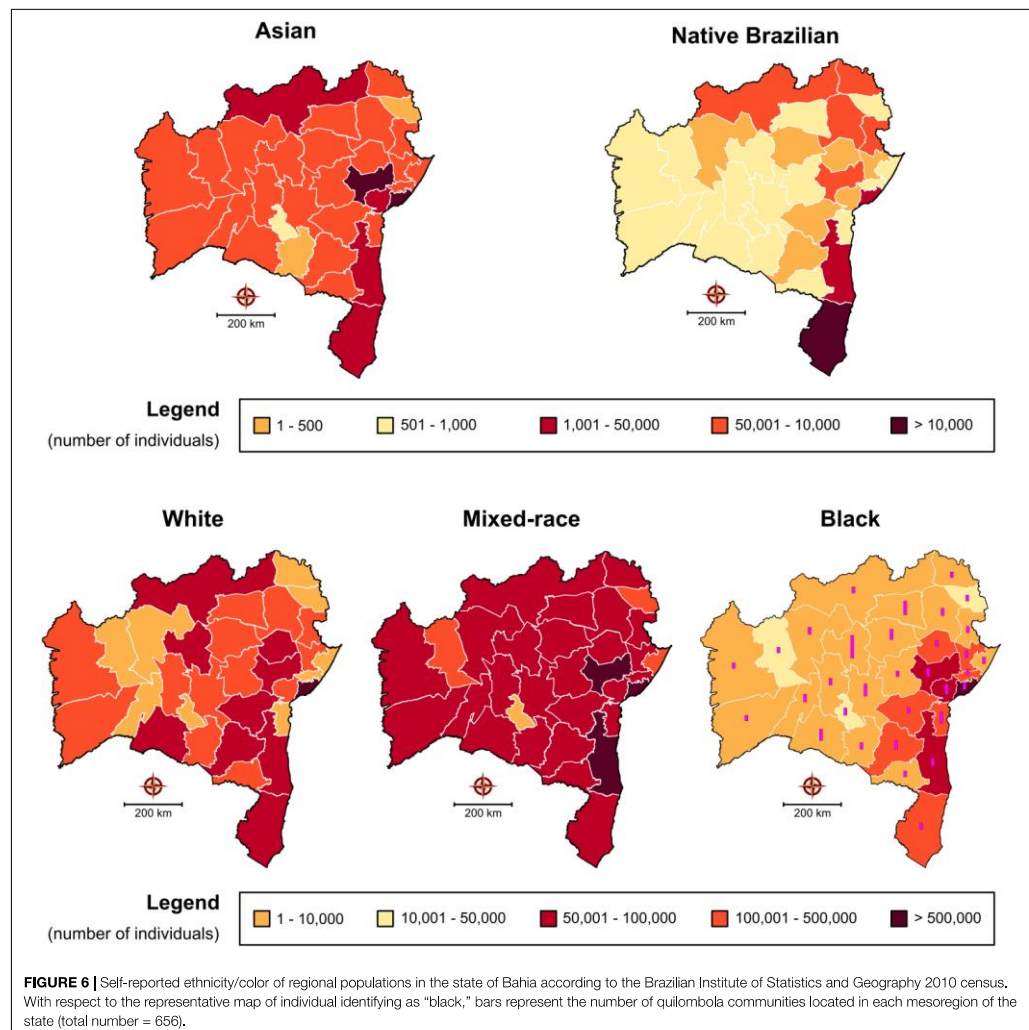


FIGURE 5 | Distribution of HTLV-positive cases throughout the mesoregions of the State of Bahia, stratified according to sex and age (2004–2013).

men to women (Murphy et al., 1989). It is also possible that compulsory serological HTLV screening for pregnant women, in effect in Bahia, contributed to the higher proportion of women detected in this age range.

By contrast, in the Vale do São Francisco and Centro Norte Baiano mesoregions, men were found to be predominantly infected by HTLV in the age range of 31–50 years. Both

mesoregions are highly productive agricultural zones containing municipalities of high population density. In addition, the Centro Norte Baiano mesoregion attracts young men to work in the mining industry. Accordingly, it is theoretically possible that the higher prevalence observed in men of this age range could be due to increased exposure to illicit drugs, as well as to an increased incidence of STDs, such as HIV, gonorrhea and syphilis. In



addition, lower levels of formal education and income have been attributed to a higher risk of acquiring HTLV infection (Dourado et al., 2003). Moreover, despite the greater efficiency of male-female transmission, evidence of female-male transmission has also been reported (Brodine et al., 1992). Concerning the possible route of the HTLV transmission, it has been suggested that in Salvador the sexual route predominates, since almost no children was found to be infected (Dourado et al., 2003; Nunes et al., 2017). In the present study the HTLV infection was observed in 42 individuals under 15 years, indicating that in addition to sexual transmission, the vertical route may be an important route.

Brazil is considered an endemic area for HTLV (Gessain and Cassar, 2012). However, the prevalence of this infection in the country varies according to the geographic region, being higher in the North and Northeast (Galvao-Castro et al., 1997). The origin of HTLV in Brazil is linked to the introduction of the virus in the post-Colombian era, by the slave trade from Africa mainly to the northeastern cities of the country (Alcantara et al., 2003; Magalhaes et al., 2008; Rego et al., 2008). The population in Bahia is highly mixed, consisting of mostly black and mixed Western African and Portuguese descendants (Azevedo et al., 1982). **Figure 6** illustrates the distribution in each

microregion of self-reported ethnicity/color (white, mixed-race, black, Asian, or native Brazilian) according to the data reported by the Brazilian Institute for Geography and Statistics (IBGE) in its 2010 census³. A diffuse distribution is observed throughout the microregions, especially with respect to white/mixed-race and black, which corresponds to the distribution of HTLV-1 cases, while native Brazilians are more concentrated in the Porto Seguro microregion, which also had a notable rate of HTLV-2 infection. However, the information available prevents us from making direct correlations between ethnic profile and the distribution of HTLV types. Interestingly, the data herein indicate that the microregions with the highest rates of infection in the state of Bahia were areas where communities recognized as quilombos predominated. Originally, quilombos were places of refuge for the African and Afro-descendant slaves who fled slavery. Their descendants often remained in these areas and were then termed quilombolas. Bahia is one of the states with the highest number of quilombolas recognized⁴, **Figure 6** (Black).

One limitation of the present study was the non-random sample, which was predominantly female. However, our analysis considered samples from 94% (394/417) of the municipalities in Bahia, a state with an estimated population of 15,126,371 inhabitants; i.e., just 5.5% of the municipalities (comprising a total of 260,125 inhabitants) did not send any samples to LACEN during the study period. This was especially relevant in two microregions (Santa Maria da Vitória and Jeremoabo), from which no information regarding HTLV testing was obtained. To explain this, we can only speculate that perhaps local health authorities chose to outsource testing to private laboratory services instead of sending samples to LACEN, or that authorities in these municipalities did not properly implement actions designed to increase HTLV detection. In fact, the municipality of Jeremoabo has, to date, not reported a single case of HTLV to the Information System on Diseases of Compulsory Declaration (Sistema de Informação de Agravos de Notificação—Sinan), while Santa Maria da Vitória reported a single case in 2013 and another in 2018 (data not shown). Accordingly, we surmise that health professionals in these areas faced challenges in identifying patients suspected of HTLV infection, and/or did not recognize HTLV infection as a sexually transmitted infection, and therefore did not request appropriate serological testing. While population-based studies are considered the gold standard for estimating infection prevalence, high cost and methodological difficulties can present significant challenges (Hlela et al., 2009). Accordingly, estimates of HTLV prevalence are often based on data obtained from blood banks, pregnant women and other population groups (Verdonck et al., 2007b). In addition, the present study is unable to offer any insight into virus phylogeny, as the retrospective nature of this investigation precluded the performance of molecular analysis to accurately assess results considered indeterminate by Western Blot.

³<http://www.ibge.gov.br>

⁴http://www.palmares.gov.br/?page_id=37551

CONCLUSION

In conclusion, the present study serves to highlight previously unreported data regarding clusters of HTLV infection throughout the state of Bahia, which is considered to be the Brazilian state with the highest HTLV infection rate. HTLV infection cannot be considered as restricted to the area of Salvador, the capital of Bahia, as the data reported herein identified new endemic areas. Considering the overall prevalence of HTLV in Bahia to be 0.84% (1,978/233,876), it follows that ~130,000 individuals would be infected with HTLV. However, it is important to note that this number could be underestimated, since 26% of the HTLV reactive samples were not submitted to Western blotting, and were thusly excluded. Had 85.2% of these samples been confirmed, and subsequently included in our analysis, the overall prevalence would increase to 1.18%. Further studies are needed to better describe the epidemiological profile of the infected population and to reinforce public policies designed to prevent HTLV transmission, especially in pregnant women.

ETHICS STATEMENT

As the present study has a retrospective design, evaluating HTLV serologies performed in a 10 years-period in the Public Health Laboratory of Bahia, the Institutional Research Board of Fiocruz approved a study, dispensing the signing of written informed consent.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

All authors read and approved the final version of the manuscript, analyzed and interpreted the data, and drafted the manuscript. FP, MC, MG, and BC conceived and designed the study. FP, MC, CR, RC, and MG acquired the data. FP, MG, FS, and BC critically revised the manuscript.

FUNDING

This work was supported by the National Council for Scientific and Technological Development (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq), the National Foundation for the Development of Higher Education (Fundação Nacional para o Desenvolvimento do Ensino Superior-FUNDAESP), and the Foundation for Research Support of the State of Bahia (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia-FAPESB). This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Finance Code 001.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Andris K. Walter for providing English language revision and manuscript copyediting assistance, and Dr. Graham Taylor for his valuable suggestions.

REFERENCES

- Alcantara, L. C. Jr., Van Dooren, S., Goncalves, M. S., Kashima, S., Costa, M. C., Santos, F. L., et al. (2003). Globin haplotypes of human T-cell lymphotropic virus type I-infected individuals in Salvador, Bahia, Brazil, suggest a post-Columbian African origin of this virus. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 33, 536–542. doi: 10.1097/00126334-200308010-00016
- Azevedo, E. S., Fortuna, C. M., Silva, K. M., Sousa, M. G., Machado, M. A., Lima, A. M., et al. (1982). Spread and diversity of human populations in Bahia, Brazil. *Hum. Biol.* 54, 329–341.
- Bittencourt, A. L., Dourado, I., Filho, P. B., Santos, M., Valadao, E., Alcantara, L. C., et al. (2001). Human T-cell lymphotropic virus type I infection among pregnant women in northeastern Brazil. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 26, 490–494. doi: 10.1097/00126334-200104150-00016
- Boa-Sorte, N., Purificacao, A., Amorim, T., Assuncao, L., Reis, A., and Galvao-Castro, B. (2014). Dried blood spot testing for the antenatal screening of HTLV, HIV, syphilis, toxoplasmosis and hepatitis B and C: prevalence, accuracy and operational aspects. *Braz. J. Infect. Dis.* 18, 618–624. doi: 10.1016/j.bjid.2014.05.009
- Brites, C., Weyll, M., Pedrosa, C., and Badaro, R. (2002). Severe and Norwegian scabies are strongly associated with retroviral (HIV-1/HTLV-1) infection in Bahia, Brazil. *AIDS* 16, 1292–1293. doi: 10.1097/00002030-200206140-00015
- Britto, A. P. C. R., Galvão-Castro, B., Straatmann, A., Santos-Torres, S., and Tavares-Neto, J. (1998). Infecção pelo HTLV-I/II no Estado da Bahia. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 31, 35–41. doi: 10.1590/s0037-86821998001000005
- Brodine, S. K., Oldfield, E. C. III, Corwin, A. L., Thomas, R. J., Ryan, A. B., Holmberg, J., et al. (1992). HTLV-I among U.S. Marines stationed in a hyperendemic area: evidence for female-to-male sexual transmission. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 5, 158–162.
- Calattini, S., Chevalier, S., Duprez, R., Bassot, S., Froment, A., Mahieux, R., et al. (2005). Discovery of a new human T-cell lymphotropic virus (HTLV-3) in Central Africa. *Retrovirology* 2:30.
- Castro-Lima Vargens, C., Grassi, M. F., Boa-Sorte, N., Rathsam-Pinheiro, R. H., Olavarria, V. N., de Almeida Kruschewsky, R., et al. (2011). Keratoconjunctivitis sicca of human T cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) infected individuals is associated with high levels of HTLV-1 proviral load. *J. Clin. Virol* 52, 177–180. doi: 10.1016/j.jcvi.2011.07.016
- Catalan-Souares, B., Carneiro-Proietti, A. B., Proietti, F. A., and Interdisciplinary, H. R. G. (2005). Heterogeneous geographic distribution of human T-cell lymphotropic viruses I and II (HTLV-I/II): serological screening prevalence rates in blood donors from large urban areas in Brazil. *Cad. Saude. Publica* 21, 926–931. doi: 10.1590/s0102-311x2005000300027
- Dourado, I., Alcantara, L. C., Barreto, M. L., da Gloria Teixeira, M., and Galvao-Castro, B. (2003). HTLV-I in the general population of Salvador, Brazil: a city with African ethnic and sociodemographic characteristics. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 34, 527–531. doi: 10.1097/00126334-200312150-00013
- Dourado, I., Andrade, T., and Galvao-Castro, B. (1998). HTLV-I in Northeast Brazil: differences for male and female injecting drug users. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Hum. Retrovirol.* 19, 426–429. doi: 10.1097/00042560-199812010-00016
- Einsiedel, L., Cassar, O., Goeman, E., Spelman, T., Au, V., Hatami, S., et al. (2014). Higher human T-lymphotropic virus type 1 subtype C proviral loads are associated with bronchiectasis in indigenous australians: results of a case-control study. *Open Forum. Infect. Dis.* 1:ofu023. doi: 10.1093/ofid/ofu023
- Gabbai, A. A., Bordin, J. O., Vieira Filho, J. P., Kuroda, A., Oliveira, A. S., Cruz, M. V., et al. (1993). Selectivity of human T lymphotropic virus type-1 (HTLV-1) and HTLV-2 infection among different populations in Brazil. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 49, 664–671. doi: 10.4269/ajtmh.1993.49.664
- Galvao-Castro, B., Loures, L., Rodrigues, L. G., Sereno, A., Ferreira, O. C. Jr., Franco, L. G., et al. (1997). Distribution of human T-lymphotropic virus type I among blood donors: a nationwide Brazilian study. *Transfusion* 2, 242–243. doi: 10.1046/j.1537-2995.1997.37297203532.x
- Gessain, A., and Cassar, O. (2012). Epidemiological Aspects and World Distribution of HTLV-1 Infection. *Front. Microbiol.* 3:388. doi: 10.3389/fmicb.2012.00388
- Gessain, A., Vernant, J., Maurs, L., Barin, F., Gout, O., and Calender, A. D. (1985). Antibodies to human T-lymphotropic virus type-I in patients with tropical spastic paraparesis. *Lancet* 326, 407–410.
- Grassi, M. F., Dos Santos, N. P., Lirio, M., Kritski, A. L., Chagas Almeida, Mda, C., et al. (2016). Tuberculosis incidence in a cohort of individuals infected with human T-lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) in Salvador, Brazil. *BMC Infect. Dis.* 16:491. doi: 10.1186/s12879-016-1428-z
- Hall, W. W., Ishak, R., Zhu, S. W., Novoa, P., Eiraku, N., Takahashi, H., et al. (1996). Human T lymphotropic virus type II (HTLV-II): epidemiology, molecular properties, and clinical features of infection. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Hum. Retrovirol.* 13(Suppl. 1), S204–S214.
- Hinuma, Y., Nagata, K., Hanaoka, M., Nakai, M., Matsumoto, T., Kinoshita, K. I., et al. (1981). Adult T-cell leukemia: antigen in an ATL cell line and detection of antibodies to the antigen in human sera. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 78, 6476–6480. doi: 10.1073/pnas.78.10.6476
- Hlela, C., Shepperd, S., Khumalo, N. P., and Taylor, G. P. (2009). The prevalence of human T-cell lymphotropic virus type 1 in the general population is unknown. *AIDS Rev.* 11, 205–214.
- Honarbaksh, S., and Taylor, G. P. (2015). High prevalence of bronchiectasis is linked to HTLV-1-associated inflammatory disease. *BMC Infect. Dis.* 15:258. doi: 10.1186/s12879-015-1002-0
- Ishak, R., Harrington, W. J. Jr., Azevedo, V. N., Eiraku, N., Ishak, M. O., Guerreiro, J. F., et al. (1995). Identification of human T cell lymphotropic virus type IIa infection in the Kayapo, an indigenous population of Brazil. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 11, 813–821. doi: 10.1089/aid.1995.11.813
- Kalyanaraman, V., Sargadharan, M., Robert-Guroff, M., Miyoshi, I., Golde, D., and Gallo, R. (1982). A new subtype of human T-cell leukemia virus (HTLV-II) associated with a T-cell variant of hairy cell leukemia. *Science* 218, 571–573. doi: 10.1126/science.6981847
- LaGrenade, L., Hanchard, B., Fletcher, V., Cranston, B., and Blattner, W. (1990). Infective dermatitis of Jamaican children: a marker for HTLV-I infection. *Lancet* 336, 1345–1347. doi: 10.1016/0140-6736(90)92896-p
- Magalhaes, T., Mota-Miranda, A. C., Alcantara, L. C., Olavarria, V., Galvao-Castro, B., and Rios-Grassi, M. F. (2008). Phylogenetic and molecular analysis of HTLV-1 isolates from a medium sized town in northern of Brazil: tracing a common origin of the virus from the most endemic city in the country. *J. Med. Virol.* 80, 2040–2045. doi: 10.1002/jmv.21278
- Marinho, J., Galvao-Castro, B., Rodrigues, L. C., and Barreto, M. L. (2005). Increased risk of tuberculosis with human T-lymphotropic virus-1 infection: a case-control study. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 40, 625–628. doi: 10.1097/01.qai.0000174252.73516.7a
- Mello, M. A., da Conceicao, A. F., Sousa, S. M., Alcantara, L. C., Marin, L. J., and Regina da Silva Raiol, M. (2014). HTLV-1 in pregnant women from the Southern Bahia, Brazil: a neglected condition despite the high prevalence. *Virol. J.* 11:28. doi: 10.1186/1743-422X-11-28
- Mochizuki, M., Watanabe, T., Yamaguchi, K., Takatsuki, K., Yoshimura, K., Shiro, M., et al. (1992). HTLV-I uveitis: a distinct clinical entity caused by HTLV-I. *Jpn J Cancer Res.* 83, 236–239. doi: 10.1111/j.1349-7006.1992.tb00092.x
- Mota, A., Nunes, C., Melo, A., Romeo, M., Boasorte, N., Dourado, I., et al. (2006). A case-control study of HTLV-infection among blood donors in Salvador, Bahia, Brazil - associated risk factors and trend towards declining prevalence. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia* 28, 120–126.
- Murphy, E. L., Figueroa, J. P., Gibbs, W. N., Brathwaite, A., Holding-Cobham, M., Waters, D., et al. (1989). Sexual transmission of human T-lymphotropic virus type I (HTLV-I). *Ann. Intern. Med.* 111, 555–560.
- Nera, F. A., Murphy, E. L., Gam, A., Hanchard, B., Figueroa, J. P., and Blattner, W. A. (1989). Antibodies to Strongyloides stercoralis in healthy Jamaican carriers of HTLV-1. *N. Engl. J. Med.* 320, 252–253. doi: 10.1056/nejm198901263200416
- Nunes, D., Boa-Sorte, N., Grassi, M. F., Taylor, G. P., Teixeira, M. G., Barreto, M. L., et al. (2017). HTLV-1 is predominantly sexually transmitted in Salvador, the city with the highest HTLV-1 prevalence in Brazil. *PLoS One* 12:e0171303. doi: 10.1371/journal.pone.0171303
- Osame, M., Usuku, K., Izumo, S., Ijichi, N., Amitani, H., Igata, A., et al. (1986). HTLV-I associated myelopathy, a new clinical entity. *Lancet* 327, 1031–1032. doi: 10.1016/s0140-6736(86)91298-5
- Poiesz, B. J., Ruscetti, F. W., Gazdar, A. F., Bunn, P. A., Minna, J. D., and Gallo, R. C. (1980). Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous T-cell lymphoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 77, 7415–7419. doi: 10.1073/pnas.77.12.7415

- Rego, F. F., Alcantara, L. C., Moura, J. P., Neto Miranda, A. C., Pereira Ode, S., Goncalves Mde, S., et al. (2008). HTLV type 1 molecular study in Brazilian villages with African characteristics giving support to the post-Columbian introduction hypothesis. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 24, 673–677. doi: 10.1089/aid.2007.0290
- Verdonck, K., González, E., Henostroza, G., Nabeta, P., Llanos, F., Cornejo, H., et al. (2007a). HTLV-1 infection is frequent among out-patients with pulmonary tuberculosis in northern Lima, Peru. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 11, 1066–1072.
- Verdonck, K., González, E., Van Dooren, S., Vandamme, A.-M., Vanham, G., and Gotuzzo, E. (2007b). Human T-lymphotropic virus 1: recent knowledge about an ancient infection. *Lancet Infect. Dis.* 7, 266–281. doi: 10.1016/s1473-3099(07)70081-6
- Wolfe, N. D., Heneine, W., Carr, J. K., Garcia, A. D., Shanmugam, V., Tamoufe, U., et al. (2005). Emergence of unique primate T-lymphotropic viruses among central African bushmeat hunters. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 102, 7994–7999. doi: 10.1073/pnas.0501734102
- Yakova, M., Lezin, A., Dantin, F., Lagathu, G., Olindo, S., Jean-Baptiste, G., et al. (2005). Increased proviral load in HTLV-1-infected patients with rheumatoid arthritis or connective tissue disease. *Retrovirology* 2:4.

Conflict of Interest Statement: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Copyright © 2019 Pereira, Almeida, Santos, Carreiro, Regis-Silva, Galvão-Castro and Grassi. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

4.2 CAPÍTULO 2: DETERMINAR A TAXA DE INFECÇÃO, DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E PERFIL SÓCIO DEMOGRÁFICO DO HCV EM UM PERÍODO DE DEZ ANOS

O artigo "*Spatial distribution of the infection by the hepatitis C virus in Bahia, Brazil*" apresenta a distribuição geográfica dos casos de infecção do HCV, bem como a distribuição dos genótipos da hepatite C no estado da Bahia. Um total de 247.837 amostras recebidas para a sorologia do HCV foram analisadas no período de 2004 -2013. Neste estudo, além de determinar a taxa de infecção global do HCV no estado, foi realizada uma análise da prevalência da infecção pelo HCV por sexo e faixa etária e estimado o número de pessoas infectadas pelo HCV na Bahia por 100.000 habitantes. Em suma, foi observado que a infecção pelo HCV está disseminado no estado da Bahia em 31 microrregiões, sendo que os municípios com as maiores taxas estão localizados em oito microrregiões. Os genótipos 1 e 3 foram os mais frequentes, seguidos dos genótipos 3, 4 e 5. Com este artigo foi possível identificar a presença do genótipo 5 na Bahia, o qual havia sido registrado previamente no Brasil somente na cidade de São Paulo. O artigo encontra-se em fase de preparação para posterior submissão a revista científica.

Spatial distribution of the infection by the hepatitis C virus in Bahia, Brazil

Felicidade Mota Pereira^{1,4}, Maria da Conceição Almeida Chagas⁵, Fred Luciano Neves

Santos¹, Roberto Perez Carreiro³, Bernardo Galvão Castro², Maria Fernanda Rios Grassi^{1,2}

1- Laboratório Avançado de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz- Bahia, Brazil

2- Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, Bahia, Brazil

3- CIDACS- Centro de Integração de Dados e Conhecimento para a Saúde. Fundação Oswaldo Cruz- Bahia, Brazil

4- Laboratório Central de Saúde Pública do estado da Bahia - Secretaria da Saúde do Estado da Bahia, Bahia, Brazil

5- Laboratório de Epidemiologia, Fundação Oswaldo Cruz- Bahia, Brazil

Correspondent author:

Maria Fernanda Rios Grassi

E-mail: fernanda.grassi@fiocruz.br,

Rua Waldemar Falcão, 121, Candeal - Salvador/BA- Brazil

CEP: 40296-710

Phone: +55 (71) 3176-2200 – FAX: +55 (71) 3176-2327

ABSTRACT

Background: The prevalence of HCV in general population of Salvador, capital of Bahia is 1.5%, however the circulation of the HCV in the microregions of the state remains unknown. The aim of this study was to verify the HCV infection rate and describe the geographic distribution of hepatitis C in the state of Bahia, Brazil.

Methods: All HCV serological tests performed in the Central Laboratory of Public Health of Bahia (LACEN/BA) from 2004 to 2013 were included. Serology for HCV was performed by AxSYM Anti-HCV enzymatic microparticle (MEIA) immunoassay from Abbott Diagnostics Division, Illinois, USA), and CLIA chemiluminescence microparticle (Architect Anti-HCV, Abbott Diagnostics Division, Wiesbaden, Germany). Genotypes were identified by analyzing by Linear Array Hepatitis C Virus Genotyping Test (LiPA - Line Probe Assay - Roche Diagnostics).

Results: A total of 247,837 samples were analyzed. The mean age of the study population was 41 years (interquartile range: 26 – 43 years) and the female ratio: male was 3.9:1. The global prevalence of HCV was 1.3% (3,230/247,837), with a infection rate of 21.2/100.000 inhabitants. The prevalence of HCV was higher among males and increases with age. The presence of HCV infection was detected in all the mesoregions of Bahia. The city with the highest infection rate was Ipiaú with 112.04 cases/100,000 inhabitants. Genotypes 1 and 3 were the most prevalent, followed by genotypes 2, 4 and 5.

Conclusion: The hepatitis C virus is spreading throughout the state of Bahia, being predominant in men aged above 50 years.

Key-words: HCV, hepatitis C, epidemiology, genotype.

Introduction

The hepatitis C virus (HCV) is mainly transmitted through the use of contaminated needles, syringes and instruments used for injections and skin-piercing procedures (Alter, 2002) The sexual transmission of HCV is rare (Alter *et al.*, 1998). The majority of cases of acute HCV infection progress to a chronic infection with an asymptomatic course. Around two to three decades after the onset of infection, 10-20% of infected individuals will develop cirrhosis and 1-5% hepatocellular carcinoma (Alter, H., 1995; Lavanchy, 2011).

Around 2.5% of the world's population, 177 million adults, is infected with the virus, with higher prevalences found in Africa and Asia (Petruzzello *et al.*, 2016). In Brazil, a national population-based study conducted in the country's capitals found 1.38% of overall prevalence for HCV (Pereira *et al.*, 2013). However, the prevalence of this virus varies accordingly to the geographical region and studied group. The groups at greatest risk for infection are intravenous drug users (88%) (Silva, F. Q. *et al.*, 2018), individuals in predialysis (16.5%) (Sette *et al.*, 2019), persons with coagulation disorders (47%) and with chronic renal failure (12.6%) (Ribeiro Barbosa *et al.*, 2017). Other groups such as health waste handlers (3.3%) (Mol *et al.*, 2016), hemodialysis (2.8%) (Cordeiro *et al.*, 2018), individuals deprived of liberty (2.7%) (Puga *et al.*, 2017) and pregnant women (1.3%) (Barros *et al.*, 2018) present higher prevalences than those described in the general population. Sex workers (0.9%) (Ferreira-Junior *et al.*, 2018), Amerindians (0.8%) (Villar *et al.*, 2018) and military personnel (0.7%) (Villar *et al.*, 2015), although presenting a lower frequency of HCV infection, had higher rates compared to blood donors (0.068%) (Levi *et al.*, 2017).

Northeast Brazil is the third region with the highest number of cases of HCV, recorded in SINAN, and in 2017, the detection rate of anti-HCV or RNA-HCV was 4,5 / 100,000 inhabitants in Bahia (Brazil, 2018). In the city of Salvador, a population-based study found a

prevalence of 1.5% for HCV (Zarife et al., 2006), however the circulation of the hepatitis C virus in the microregions of the state is unknown.

The objective of this study was to determine the HCV infection rate and to describe the geographical distribution in Bahia state.

Material and methods

Ethical statement

The Institutional Review Board (IRB) for Human Research at the Gonçalo Moniz Institute of the Oswaldo Cruz Foundation (Salvador, Bahia, Brazil) provided ethical approval to conduct this study (CAAE number 22478813.7.0000.0040).

Study design

A retrospective ecological study was conducted using data obtained from the Central Laboratory of Public Health of Bahia (LACEN-BA). All serological tests for HCV were included among the 32 Bahia microregions from 2004 to 2013.

Laboratory tests

Serology for HCV was performed by microparticle enzyme immunoassay (MEIA; AxSYM Anti-HCV Abbott Diagnostics Division, Illinois, USA), and CLIA chemiluminescent microparticle (Architect Anti-HCV, Abbott Diagnostics Division, Wiesbaden, Germany).

The presence of HCV RNA was confirmed by reverse transcriptase reaction followed by qualitative polymerase chain reaction (AMPLICOR®, Roche Molecular Systems, Branchburg, N.J). Subsequently, the viral load was quantified using RT-PCR (AMPLICOR MONITOR®, Roche Molecular Systems, Branchburg, N.J), according to the manufacturer's specifications.

Genotypes were identified by analyzing the highly conserved 5' untranslated region with the Linear Array Hepatitis C Virus Genotyping Test (LiPA - Line Probe Assay - Roche Diagnostics), which allows the determination of six genotypes and subtypes (1a, 1b, 2, 2a, 2b,3, 3a, 4, 4c, 5, 5a and 6), according to the manufacturer's guidelines.

Data Analysis

All serological tests performed in each year of the study period were extracted from the SMART LAB laboratory management system using high volume extract, transformation and load throughput. Each individual's unique registration number was considered as the key variable. To avoid multiplicity, each individual's most recent serological result was considered. The database was validated using the R software package and analyzed with STATA v13.0. Median and interquartile range (IQR) intervals were calculated for the age variable. Absolute and relative frequencies were calculated for all categorical variables (age groups: 0-15 / 16-30 / 31-50 / 51+; gender: male / female and serological test: reagent / non-reagent). The program Prism[®] Version 5.03 (GraphPad) was used for the analysis of the significance and differences were considered statistically significant at $P > 0.05$. The rate of coinfection was expressed as the number of individuals infected per 100,000 inhabitants. Mesoregions and Microregions were adopted as units of analysis to obtain better precision regarding the difference between regions. Digital maps were obtained from the IBGE cartographic database in shapefile (.shp), and reformatted and analyzed using TerraView version 4.2 free software provided by the National Institute for Space Research (www.dpi.inpe.br/terraview).

Results

A total of 247, 837 samples were analyzed. The mean age of the study population was 41 years (interquartile range: 26 - 43 years) and the woman: man ratio was 3.9: 1. The analyzed samples came from 395 (94.7%) municipalities in the state of Bahia.

The overall prevalence of HCV was 1.3% [3,230 / 247,837 (CI95%: 1.26 -1.35)] which was shown to increase with age (Figure 1). Thirty individuals younger than 15 years had positive serology for HCV (14 males and 16 females). Out of these, three male were less than 48 months old. HCV infection rates were 3.7% [1,865/50,430 (IC95%: 3.5 – 3.9)] among males and 0.69% [1,365/197,407 (IC95%: 0.66 – 0.73)] in female, $P < 0,0001$, Table 1.

Reagent results for anti-HCV were obtained in 55.2% (218/395) of the evaluated municipalities. The mean cumulative rate of positive HCV cases in Bahia was 21.2 per 100,000 inhabitants. The information regarding the city of origin of individuals lacked for 0.7% of the HCV positive samples.

The microregions with the highest rates of HCV infection were Ilhéus-Itabuna (Camacan and Ipiauí), Feira de Santana (Ipirá), Porto Seguro (Teixeira de Freitas, Caravelas and Santa Cruz de Cabrália), Salvador (Salvador), Jacobina (Quixabeira) and Senhor do Bonfim (Senhor do Bonfim) localized in the mesoregions Sul Baiano, Centro Norte, Vale São Franciscano e Metropolitana de Salvador. (Figure 2).

The presence of HCV was observed in most of the microregions of Bahia state. No information was retrieved from Jeremoabo Microregion. HCV genotype was determined for 1,150 (35.6%) out of the 3,230 cases of HCV infection. Genotypes 1 (46.98%), 1a (14.1%) and 1b (15.7%) were the most frequently obtained, followed by 3a (13.0%), 3 (7.1%), 2 (1.2%), 2a (0.2%), 2b (1.3%) genotypes. The genotypes 4 (0.2%), 4c (0.2%) and 5a (0.2%) were less frequently identified.

The genotypes 1, 1a, 1b, 2, 2a, 2b, 3 and 3a were present among the seven mesoregions of the state, while genotype 4 was detected in mesoregions Metropolitana de Salvador, and Sul Baiano. The genotype 5 was detected in the mesoregions Centro Sul and Extremo Oeste (Figure 3).

Table 1. Socio demographic characteristics of individuals evaluated for HCV in the state of Bahia, 2004 - 2013.

Socio demographic characteristics	Study Population	Individuals with anti-HCV reagent	P-value
Sex (%)			
Male	50.430 (20%)	1.865 (3.7%)	<0,0001
Female	197.407(80%)	1.365 (0.69%)	
Age (interquartile range)			
	41 (26 – 43)	55 (42 – 61)	<0,0001
Municipality			
Salvador	53.974 (21,8%)	1.603 (49,6%)	<0.0001
Others municipalities	193.863 (78,2%)	1.627 (50,4%)	

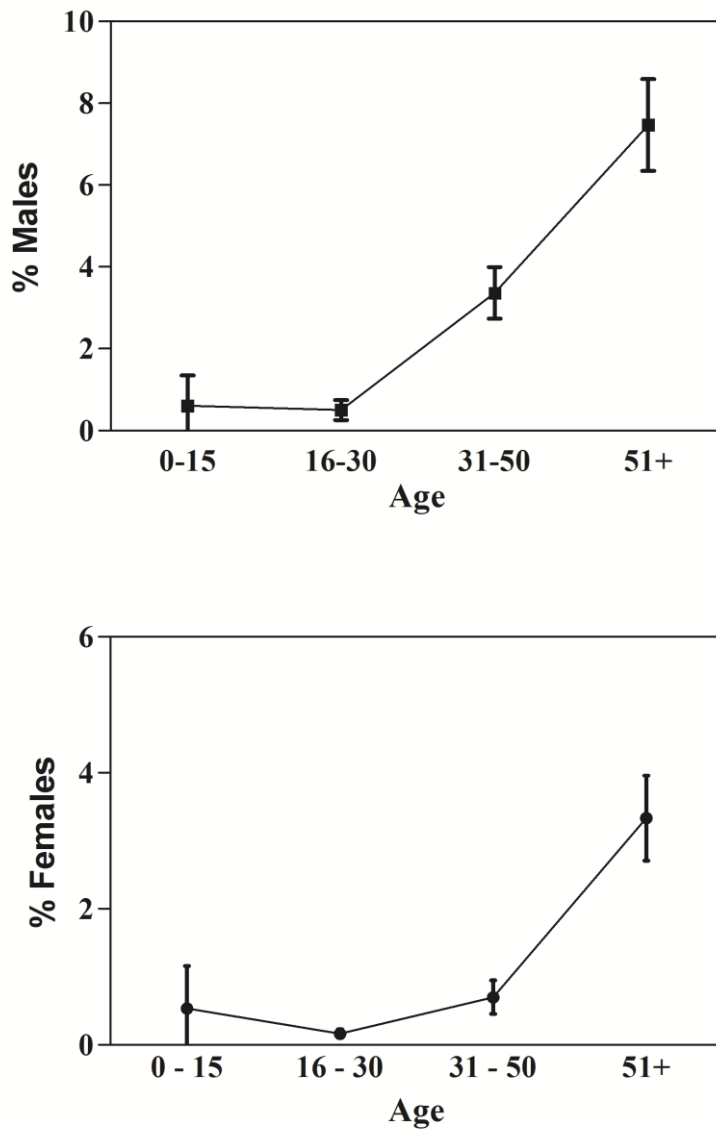


Figure 1. Infection rate of HCV infection among 45,199 males and 185,703 females Bahia, Brazil, from 2004 to 2013.

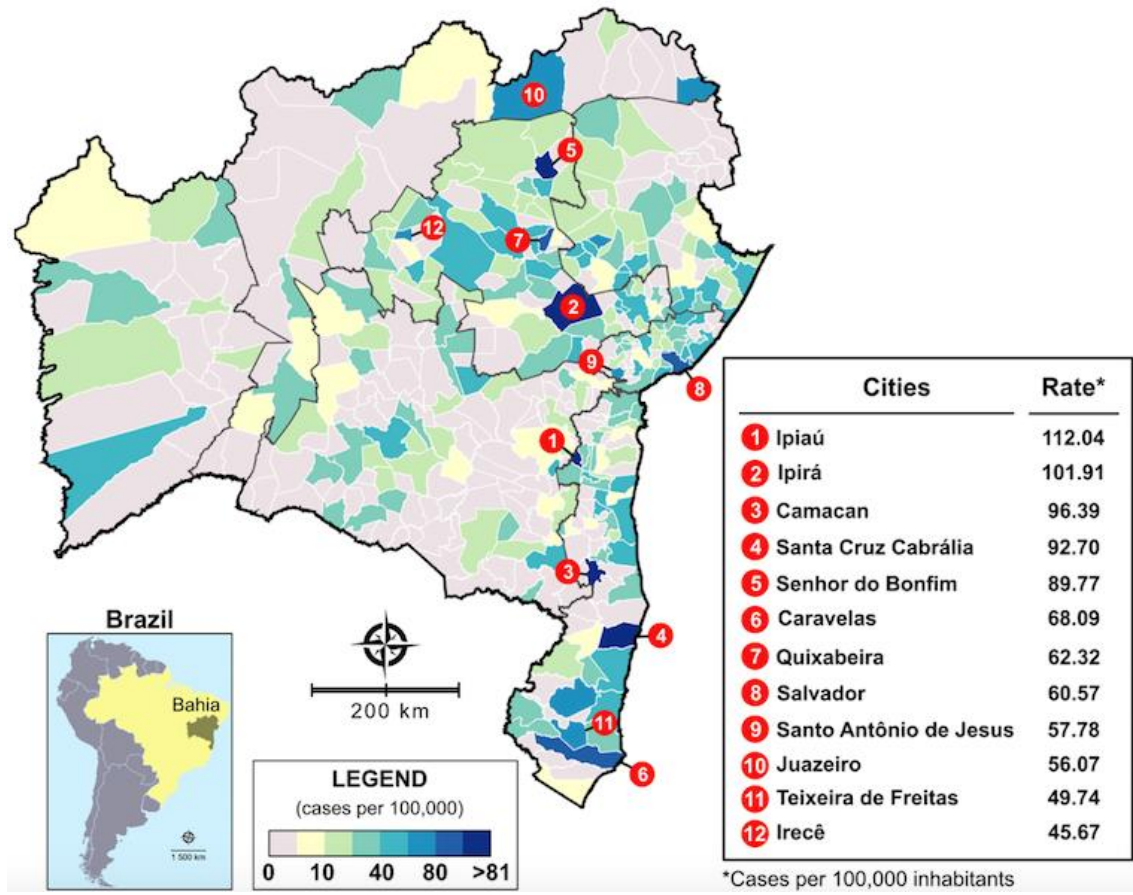


Figure 2. Spatial distribution of HCV in the state of Bahia, from 2004 to 2013.

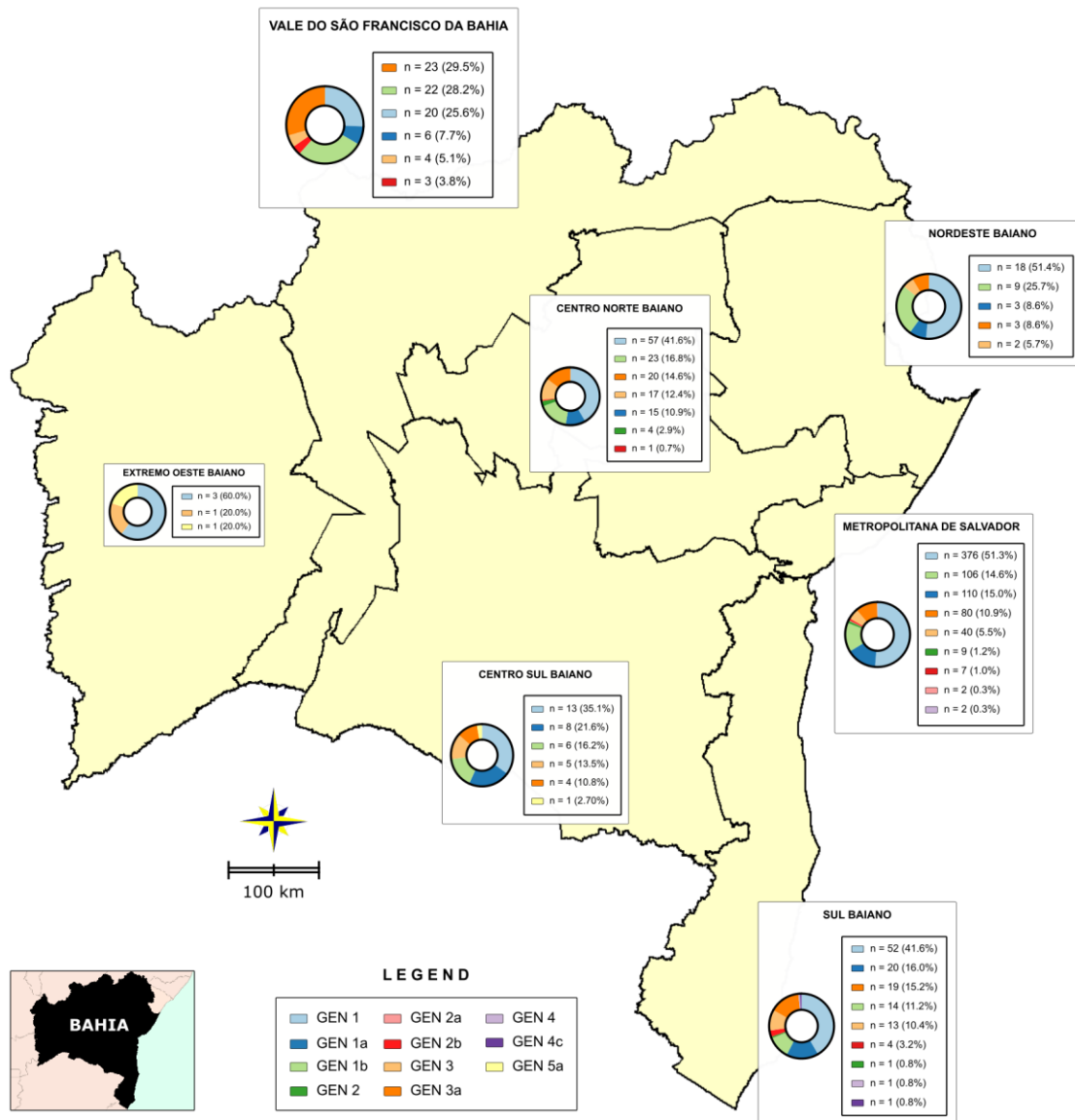


Figure 3. Distribution of HCV genotypes from 1,150 individuals infected in the mesoregions of the state of Bahia, Brazil, from 2004 to 2013.

Discussion

The data obtained in the present study demonstrated that the overall prevalence of HCV infection in the state of Bahia is 1.3% (3,230 / 247,837). The HCV infection rate found in this study is consistent with the prevalence (1.5%) of a population-based study in Salvador, state capital (Zarife, De Oliveira, *et al.*, 2006) and that found in the national survey of viral hepatitis (1.38%) performed in the capitals of Brazil (Pereira *et al.*, 2013).. However, this prevalence was higher than estimated for anti-HCV (0.94%) in the capitals of the Northeast region (Pereira *et al.*, 2013). Prevalence studies evaluating the general population are rare. In Brazil, the prevalence of HCV ranges from 2.4 to 47% in vulnerable groups such as drug users (28.3%), patients with renal failure (12.6%), coagulation disorders (47%), waste handlers (3.3%) and incarcerated people (2.4%) (Mol *et al.*, 2016; Puga *et al.*, 2017; Ribeiro Barbosa *et al.*, 2017; Silva, I. C. *et al.*, 2018; Sette *et al.*, 2019). On the other hand, the prevalence of HCV is lower in sex workers, transgender women and remained less than 0.1% in blood donors and manual sugarcane cutters (Levi *et al.*, 2017; Bastos *et al.*, 2018; De Castro Rocha *et al.*, 2018; Ferreira-Junior *et al.*, 2018).

To date, there was no information on the geographical distribution of HCV-infected individuals in Bahia, the state with the largest population in the Northeast and the fourth in Brazil. The present study demonstrates that HCV infection is widespread in 31 out of 32 microregions of the state, with an overall rate of 21.2 cases per 100,000 population. The microregions with the highest rates of HCV infection were Ilhéus-Itabuna, Feira de Santana, Porto Seguro, Salvador, Jacobina and Senhor do Bonfim which are characterized as the great economic poles of the state by the large circulation of people for commercial and tourism purposes.

Notably, the city of Ipiaú, located in the Ilhéus-Itabuna microregion, had the highest HCV infection rate per 100,000 inhabitants (112.04). We speculate that this high rate is associated

with intravenous drug use as well as greater access to diagnosis of HCV infection. Currently, the state of Bahia has 32 Testing and Counseling Centers (CTA) that provide diagnosis for sexually transmitted infections (STI), in addition to hepatitis B and C. One of these CTAs is located in Ipiaú. However, information on blood transfusion history or intravenous drug use was not available in the present study, then it was not possible to estimate the likely route of infection. The incidence of transfusion-associated hepatitis C was relatively high before the 1990s. Currently, injecting drug use is considered the main form of HCV transmission in Brazil and the United States (Alter *et al.*, 1999; Pereira *et al.*, 2013).

Regarding the profile of HCV circulating genotypes in Bahia, the present study detected the presence of genotypes 1, 2, 3, 4 and 5. The most prevalent genotype was the 1 and its subtypes (76.7%) followed by genotypes 3a (13.0%) and 3 (7.1%). It has been reported that HCV genotypes 1 and 3 are the most prevalent worldwide, accounting for about 46.2 and 30.1% of infections, respectively (Messina *et al.*, 2015). Genotype 4 has been found most often in North Africa and the Middle East, while genotype 5 is more prevalent in South Africa (Gower *et al.*, 2014; Petruzzello *et al.*, 2016). In relation to Brazil, genotype 1 is widely distributed in the different geographic regions of the country, genotype 2 is more frequent in the Midwest region and 3 in the South region (Campiotto *et al.*, 2005). Interestingly, in the present study four cases of HCV infection by genotype 4 were identified in the cities of Ipiaú, Teixeira de Freitas and Salvador and two cases with genotype 5 were found in Vitória da Conquista and São Felix do Coribe. The presence of genotype 4 was first recorded in Brazil in the city of São Paulo in a patient that has received a kidney transplant (Bassit *et al.*, 1999) and then in a intravenous drug user in Salvador (Zarife, De Oliveira, *et al.*, 2006). HCV genotype 5 infection was reported in only three individuals in the city of São Paulo in 2001 (Levi *et al.*, 2002).

Regarding the demographic profile of individuals infected with HCV found in the present study, the average age was 55 years and there was a predominance of males. Similar demographic profile has been described in other studies in regions of Brazil and Bahia (Focaccia *et al.*, 1998; Zarife, Silva, *et al.*, 2006; Nascimento *et al.*, 2008; Pereira *et al.*, 2013). In fact, it is expected that the HCV infection is more frequent in individuals over 50 years, since the laboratory diagnosis of HCV started to be adopted in 1989 and only in 1993 the testing of blood donors became mandatory (Decree No. 1376 of the Ministry of Health). Prior to this period, the sharing of syringes and the use of glass syringes was common, being one of the factors that contributed to HCV dissemination (Alter, 2002).

In the present study, 3,230 cases of HCV infection were diagnosed in 218 municipalities, which corresponds to 52.2% of the state's municipalities. From 2004 to 2013, the same period of this study, the state of Bahia notified 2,739 cases of HCV in the Notification Disease Information System (SINAN), from 140 municipalities of the state (Source: Ministry of Health / SVS - Sinan Net). This indicate a underreporting cases of HCV infection, yet the notification of HCV infection has been compulsory in Brazil since 1996. Considering 15.2 million inhabitants of the population of Bahia, 197,600 cases of HCV infection would be expected, of which 138,320 would progress to chronic hepatitis (70% of cases), 27,664 (20%) to cirrhosis and 1,106 (4%) to hepatocellular carcinoma.

This study is limited by the nonrandomized sampling and predominantly represented by females. Another limitation is the lack of information on risk factors for HCV infection. However, regarding the representativeness of the municipalities, 94.7% of the state municipalities were evaluated throughout the study, which allowed to evaluate the spatial distribution of HCV infection.

In conclusion, the results obtained herein demonstrated that HCV infection is spread in the state of Bahia. The predominance of males among HCV infected people and their presence in

different parts of the state may indicate an increase in intravenous drug use in urban and rural areas. Studies evaluating the risk factors associated with the presence of HCV in these areas should be conducted to support more effective public prevention policies and identify patients in need of treatment.

REFERENCES

- ALTER, H. To C or Not To C: These Are the Questions. **Blood**, v. 85, p. 1681-1695, 1995.
- ALTER, M. J. Prevention of spread of hepatitis C. **Hepatology**, v. 36, n. 5 Suppl 1, p. S93-8, Nov 2002. ISSN 0270-9139 (Print)
0270-9139 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12407581> >.
- ALTER, M. J. et al. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1988 through 1994. **N Engl J Med**, v. 341, n. 8, p. 556-62, Aug 19 1999. ISSN 0028-4793 (Print)
0028-4793 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10451460> >.
- ALTER, M. J. et al. Hepatitis C. **Infect Dis Clin North Am**, v. 12, n. 1, p. 13-26, Mar 1998. ISSN 0891-5520 (Print)
0891-5520 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9494826> >.
- BARROS, M. M. O.; RONCHINI, K.; SOARES, R. L. S. Hepatitis B and C in Pregnant Women Attended by a Prenatal Program in an University Hospital in Rio De Janeiro, Brazil: Retrospective Study of Seroprevalence Screening. **Arq Gastroenterol**, v. 55, n. 3, p. 267-273, Jul-Sep 2018. ISSN 1678-4219 (Electronic)
0004-2803 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30540090> >.
- BASSIT, L. et al. Genotype distributions of hepatitis C virus in Sao Paulo, Brazil: rare subtype found. **Hepatology**, v. 29, n. 3, p. 994-5, Mar 1999. ISSN 0270-9139 (Print)
0270-9139 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10189232> >.
- BASTOS, F. I. et al. HIV, HCV, HBV, and syphilis among transgender women from Brazil: Assessing different methods to adjust infection rates of a hard-to-reach, sparse population. **Medicine (Baltimore)**, v. 97, n. 1S Suppl 1, p. S16-S24, May 2018. ISSN 1536-5964 (Electronic)
0025-7974 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29794601> >.
- CAMPIOTTO, S. et al. Geographic distribution of hepatitis C virus genotypes in Brazil. **Braz J Med Biol Res**, v. 38, n. 1, p. 41-9, Jan 2005. ISSN 0100-879X (Print)
0100-879X (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15665987> >.
- CORDEIRO, V. M. et al. Decline in hepatitis B and C prevalence among hemodialysis patients in Tocantins, Northern Brazil. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v. 60, p. e36, Jul 30 2018. ISSN 1678-9946 (Electronic)
0036-4665 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30066804> >.
- DE CASTRO ROCHA, D. F. N. et al. Epidemiology of HIV, syphilis, and hepatitis B and C among manual cane cutters in low-income regions of Brazil. **BMC Infect Dis**, v. 18, n. 1, p. 546, Nov 3 2018. ISSN 1471-2334 (Electronic)
1471-2334 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30390628> >.
- FERREIRA-JUNIOR, O. D. C. et al. Prevalence estimates of HIV, syphilis, hepatitis B and C among female sex workers (FSW) in Brazil, 2016. **Medicine (Baltimore)**, v. 97, n. 1S Suppl 1, p. S3-S8, May 2018. ISSN 1536-5964 (Electronic)
0025-7974 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29912817> >.

FOCACACCIA, R. et al. Estimated Prevalence of Viral Hepatitis in the General Population of the Municipality of Sao Paulo, Measured by a Serologic Survey of a Stratified, Randomized and Residence-Based Population. **Braz J Infect Dis**, v. 2, n. 6, p. 269-284, Dec 1998. ISSN 1678-4391 (Electronic)

1413-8670 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11103019> >.

GOWER, E. et al. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. **J Hepatol**, v. 61, n. 1 Suppl, p. S45-57, Nov 2014. ISSN 1600-0641 (Electronic)

0168-8278 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25086286> >.

LAVANCHY, D. Evolving epidemiology of hepatitis C virus. **Clin Microbiol Infect**, v. 17, n. 2, p. 107-15, Feb 2011. ISSN 1469-0691 (Electronic)

1198-743X (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21091831> >.

LEVI, J. E. et al. Contrasting HCV and HIV seroepidemiology in 11 years of blood donors screening in Brazil. **Transfus Med**, v. 27, n. 4, p. 286-291, Aug 2017. ISSN 1365-3148 (Electronic)

0958-7578 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28524366> >.

LEVI, J. E. et al. Three cases of infection with hepatitis C virus genotype 5 among Brazilian hepatitis patients. **J Clin Microbiol**, v. 40, n. 7, p. 2645-7, Jul 2002. ISSN 0095-1137 (Print)

0095-1137 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12089297> >.

MESSINA, J. P. et al. Global distribution and prevalence of hepatitis C virus genotypes. **Hepatology**, v. 61, n. 1, p. 77-87, Jan 2015. ISSN 1527-3350 (Electronic)

0270-9139 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25069599> >.

MOL, M. P. et al. Seroprevalence of hepatitis B and C among domestic and healthcare waste handlers in Belo Horizonte, Brazil. **Waste Manag Res**, v. 34, n. 9, p. 875-83, Sep 2016. ISSN 1096-3669 (Electronic). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27207769> >.

NASCIMENTO, M. C. et al. Prevalence of hepatitis B and C serological markers among first-time blood donors in Brazil: a multi-center serosurvey. **J Med Virol**, v. 80, n. 1, p. 53-7, Jan 2008. ISSN 0146-6615 (Print)

0146-6615 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18041005> >.

PEREIRA, L. M. et al. Prevalence and risk factors of Hepatitis C virus infection in Brazil, 2005 through 2009: a cross-sectional study. **BMC Infect Dis**, v. 13, p. 60, Feb 1 2013. ISSN 1471-2334 (Electronic)

1471-2334 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23374914> >.

PETRUZZIELLO, A. et al. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: An up-date of the distribution and circulation of hepatitis C virus genotypes. **World J Gastroenterol**, v. 22, n. 34, p. 7824-40, Sep 14 2016. ISSN 2219-2840 (Electronic)

1007-9327 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27678366> >.

PUGA, M. A. et al. Prevalence and Incidence of HCV Infection among Prisoners in Central Brazil. **PLoS One**, v. 12, n. 1, p. e0169195, 2017. ISSN 1932-6203 (Electronic)

1932-6203 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28060860> >.

RIBEIRO BARBOSA, J. et al. Cross-Sectional Study to Determine the Prevalence of Hepatitis B and C Virus Infection in High Risk Groups in the Northeast Region of Brazil. **Int J Environ Res Public Health**, v. 14, n. 7, Jul 17 2017. ISSN 1660-4601 (Electronic) 1660-4601 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28714924> >.

SETTE, L. et al. High prevalence of occult hepatitis C infection in predialysis patients. **World J Hepatol**, v. 11, n. 1, p. 109-118, Jan 27 2019. ISSN 1948-5182 (Print). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30705723> >.

SILVA, F. Q. et al. Hepatitis C virus infection among illicit drug users in an archipelago of the Amazon. **Arch Virol**, v. 163, n. 3, p. 617-622, Mar 2018. ISSN 1432-8798 (Electronic) 0304-8608 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29164400> >.

SILVA, I. C. et al. Moderate endemicity of the human T-lymphotropic virus infection in the metropolitan region of Belem, Para, Brazil. **Rev Bras Epidemiol**, v. 21, p. e180018, Oct 11 2018. ISSN 1980-5497 (Electronic) 1415-790X (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30328937> >.

VILLAR, L. M. et al. Determination of hepatitis B, C and D prevalence among urban and Amerindian populations from the Eastern Brazilian Amazon: a cross sectional study. **BMC Infect Dis**, v. 18, n. 1, p. 411, Aug 20 2018. ISSN 1471-2334 (Electronic) 1471-2334 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30126364> >.

VILLAR, L. M. et al. Prevalence of hepatitis B and C virus infections among military personnel. **Braz J Infect Dis**, v. 19, n. 3, p. 285-90, May-Jun 2015. ISSN 1678-4391 (Electronic) 1413-8670 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25769737> >.

ZARIFE, M. A. et al. [Detection of genotype 4 of the hepatitis C virus in Salvador, BA]. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 39, n. 6, p. 567-9, Nov-Dec 2006. ISSN 0037-8682 (Print) 0037-8682 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17308705> >.

ZARIFE, M. A. et al. Prevalence of hepatitis C virus infection in north-eastern Brazil: a population-based study. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v. 100, n. 7, p. 663-8, Jul 2006. ISSN 0035-9203 (Print) 0035-9203 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16386279> >.

4.3 CAPÍTULO 3: DETERMINAR A TAXA DE INFECÇÃO, DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E PERFIL SÓCIO DEMOGRÁFICO DA COINFECÇÃO HCV/HTLV EM UM PERÍODO DE DEZ ANOS.

O artigo “*Human T-leukemia virus (HTLV) and Hepatitis C virus co-infection in Bahia, Brazil: a ten years overview*” apresenta a distribuição geográfica da coinfeção HTLV/HCV por microrregião no estado da Bahia, sexo e faixa etária, bem como estima a taxa de coinfeção do HTLV/HCV. Foi observada uma maior prevalência da coinfeção HTLV/HCV em homens infectados o HTLV tipo-2. Os casos da coinfeção HTLV/HCV estão concentrados principalmente em três clusters (microrregiões de Salvador, Ilhéus-Itabuna e Porto Seguro) que margeiam o litoral do estado e que foram identificados neste estudo como foco de infecção do HTLV. O artigo está encontra-se em fase de preparação para posterior submissão a revista científica.

Human T-lymphotropic virus (HTLV) and Hepatitis C virus co-infection in Bahia, Brazil: a ten years overview

Felicidade Mota Pereira^{1,4}, Maria da Conceição Chagas de Almeida⁵, Fred Luciano Neves Santos¹, Roberto Perez Carreiro³, Bernardo Galvão-Castro², Maria Fernanda Rios Grassi^{1,2}

6- Laboratório Avançado de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz- Bahia, Brazil

7- Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, Bahia, Brazil

8- Centro de Integração de Dados e Conhecimento para a Saúde (CIDACS), Fundação Oswaldo Cruz- Bahia, Brazil

9- Laboratório Central de Saúde Pública do Estado da Bahia - Secretaria da Saúde do Estado da Bahia, Bahia, Brazil

10- Laboratório de Epidemiologia Molecular e Bioestatística, Fundação Oswaldo Cruz- Bahia, Brazil

Correspondent author:

Maria Fernanda Rios Grassi

E-mail: fernanda.grassi@fiocruz.br,

Rua Waldemar Falcão, 121, Candeal - Salvador/BA- Brazil

CEP: 40296-710

Phone: +55 (71) 3176-2200 – FAX: +55 (71) 3176-2327

ABSTRACT

Background: Both T-lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) and hepatitis C virus (HCV) are endemic in Brazil. Salvador, capital of Bahia state, has 2% of the general population infected with HTLV-1 and 1.5% with HCV. This study aimed to determine the rate and the distribution of HTLV/HCV coinfecting individuals in Bahia.

Methods: This cross-sectional study was conducted in the Central Laboratory of Public Health of Bahia (LACEN-BA). All subjects who performed serological tests for anti-HCV (chemiluminescence) and anti-HTLV-1/2 (chemiluminescence/ELISA assays/Western Blotting) in the period from 2004 to 2013 were included. Data was extracted from LACEN's database using high volume extract, transformation, and load throughput. The infection rate was expressed as the number of infected individuals per 100,000 inhabitants considering municipalities grouped in microregions as the unit of analysis.

Results: A total of 120,192 individuals from 358 of the 417 municipalities of Bahia (85.8%) were evaluated. The overall HTLV/HCV coinfection rate in Bahia was 14.31% [2.8 (ranging from 0.4 to 8.0) per 100,000 inhabitants.] Twenty-one municipalities reported at least one case of HTLV/HCV coinfection. Three microregions concentrated 87% of cases (Salvador 79%, Ilhéus/Itabuna 5%, and Porto Seguro 3%). Coinfection was more frequent in males (51%), and the mean age was 59 interquartile range [(IQR): 46 – 59] years.

Conclusion: Coinfection HTLV/HCV is more frequent among males living in the microregions of Salvador, Ilhéus/Itabuna and Porto Seguro. All of these microregions are endemic clusters for HTLV infection.

Keywords: HTLV, HCV, coinfection, Bahia, prevalence.

INTRODUCTION

Both the human T-Lymphotropic Virus (HTLV) and hepatitis C virus (HCV) are transmitted by parenteral exposure through contaminated blood or blood products (Sullivan *et al.*, 1991; Manns *et al.*, 1992; Alter, 2002). In addition, HTLV might be transmitted sexually (Nunes *et al.*, 2017) and vertically from mother-to-child, predominantly through breastfeeding (Bittencourt *et al.*, 2001; Li *et al.*, 2004). HTLV type 1 (HTLV-1) is endemic in several parts of the world, and it is estimated that at least 5 to 10 million people harbor this virus (Gessain e Cassar, 2012). In Brazil, the prevalence of HTLV-1 varies according to the geographical region, with the North and Northeast being the most affected areas (Catalan-Soares, Carneiro-Proietti, *et al.*, 2005). Recently, it was reported that HTLV-1 is widespread throughout the state of Bahia and at least 130,000 individuals are infected with the virus (Pereira, F. *et al.*, 2019). HCV infection affects around 2.5% of the world's population (177.5 million adults). In Brazil, a population-based study evaluating all of the 26 capitals and the Federal District found 1.38% of HCV seroprevalence (Pereira *et al.*, 2013), while in Salvador, it was found that 1.5% of the general population is infected by HCV (Zarife, Silva, *et al.*, 2006).

In endemic regions for HTLV infection, such as Asia and sub-Saharan Africa, the prevalence of HTLV/HCV coinfection in urban areas may reach up to 28% (Nakashima *et al.*, 1994; Boschi-Pinto *et al.*, 2000; Prasetyo *et al.*, 2013; Ziaee *et al.*, 2015). In contrast, in rural areas coinfection has not reported (Ramos *et al.*, 2012). In Europe, where the rate of HTLV infection in the general population is below 0.1% (Gessain e Cassar, 2012), no HTLV-1/HCV coinfection has been found (Loza e Mateos, 2015; Kucharska *et al.*, 2016), while the coinfection between HTLV-2 and HCV is reported in injecting drug users (De La Fuente *et al.*, 2006).

Brazil represents an endemic area for both HTLV and HCV infection, and the presence of coinfection has been reported in several populational groups, especially in Southeastern Brazil. The prevalence of HTLV in individuals infected with HCV ranges from 5.3% in São Paulo (Caterino-De-Araujo *et al.*, 2018) to 7.5% in Rio de Janeiro (Maciel e Mello, 2015). In blood donors, HCV was found in 35.9% of HTLV1/2 positive first time blood donors (Pinto *et al.*, 2012) and 1.5% in men who have sex with men (Catalan-Soares *et al.*, 2014).

Bahia is the most populous state in northeastern Brazil and is considered the epicenter for HTLV infection in the country. The present study aims to determine the rate of coinfection between HTLV and HCV in the state and draw the geographical distribution of cases over a ten years period.

Methods

Study design

The present retrospective study was performed in the state of Bahia, Brazil, the fourth largest state in terms of population size (15,203,934 inhabitants), and the fifth largest in terms of area: 564.722,611 km². Bahia is comprised of 417 municipalities, which are grouped into 32 microregions and seven mesoregions according to economic and social similarities by the Brazilian National Institute of Geography and Statistics (IBGE) (<http://www.ibge.gov.br>). Data were obtained from the Central Laboratory of Public Health of Bahia (LACEN-BA), which is responsible for the laboratory analysis of infectious disease surveillance throughout the state. Individuals were included if submitted to serological testing for both HTLV and HCV, either concomitantly or in isolation, between 2004 to 2013.

Ethics statement

The Institutional Review Board (IRB) for Human Research at the Gonçalo Moniz Institute of the Oswaldo Cruz Foundation (Salvador, Bahia, Brazil) provided ethical approval to conduct this study (CAAE number 22478813.7.0000.0040).

Laboratory testing

Serology for HTLV was performed at LACEN using the Murex HTLV-1/2 kit (DiaSorin SpA, Dartford, UK) from 2004 to 2008, the anti-HTLV-1/2 Sym Solution kit (Symbiosis Diagnostica LTDA, Leme, Brazil) from 2009 to 2010 and by microparticle CLIA chemiluminescence (Architect rHTLV-1/2, Abbott Diagnostics Division, Wiesbaden, Germany) from 2011 on. Confirmatory Western blotting (HTLV Blot 2.4, Genelabs Diagnostics, Singapore) was performed for all samples presenting seroreactivity. Any indeterminate confirmatory test results were excluded from the present analysis. Serology for HCV was performed at LACEN by microparticle enzyme immunoassay (MEIA; AxSYM Anti-HCV Abbott Diagnostics Division, Illinois, USA) from 2004 to 2007, and thereafter by

chemiluminescent microparticle immunoassay (Architect Anti-HCV, Abbott Diagnostics Division, Wiesbaden, Germany).

Data analysis

The SMART LAB laboratory management system was used to extract data from all serological HTLV and HCV tests performed throughout the study period, considering all individuals who were submitted to at least one HTLV and one HCV test. To avoid duplication, the most recent available serological results were considered. Each individual's unique registration number was considered as the key variable. The resulting database was validated using the R software package and analyzed with STATA v13.0. With regard to age, median and interquartile range (IQR) intervals were calculated and individuals were grouped accordingly. The adjusted rate of coinfection was expressed as the number of individuals infected per 100,000 inhabitants. Digital maps detailing municipalities and microregions were obtained from the IBGE cartographic database in shapefile (.shp) format, and reformatted and analyzed using TerraView version 4.2 software freely provided by the National Institute for Space Research (www.dpi.inpe.br/terraview).

RESULTS

A total of 120,192 individuals were submitted to both anti-HCV and anti-HTLV 1/2 serology sometime between 2004 and 2013. The median age of the studied population was 40 years [interquartile range (IQR): 25-41 years] and the female:male ratio was 7:1. The 861 HTLV-positive samples submitted to confirmatory western blotting produced 713 [0.6%, 95%CI: 0.55 – 0.64, (713/120,192)] results with seroreactivity for HTLV: 641 (90%) were positive for HTLV-1, 29 (4.0%) for HTLV-2, and 43 (6%) were positive for both HTLV-1 and HTLV-2. The 148 (17.2%) indeterminate serologies were excluded from all further analysis (Figure 1). HCV infection was detected in 14.2% (101/713; 95% CI: 11.9-17.1) of the HTLV-positive individuals, versus 0.72% (855/119,331; 95% CI: 0.67 - 0.77) of the HTLV-negative samples (Figure 1). With regard to coinfection, HCV infection was detected mainly among HTLV-2 (37.9%) infected individuals, followed by HTLV-1 (13.3%) and HTLV-1/2 (11.6%). Coinfection was more frequent among males (51%, 52/101), with a median age of 59 years [interquartile range (IQR): 46 - 59 years]. No age was registered for 16 coinfecting individuals (Table 1).

Out of the 417 state municipalities, 358 (85.8%) sent samples to LACEN at some point during the study period. Information regarding sample origin was absent for 1.2% of the analyzed samples. The overall rate of HTLV/HCV coinfection was estimated at 2.8 per 100,000 inhabitants (range from 0.43 to 8.02 per 100,000 inhabitants). At least one case of HTLV or HCV infection was reported in 135 and 123 of the municipalities, respectively (Figure 2). Regarding the geographical distribution of coinfecting HTLV/HCV cases, 21 (5.03%) municipalities presented at least one occurrence of coinfection. The majority of cases were concentrated in just three microregions: Salvador (80/101 cases), Ilhéus/Itabuna (5/101 cases) and (Porto Seguro (3/101 cases) (Table 1 and Figure 2). The highest rates of coinfection in the state were found in the municipalities of Terra Nova (8.02/100,000

inhabitants) and Itgagi (7.1/100,000 inhabitants), located in the microregion of Catu e Jequié, respectively.

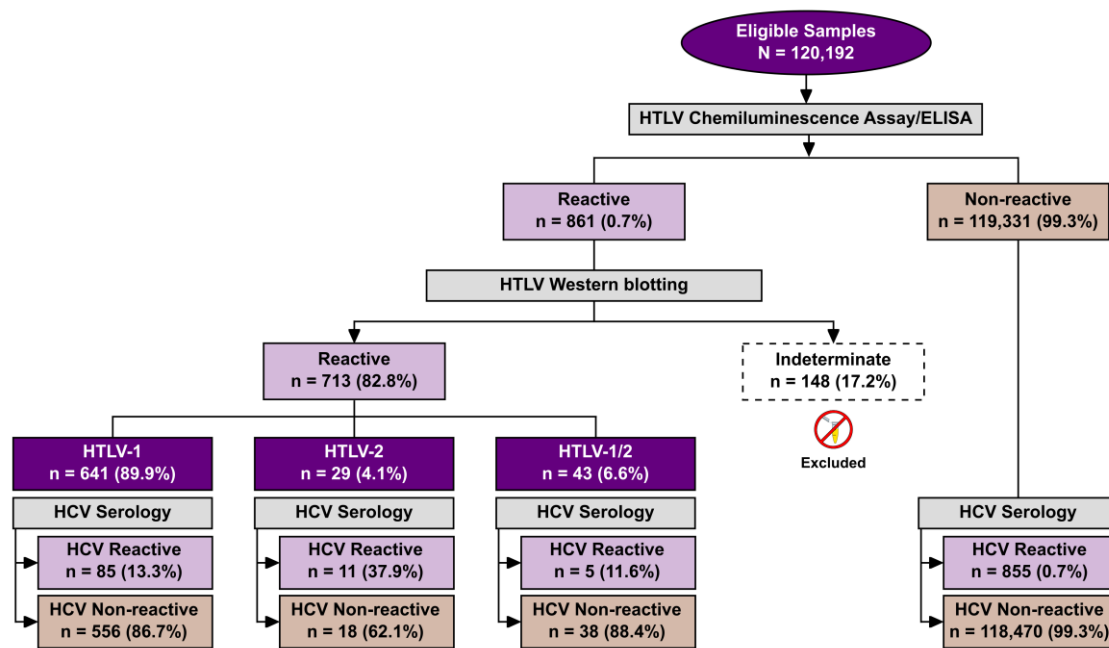


Figure 1. Flow chart detailing the classification protocols employed in the studied population to determine HTLV and HCV status.

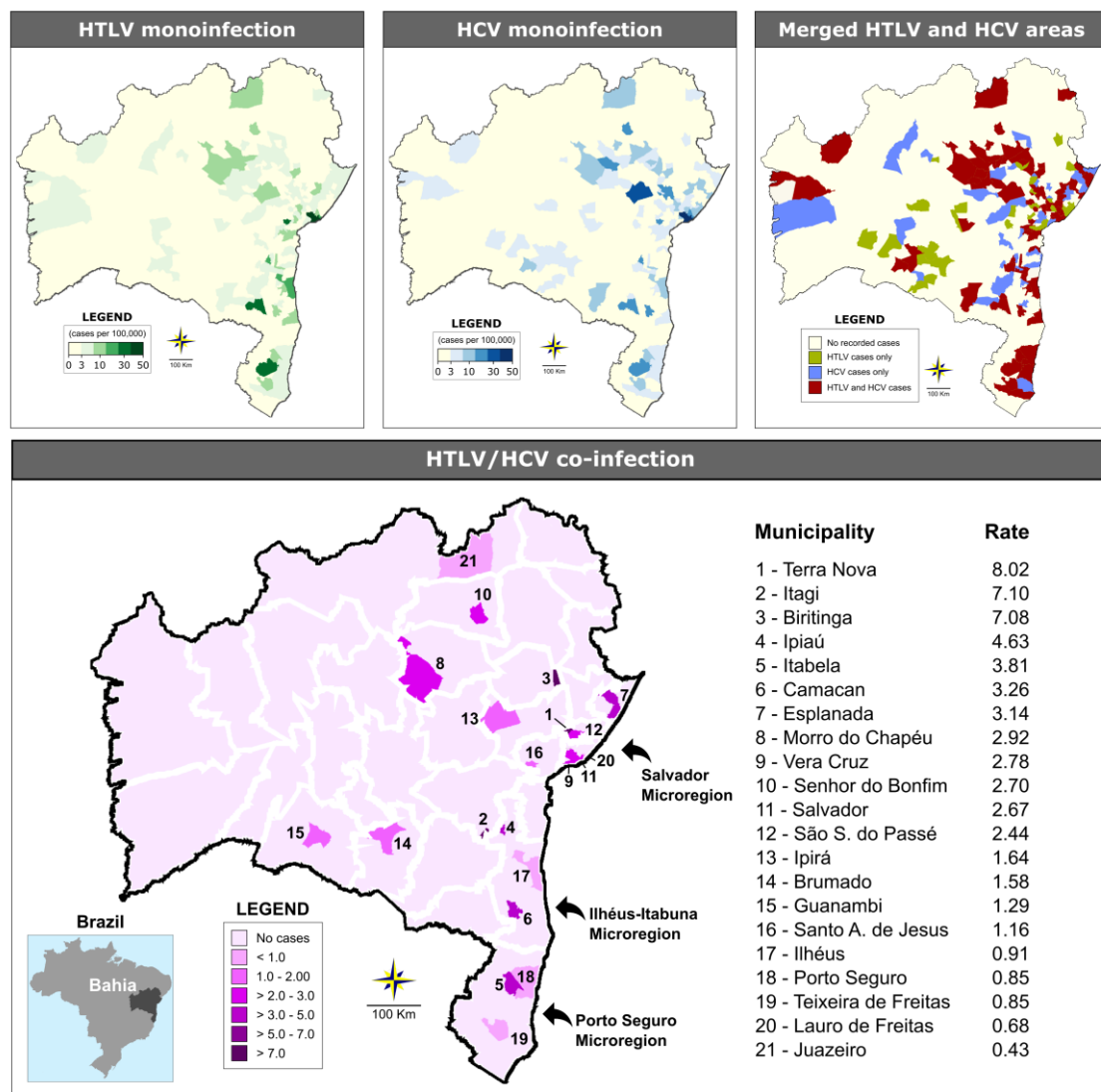


Figure 2. Geographic distribution of HTLV and HCV cases among the municipalities of the state of Bahia between 2004 and 2013. Blown-up area highlights microregions with the highest concentrations of coinfection cases.

Table 1 – Profile of HTLV/HCV coinfection in municipalities located in Bahia, Brazil from 2004 to 2013.

Microregion	Municipality	# cases	Age	%Female	Population	Rate**
Catu	Terra Nova	1	46	0	12,467	8.02
Jequié	Itagi	1	48	100	14,084	7.10
Serrinha	Biritinga	1	32	100	14,129	7.08
Ilhéus/Itabuna	Ipiaú	2	57	0	43,169	4.63
Porto Seguro	Itabela	1	47	0	26,228	3.81
Ilhéus/Itabuna	Camacan	1	66	0	30,677	3.26
Entre Rios	Esplanada	1	47	100	31,852	3.14
Jacobina	Morro do Chapéu	1	27	100	34,276	2.92
Salvador	Vera Cruz	1	56	100	35,951	2.78
Senhor do Bonfim	Senhor do Bonfim	2	30	50	73,955	2.70
Salvador	Salvador	78	54 [£]	44.8%	2,920,679	2.67
Catu	São Sebastião do Passé	1	39	100	40,972	2.44
Feira de Santana	Ipirá	1	50	0	60,891	1.64
Brumado	Brumado	1	40	100	63,391	1.58
Guanambi	Guanambi	1	51	0	77,691	1.29
Santo Antônio de Jesus	Santo Antônio de Jesus	1	51	100	86,014	1.16
Ilhéus/Itabuna	Ilhéus	2	NA	50	219,927	0.91
Porto Seguro	Porto Seguro	1	60	100	117,402	0.85
Porto Seguro	Teixeira de Freitas	1	63	100	121,268	0.82
Salvador	Lauro de Freitas	1	52	100	147,661	0.68
Juazeiro	Juazeiro	1	33	100	234,082	0.43
		101				2.8

Mean age (years), * Mean population from 2008 to 2009 (www.ibge.gov.br). ** No. of cases per 100,000 inhabitants. £ Mean age calculated from data available for 64 individuals.

DISCUSSION

The present study represents the first analysis of HTLV/HCV coinfection performed in the entire state of Bahia, which is considered endemic for both HTLV and HCV infections. (Zarife, Silva, *et al.*, 2006; Pereira, F. M. *et al.*, 2019). A total of 14.2% of the HTLV-infected individuals investigated herein were found to be coinfecting with HCV, resulting in an overall coinfection prevalence of 2.8/100,000 inhabitants. Although isolated infection with HTLV or HCV was disseminated throughout the state's microregions, the majority of HTLV/HCV coinfection cases clustered in just three microregions: Salvador (79% of cases), Ilhéus/Itabuna (5% of cases) and Porto Seguro (3% of cases). Of note, the Salvador microregion, which boasts a population of more than 3 million inhabitants, had the largest absolute number of coinfecting individuals. This result was expected, since population-based studies conducted in this city reported that around 2% and 1.5% of individuals are infected with HTLV-1 and HCV, respectively (Dourado *et al.*, 2003; Zarife, Silva, *et al.*, 2006). Salvador and the neighboring municipalities located around the Baía de Todos os Santos comprise a historical region that was heavily engaged in slave trading from the 16th to 19th centuries. Nowadays, the population is mainly of African descent. The economy is based on commercial, service, and industrial activities. The Ilhéus-Itabuna and Porto Seguro microregions are both located in the southernmost of Bahia. Tourism and commercial activities are essential in both microregions. Recently, these two microregions were pointed out as significant foci of HTLV-1 infection in Bahia (Pereira, F. *et al.*, 2019)

The frequency of the HTLV/HCV coinfection in the presents study was slightly higher than that reported in São Paulo (5.3%), which concentrates more than one half of HCV-infected individuals undergoing treatment in Brazil (Brasil, 2018; Caterino-De-Araujo *et al.*, 2018). However, it was lower than those rates found in two endemic areas for HTLV infection in

Japan, where around 25% of HTLV-1-infected people returned positive for HCV (Nakashima *et al.*, 1994; Boschi-Pinto *et al.*, 2000).

In the present study, males over 50 years were predominantly found to be coinfecting with HTLV and HCV, which has also been reported in other studies (Milagres *et al.*, 2009; Moreira *et al.*, 2013; Caterino-De-Araujo *et al.*, 2018). It is known that the prevalence of HTLV-1 infection increases with age (Dourado *et al.*, 2003). Moreover, both HTLV and HCV have a long asymptomatic course; and the diagnosis might occur only when chronic complications are present. On the other hand, blood bank screening for both viruses became mandatory since 1993. Before, re-use of glass syringes for injecting drug use was frequent, contributing to the transmission of HCV (Prati, 2006). Although the present study was unable to determine the route of infection for these viruses, it is possible that sharing of needles and syringes has been the form of infection (Moreira *et al.*, 2013; Pereira *et al.*, 2013; Oliveira-Filho *et al.*, 2014; Caterino-De-Araujo *et al.*, 2015; Caterino-De-Araujo *et al.*, 2018). HCV is transmitted through exposure to blood, particularly by transfusion, organ transplantation of infected individuals (Alter, 2007). In addition, injecting drug use is considered the leading risk factor for acquiring this virus (Cardoso *et al.*, 2009; Pereira *et al.*, 2013). In contrast, HTLV infection occurs more frequently through sexual route and breastfeeding, both uncommon for HCV transmission (Terrault, 2002).

In the present study, the HTLV-2 was the most common virus type found in coinfecting individuals. HTLV-2 infection is mostly reported among injection drug users in urban areas (Catalan-Soares, Carneiro-Proietti, *et al.*, 2005) and in the indigenous population in North Brazil (Carneiro-Proietti *et al.*, 2002). In a recent study conducted by our group in Bahia, HTLV-2 was found to be present in areas with high prevalence of HTLV-1, as well as in HTLV-1/2 coinfection (Pereira, 2019), indicating drug users maybe the main infected population. The discrimination between HTLV-1 and HTLV-2 may have prognostic value in

the HCV outcome (Caterino-De-Araujo *et al.*, 2018). Clinical complications, such as increased HCV load, damage of hepatocytes, hepatocarcinogenesis, high levels of alanine aminotransferase (ALT) and increase in the spontaneous production of IL-1, IL-2, and IFN- γ , has been more frequently reported in individuals coinfecting with HTLV-1 / HCV than with HTLV-2 (Hisada *et al.*, 2003; Cardoso *et al.*, 2009; Bahia *et al.*, 2011; Moreira *et al.*, 2013; Le Marchand *et al.*, 2015; Silva *et al.*, 2016; Espindola *et al.*, 2017).

The main limitation of the present study was the non-random sampling with a predominance of females. However, the representativeness of the municipalities and the number of individuals analyzed provides a panorama of the circulation of HTLV and HCV in the state.

In conclusion, at least 14% of individuals infected with HTLV also harbor HCV in Bahia. Coinfection was concentrated in males individuals living in the Salvador, Ilhéus-Itabuna and Porto Seguro microregions, which are hotspots for HTLV infection. Given the clinical importance of the identification of HTLV/HCV coinfecting individuals, new studies become necessary to describe the clinical and epidemiological profile of these individuals, as well as contribute to the prevention of these infections.

REFERENCES

ALTER, M. Epidemiology of hepatitis C virus infection. **WORLD JOURNAL GASTROENTEROLOGY**, v. 13, n. 1007-9327, p. 2436-2441, 2007.

ALTER, M. J. Prevention of spread of hepatitis C. **Hepatology**, v. 36, n. 5 Suppl 1, p. S93-8, Nov 2002. ISSN 0270-9139 (Print)
0270-9139 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12407581> >.

BAHIA, F. et al. The impact of human T-cell lymphotropic virus I infection on clinical and immunologic outcomes in patients coinfecting with HIV and hepatitis C virus. **J Acquir Immune Defic Syndr**, v. 57 Suppl 3, p. S202-7, Aug 2011. ISSN 1944-7884 (Electronic)
1525-4135 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21857319> >.

BITTENCOURT, A. L. et al. Human T-cell lymphotropic virus type 1 infection among pregnant women in northeastern Brazil. **J Acquir Immune Defic Syndr**, v. 26, n. 5, p. 490-4, Apr 15 2001. ISSN 1525-4135 (Print)
1525-4135 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11391171> >.

BOSCHI-PINTO, C. et al. A follow-up study of morbidity and mortality associated with hepatitis C virus infection and its interaction with human T lymphotropic virus type I in Miyazaki, Japan. **J Infect Dis**, v. 181, n. 1, p. 35-41, Jan 2000. ISSN 0022-1899 (Print)
0022-1899 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10608748> >.

BRASIL, M. D. S. **Boletim Epidemiológico - Hepatites virais**. SAÚDE, M. D. Brasília: Ministério da Saúde. 49 2018.

CARDOSO, D. F. et al. Influence of human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) Infection on laboratory parameters of patients with chronic hepatitis C virus. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v. 51, n. 6, p. 325-9, Oct-Dec 2009. ISSN 1678-9946 (Electronic)
0036-4665 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20209267> >.

CARNEIRO-PROIETTI, A. B. et al. [Infection and disease caused by the human T cell lymphotropic viruses type I and II in Brazil]. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 35, n. 5, p. 499-508, Sep-Oct 2002. ISSN 0037-8682 (Print)
0037-8682 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12621671> >.

CATALAN-SOARES, B. et al. Heterogeneous geographic distribution of human T-cell lymphotropic viruses I and II (HTLV-I/II): serological screening prevalence rates in blood donors from large urban areas in Brazil. **Cad Saude Publica**, v. 21, n. 3, p. 926-31, May-Jun 2005. ISSN 0102-311X (Print)
0102-311X (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15868051> >.

CATALAN-SOARES, B. et al. HIV-1, HBV, HCV, HTLV, HPV-16/18, and Treponema pallidum infections in a sample of Brazilian men who have sex with men. **PLoS One**, v. 9, n. 8, p. e102676, 2014. ISSN 1932-6203 (Electronic)
1932-6203 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25083768> >.

CATERINO-DE-ARAUJO, A. et al. Making the invisible visible: searching for human T-cell lymphotropic virus types 1 and 2 (HTLV-1 and HTLV-2) in Brazilian patients with viral hepatitis B and C. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 113, n. 2, p. 130-134, Feb 2018. ISSN 1678-8060 (Electronic)

0074-0276 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29236927> >.

CATERINO-DE-ARAUJO, A. et al. Short Communication: Current Prevalence and Risk Factors Associated with Human T Lymphotropic Virus Type 1 and Human T Lymphotropic Virus Type 2 Infections Among HIV/AIDS Patients in Sao Paulo, Brazil. **AIDS Res Hum Retroviruses**, v. 31, n. 5, p. 543-9, May 2015. ISSN 1931-8405 (Electronic)

0889-2229 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25464979> >.

DE LA FUENTE, L. et al. HTLV infection among young injection and non-injection heroin users in Spain: prevalence and correlates. **J Clin Virol**, v. 35, n. 3, p. 244-9, Mar 2006. ISSN 1386-6532 (Print)

1386-6532 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16143565> >.

DOURADO, I. et al. HTLV-I in the general population of Salvador, Brazil: a city with African ethnic and sociodemographic characteristics. **J Acquir Immune Defic Syndr**, v. 34, n. 5, p. 527-31, Dec 15 2003. ISSN 1525-4135 (Print)

1525-4135 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14657765> >.

ESPINDOLA, O. M. et al. Hepatitis C virus and human T-cell lymphotropic virus type 1 co-infection: impact on liver disease, virological markers, and neurological outcomes. **Int J Infect Dis**, v. 57, p. 116-122, Apr 2017. ISSN 1878-3511 (Electronic)

1201-9712 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28185943> >.

GESSAIN, A.; CASSAR, O. Epidemiological Aspects and World Distribution of HTLV-1 Infection. **Front Microbiol**, v. 3, p. 388, 2012. ISSN 1664-302X (Electronic)

1664-302X (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23162541> >.

HISADA, M. et al. Increased hepatitis C virus load among injection drug users infected with human immunodeficiency virus and human T lymphotropic virus type II. **J Infect Dis**, v. 188, n. 6, p. 891-7, Sep 15 2003. ISSN 0022-1899 (Print)

0022-1899 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12964121> >.

KUCHARSKA, M. et al. Co-Infection of the Hepatitis C Virus With Other Blood-Borne and Hepatotropic Viruses Among Hemophilia Patients in Poland. **Hepat Mon**, v. 16, n. 9, p. e35658, Sep 2016. ISSN 1735-143X (Print)

1735-143X (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27822257> >.

LE MARCHAND, C. et al. Hepatitis C virus infection and spontaneous clearance in HTLV-1 and HIV co-infected patients in Salvador, Bahia, Brazil. **Braz J Infect Dis**, v. 19, n. 5, p. 486-91, Sep-Oct 2015. ISSN 1678-4391 (Electronic)

1413-8670 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26254690> >.

LI, H. C. et al. Provirus load in breast milk and risk of mother-to-child transmission of human T lymphotropic virus type I. **J Infect Dis**, v. 190, n. 7, p. 1275-8, Oct 1 2004. ISSN 0022-1899 (Print)

0022-1899 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15346338> >.

LOZA, E.; MATEOS, M. Absence of HTLV-1/2 infection among HCV- infected patients with no HIV-1/2 infection in Spain. **Journal of Clinical Virology**, v. 64, p. 72-73, 2015.

MACIEL, A. M. A.; MELLO, C. E. B. Hepatitis C Virus and Human T-cell Lymphotropic Virus Co- infection: A Epidemiological, Clinical and Laboratory Analysis. **Archives of Clinical Microbiology.**, v. 6 No.2:5, p. 1-7, 2015.

MANNS, A. et al. A prospective study of transmission by transfusion of HTLV-I and risk factors associated with seroconversion. **Int J Cancer**, v. 51, n. 6, p. 886-91, Jul 30 1992. ISSN 0020-7136 (Print)
0020-7136 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1639536> >.

MILAGRES, F. A. et al. Hepatitis C virus and human T-lymphotropic virus coinfection: epidemiological, clinical, laboratory and histopathological features. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 42, n. 4, p. 363-8, Jul-Aug 2009. ISSN 1678-9849 (Electronic)
0037-8682 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19802468> >.

MOREIRA, M. et al. Characteristics of co-infections by HCV and HBV among Brazilian patients infected by HIV-1 and/or HTLV-1. **Braz J Infect Dis**, v. 17, n. 6, p. 661-6, Nov-Dec 2013. ISSN 1678-4391 (Electronic)
1413-8670 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24029434> >.

NAKASHIMA, K. et al. Hepatitis C virus infection on Iki Island, Japan, an area endemic for human T-lymphotropic virus type-I. A preliminary study in patients at clinics or hospitals. **Journal of Epidemiology**, v. 4, p. 17-23, 1994.

NUNES, D. et al. HTLV-1 is predominantly sexually transmitted in Salvador, the city with the highest HTLV-1 prevalence in Brazil. **PLoS One**, v. 12, n. 2, p. e0171303, 2017. ISSN 1932-6203 (Electronic)
1932-6203 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28158226> >.

OLIVEIRA-FILHO, A. B. et al. Epidemiological aspects of HCV infection in non-injecting drug users in the Brazilian state of Para, eastern Amazon. **Virol J**, v. 11, p. 38, Feb 25 2014. ISSN 1743-422X (Electronic)
1743-422X (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24564954> >.

PEREIRA, F. et al. Evidence of New Highly Endemic Clusters of Human T-cell lymphotropic viral infection (HTLV) in Bahia, Brazil. **Front. Microbiol.**, v. 10:1002, 2019.

PEREIRA, F. M. et al. Evidence of New Endemic Clusters of Human T-Cell Leukemia Virus (HTLV) Infection in Bahia, Brazil. **Front Microbiol**, v. 10, p. 1002, 2019. ISSN 1664-302X (Print)
1664-302X (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31156570> >.

PEREIRA, L. M. et al. Prevalence and risk factors of Hepatitis C virus infection in Brazil, 2005 through 2009: a cross-sectional study. **BMC Infect Dis**, v. 13, p. 60, Feb 1 2013. ISSN 1471-2334 (Electronic)
1471-2334 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23374914> >.

PINTO, M. T. et al. HTLV-1/2 seroprevalence and coinfection rate in Brazilian first-time blood donors: an 11-year follow-up. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v. 54, n. 3, p. 123-9, May-Jun 2012. ISSN 1678-9946 (Electronic)
0036-4665 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22634882> >.

PRASETYO, A. A. et al. Molecular epidemiology of HIV, HBV, HCV, and HTLV-1/2 in drug abuser inmates in central Javan prisons, Indonesia. **J Infect Dev Ctries**, v. 7, n. 6, p. 453-67, Jun 15 2013. ISSN 1972-2680 (Electronic)
1972-2680 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23771289> >.

PRATI, D. Transmission of hepatitis C virus by blood transfusions and other medical procedures: a global review. **J Hepatol**, v. 45, n. 4, p. 607-16, Oct 2006. ISSN 0168-8278 (Print)
0168-8278 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16901579> >.

RAMOS, J. M. et al. Prevalence of HIV, HBV, HCV, HTLV and Treponema pallidum among patients attending a rural hospital in Southern Ethiopia. **J Clin Virol**, v. 53, n. 3, p. 268-9, Mar 2012. ISSN 1873-5967 (Electronic)
1386-6532 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22209287> >.

SILVA, M. C. et al. HCV/HTLV coinfection: Does HTLV-1 interfere in the natural history of HCV-related diseases? **J Med Virol**, v. 88, n. 11, p. 1967-72, Nov 2016. ISSN 1096-9071 (Electronic)
0146-6615 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27027482> >.

SULLIVAN, M. T. et al. Transmission of human T-lymphotropic virus types I and II by blood transfusion. A retrospective study of recipients of blood components (1983 through 1988). The American Red Cross HTLV-I/II Collaborative Study Group. **Arch Intern Med**, v. 151, n. 10, p. 2043-8, Oct 1991. ISSN 0003-9926 (Print)
0003-9926 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1929693> >.

TERRAULT, N. A. Sexual activity as a risk factor for hepatitis C. **Hepatology**, v. 36, n. 5 Suppl 1, p. S99-105, Nov 2002. ISSN 0270-9139 (Print)
0270-9139 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12407582> >.

ZARIFE, M. A. et al. Prevalence of hepatitis C virus infection in north-eastern Brazil: a population-based study. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v. 100, n. 7, p. 663-8, Jul 2006. ISSN 0035-9203 (Print)
0035-9203 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16386279> >.

ZIAEE, M.; NAMAIEI, M. H.; AZARKAR, G. The prevalence of HTLV-1 and its Co-Infection with HCV, HBV and HIV in Hemophilic patients. **Pak J Med Sci**, v. 31, n. 5, p. 1246-9, Sep-Oct 2015. ISSN 1682-024X (Print)
1681-715X (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26649023> >.

4.4 CAPÍTULO 4: DESCREVER O PERFIL DAS DAS CITOCINAS INFLAMATÓRIAS E REGULATÓRIAS (TNF-A, IFN- Γ , IL 1, IL- 8 E IL-10) DOS PACIENTES COINFECTADOS COM HCV/HTLV, MONOINFECTADOS COM HCV E INDIVÍDUOS SADIOS.

O artigo "*Evaluation of the inflammatory cytokines and IL-10 network in individuals coinfecting with human T-cell lymphotropic virus and hepatitis C virus (HTLV / HCV)*."

descreve o perfil de citocinas inflamatórias IFN- γ , TNF- α , IL-10, IL-8 e IL-1 nos grupos de pacientes coinfectados com HTLV/HCV, monoinfectados com HCV e o grupo controle formado por indivíduos saudáveis. Além disso, foi analisado o perfil da interação das citocinas IFN- γ , TNF- α , IL-10, IL-8 e IL-1 entre os grupos avaliados. Neste trabalho, foram avaliados outros parâmetros clínicos e laboratoriais dos grupos coinfectados pelo HTLV/HCV e monoinfectado pelo HCV. O artigo encontra-se em fase de preparação para posterior submissão a revista científica.

Evaluation of the inflammatory cytokines and IL-10 network in individuals co-infected with human T-cell lymphotropic virus and hepatitis C virus (HTLV / HCV).

Felicidade Mota Pereira^{1,3}, Pablo Ivan Pereira Ramos⁵, Monique Lirio Cantharino de Carvalho¹, Ajax Atta⁴, Isabela Oliveira⁴, Fabio Carneiro Vosqui Nascimento⁶, Marcelo Costa Silva⁷, Bernardo Galvão-Castro², Maria Fernanda Rios Grassi^{1,2},

- 1- Laboratório Avançado de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz- Bahia, Brazil
- 2- Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, Bahia, Brazil
- 3- Laboratório Central de Saúde Pública Prof. Gonçalo Moniz - Secretaria da Saúde do Estado da Bahia, Bahia, Brasil
- 4- Faculdade de Farmácia – Universidade Federal da Bahia, Brazil
- 5- Centro de Integração de Dados e Conhecimentos para Saúde - CIDACS, Fundação Oswaldo Cruz- Bahia, Brazil
- 6- Secretaria Municipal de Saúde de Feira de Santana, Bahia, Brazil
- 7- Secretaria da Saúde do Estado da Bahia, Bahia, Brazil

Correspondent author:

Maria Fernanda Rios Grassi

E-mail: fernanda.grassi@fiocruz.br,

Rua Waldemar Falcão, 121, Candeal - Salvador/BA- Brasil

CEP: 40296-710

Phone: +55 (71) 3176-2200 – FAX: +55 (71) 3176-2327

ABSTRACT

Background: Coinfection between the Human T-cell Lymphotropic Virus (HTLV) and hepatitis C virus (HCV) can modify the natural history of HCV infection. The aim of this study was to describe the inflammatory cytokines and IL-10 network in HTLV and HCV coinfecting patients in Bahia, Brazil.

Methods: Samples from 31 HTLV/HCV coinfecting individuals and 27 HCV mono-infected individuals were evaluated. IFN- γ , TNF- α , IL-10, IL-8 and IL-1 cytokines were quantified by ELISA. Clinical, laboratory data were obtained from patient records. Serum levels of the cytokines were log₁₀-transformed and data mining was performed using Z-score statistics and correlation analysis.

Results: The HTLV / HCV group presented a tendency towards higher production of INF- γ compared to the HCV mono-infected group. Regarding cytokine pairs, there was a positive correlation (P-value <0.05) between IL-1 and IL-8 in the HTLV/HCV coinfecting group and uninfected controls, and two correlations in the HCV mono-infected group IL-8 - IL10 and IL- INF- γ - IL-10 pairs. There was no significant difference between the groups for the other parameters analyzed.

Conclusion: The results presented herein indicated that HTLV/HCV coinfection was associated with IFN- γ production while HCV mono-infected individuals presented a positive correlation between both inflammatory cytokines (IL-8 and IFN- γ) and the regulatory cytokine IL-10.

Key-words: HTLV, HCV, cytokines, coinfection.

INTRODUCTION

The coinfection between the human T-cell Lymphotropic Virus type 1 (HTLV-1) or type 2 (HTLV-2) and hepatitis C virus (HCV) has been described in countries where both viruses are endemic (Nakashima *et al.*, 1994), mainly in drug users (De La Fuente *et al.*, 2006; Zunt *et al.*, 2006; Berini *et al.*, 2007; Moreira *et al.*, 2013). In Brazil, the prevalence of HTLV infection reaches 5.3 % in HCV carriers (Caterino-De-Araujo *et al.*, 2018) and HTLV / HCV coinfection was found in 1.5% in men who have sex with men (Catalan-Soares *et al.*, 2014).

The clinical course and immunological changes of coinfection the between HTLV and HCV are still poorly understood and remain controversial. Some studies show that HTLV-1/ HCV coinfection has a synergistic effect on the liver disease severity and lethality. In Japan, several reports suggest that the presence of HTLV-1 influences negatively the natural history of HCV infection, reducing the cellular immune response against HCV and decreasing the cytotoxic action of T-lymphocytes against infected hepatocytes (Boschi-Pinto *et al.*, 2000). In addition, it has been shown that the HTLV-1 regulatory protein Tax promotes the replication of HCV (Zhang *et al.*, 2007) and that HTLV/HCV coinfecting individuals have high HCV viral load (Hisada *et al.*, 2003). In Japan, it has been reported that HTLV / HCV coinfection increases the progression of HCV infection to hepatocellular carcinoma (Kamihira *et al.*, 1991; Tokunaga *et al.*, 2014), and decreases the sustained virological response rate to hepatitis C treatment with interferon (Kishihara *et al.*, 2001).

In contrast, studies conducted in Brazil have shown that HTLV contribute to the spontaneous clearing of HCV in coinfecting individuals (Moreira *et al.*, 2013; Le Marchand *et al.*, 2015). Coinfecting individuals present lower hepatic fibrosis, higher CD4⁺ T-cell count and lower alanine aminotransferase levels compared with individuals with HCV-infection alone (Bahia *et al.*, 2011; Abad-Fernandez *et al.*, 2015; Espindola *et al.*, 2017). In addition, HTLV-1

induces an intense immune response, with increased production of cytokines such as IL-2, IL-6, IL-15 and IFN- γ in the presence of HCV (Casseb, 2000; Silva *et al.*, 2016), even in the presence of triple infection between HTLV-1/HIV/HCV (Brites *et al.*, 2018). The aim of this study was to describe the inflammatory and regulatory cytokine network in HTLV/HCV coinfecting patients compared to HCV monoinfection.

METHODS

Ethical statement

The Institutional Review Board (IRB) for Human Research at the Gonçalo Moniz Institute of the Oswaldo Cruz Foundation (Salvador, Bahia, Brazil) provided ethical approval to conduct this study (CAAE number 22478813.7.0000.0040).

Study Population

The study was conducted at the Central Laboratory of Public Health of the state of Bahia (LACEN / BA), from January 2014 to June 2016. All samples of individuals tested for HCV viral load quantification were sequentially selected. Individuals were included if they had been previously tested for HTLV serology (confirmed by Western blot) at LACEN. Subjects were divided into two groups: HCV monoinfected and HTLV/ HCV coinfecting. Samples with a reagent result for HIV were excluded.

Data collect

Socio demographic data and serological results for HTLV and HIV were obtained from the SMART LAB database that is the laboratory management system of LACEN-BA. Clinical information on inflammatory liver activity and degree of fibrosis (both evaluated by the METAVIR scale), presence of hepatic steatosis, ascites, hepatic encephalopathy, treatment of hepatitis C, platelet count and prothrombin time were obtained from the patients' medical records.

HCV viral load and genotyping

Plasma samples collected in tubes containing EDTAK3. HCV viral load was quantified using the Abbott RealTime HCV kit (ABBOTT Molecular Inc., Des Plaines, USA) and the determination of viral genotype using the Abbott RealTime HCV Genotype II (ABBOTT Molecular Inc., Des Plaines, USA).

Detection of cytokines

Cytokines were measured in plasma from HCV and HTLV/HCV individuals. A control group consisting of 30 healthy individuals with non-reactive results for HTLV, HCV, HIV, and demographic characteristics similar to those in the HCV and HTLV/HCV groups was selected from the sample bank of the Immunology Laboratory of the Pharmacy School of the Federal University of Bahia. The levels of INF- γ , TNF, and IL-10, were measured using the Enzyme-linked Immunosorbent Assay kits (eBioscience, Bender, Vienna, Austria). The levels of IL-1 and IL-8 were measured using the Uncoated ELISA kits (Invitrogen, Bender, Vienna, Austria) in accordance with the manufacturer's instructions.

Data Analysis

The Prism ® Version 5.03 (GraphPad) was used for data analysis. The categorical variables (gender, inflammatory activity, and degree of fibrosis, treatment, presence of steatosis, hepatic encephalopathy, as well as ascites) were presented as absolute and relative frequencies. The continuous variables (age, HCV viral load, platelet count, and prothrombin time) as central tendency and dispersion measures (mean, standard deviation, median and interquartile range, confidence interval). To compare the proportions (categorical variables), the chi-square test (χ^2) and / or Fisher's exact test were used. To compare continuous

variables, the t-test for independent samples was used. The analyzes were bilateral (two-tailed), and the value of $P \leq 0.05$ was considered statistically significant.

Data mining of cytokine profiles

Serum levels of the cytokines IFN- γ , TNF- α , IL-10, IL-8, and IL-1 of the evaluated groups were \log_{10} -transformed prior to data mining using Z-score statistics and correlation analysis. In order to avoid log evaluation errors, the values equal to zero were replaced by the detection limit of the instrument according to the manufacturer. Conversely, the values exceeding the upper limit were replaced by the upper limit of detection. Deviations from the mean were calculated as Z-scores aggregated across groups using the *scale* function in R 3.2.2 (Team, 2018), allowing to disclose trend changes in cytokine profiles. Additionally, correlation analysis was performed to infer within-group associations between cytokine-cytokine pairs. The R package *qpgraph* v. 2.10.2 (Castelo e Roverato, 2006) was used to calculate Pearson's correlation statistic and corresponding P-values. In order to disclose a network from these associations, the package *igraph* v. 1.2.2 (Csardi e Nepusz, 2006) was used based on a nominal P-value threshold of <0.05 to establish an edge between cytokine nodes, with self-loops removed for clarity.

RESULTS

A total of 58 individuals (31 HTLV/HCV and 27 HCV) were included. There was no statistically significant differences between the HTLV/ HCV coinfectd and HCV monoinfected groups with respect to the median age and the proportion of males. Most individuals in the coinfectd group were from Salvador, P=0.006 (Table 1).

Table 1. Demographic characteristics of HTLV/HCV coinfectd and HCV infected patients.

Variables	HTLV/HCV	HCV	P-value
	N=31	N=27	
Age (years)	61 (55-68)	63 (56- 69)	0.8*
Gender n (%)			
Male	17 (55)	14 (52)	1.0
Female	14 (45)	13 (48)	
City of origin n (%)			0.006
Salvador	21 (68)	11 (41)	
Others	10 (32)	16 (59)	

Data are presented as number (percentage), age as median and interquartile range, P-value= two tailed.

Regarding clinical data, the frequencies of steatosis, ascites and neurological findings suggestive of hepatic encephalopathy were similar between both HCV and HTLV/HCV groups (Table 2). No statistically significant difference was found in the proportion of non-responders to the HCV treatment in the HTLV/HCV and HCV groups, although the proportion of non-responders was higher in the HCV group (44%) compared to HTLV/HCV (35%), $p = 0.72$. The liver biopsy results were obtained from 21 out of 31 HTLV/HCV coinfectd individuals and 14 out of 27 HCV monoinfected individuals. The frequency advanced fibrosis (F3-F4) was slightly lower in the HTLV/HCV (43%, 9/21) group compared

to the HCV-infected (64%, 9/14) individuals. Liver cirrhosis was identified in two individuals in each group. High inflammatory activity (A2-A3) was observed in 35% (7/20) of HTLV/HCV individuals and 43% (6/14) of HCV patients.

Table 2. Clinical and histopathological findings of HTLV/HCV coinfecting and HCV infected individuals.

CLINICAL DATA	HTLV/HCV		HCV		P-value
	N	n (%)	N	n (%)	
Steatosis (absence)	17	12 (71)	4	3 (75)	1.0
Ascites (absence)	28	28 (100)	25	23 (92)	0.22
Hepatic encephalopathy (absence)	21	20 (95)	24	24 (100)	0.47
HCV treatment (non responders)	17	6 (35)	16	7 (44)	0.72
Liver inflammatory activity (A2-A3) *	20	7 (35)	14	6 (43)	0.73
Degree of liver fibrosis (F3-F4) *	21	9 (43)	14	9 (64)	0.31

* METAVIR scale; P value <0.05, Fisher's exact test; Neurological findings suggestive for hepatic encephalopathy.

There was no difference in the mean HCV viral load between HTLV/HCV (5.3 ± 1.9 log) and HCV (4.9 ± 1.5 log) groups, $P = 0.428$. Undetectable viral load was more frequent in the HTLV/HCV group (26%, 8/31) as compared to HCV group (7.4%, 2/27), $P = 0.08$. The mean platelet counts and percentage of prothrombin time were similar in both HTLV/HCV and HCV groups, (Figure 1).

The HCV genotype 1 was found in 74.2% (23/31) and 85.2% (23/27) of the HTLV/HCV and the HCV group, respectively. Genotype 2 was found in 3.2% (1/31) of the HTLV/HCV group, while genotype 3 was detected in 9.7% (3/31) and 7.4% (2/27) in the HTLV/HCV and HCV groups, respectively.

Regarding the cytokine levels, HTLV/HCV and HCV groups had lower levels of TNF, IL-10 and IL-8 as compared to uninfected controls (P-value <0.001), (Figure 2a). A trend towards higher IFN- γ production was observed in the HTLV/HCV group compared to the HCV group (Figure 2b). With respect to the cytokine pairs (Figure 2c), there was a statistically significant association (P-value <0.05) between IL-1 and IL-8 in the uninfected control group, similar to that found for the HTLV/HCV coinfecting group. Two statistically significant associations between the IL-8 -IL-10 and IL-10 - IFN- γ pairs were found in the HCV monoinfected group, (Figure 2).

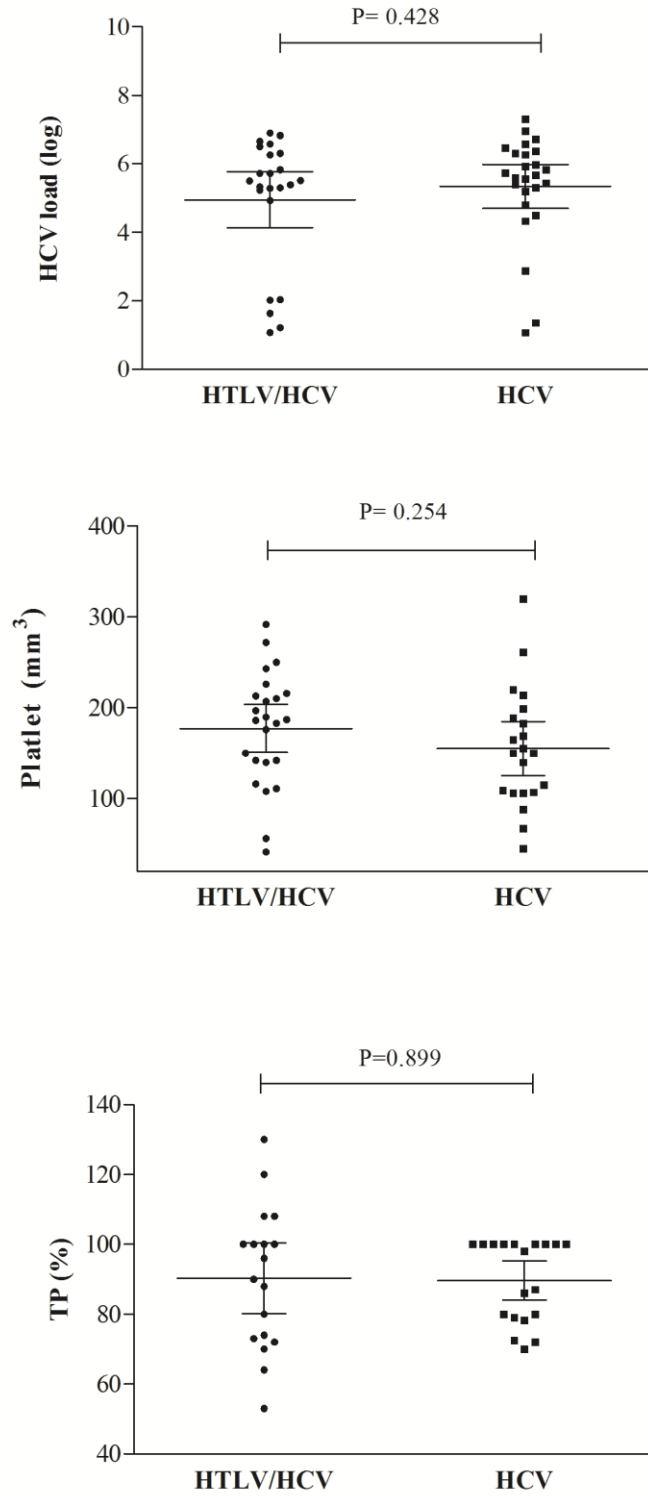


Figure 1. HCV load levels, platelet count, and percentage of prothrombin time in HTLV/HCV coinfecting and HCV monoinfected groups.

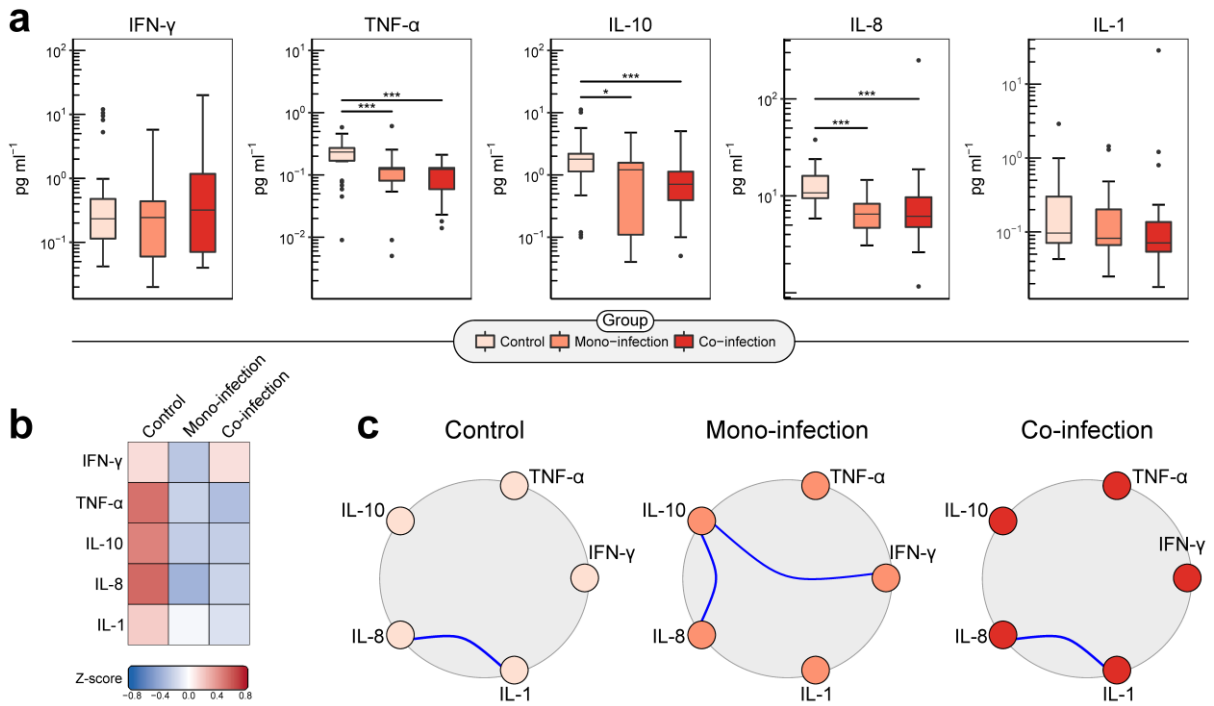


Figure 2 – Analysis of cytokine expression among the compared groups. a) Boxplots of serum levels (pg/mL) of log₁₀-transformed cytokines IFN-g, TNF, IL-10, IL-8, IL-1. *, p<0.05, ***, p<0.001 (Kruskal-Wallis with Dunn's post-test and Holm's correction for P-value adjustment). b) A heatmap using Z-scores calculated across groups is used to illustrate trend changes in the cytokine profiles between the compared groups. c) Cytokine networks constructed using Pearson's correlation depict pairwise relationships between cytokine expression levels. Blue-colored links between nodes represent a positive, statistically significant correlation.

DISCUSSION

The present study evaluated the inflammatory (INF- γ , TNF, IL-1, IL-8) and regulatory (IL 10) cytokine network in HTLV and HTLV/HCV coinfecting individuals. Cytokine levels were similar between HTLV/HCV and HCV groups yet lower than uninfected controls. Similar results have been described in other studies indicating no differences in cytokine levels in the presence of HTLV (Abad-Fernandez *et al.*, 2015; Silva *et al.*, 2016). However, in the present study, evaluating the trend changes in the cytokine profiles between groups using the heatmap, it was observed that the HTLV/HCV group tended to have higher IFN- γ production than those infected by HCV. In fact, the HTLV-1 infection is strongly associated with a higher production of inflammatory cytokines, especially INF- γ (Carvalho *et al.*, 2001), which could explain the relative increase in production of this cytokine.

The evaluation of the cytokine network shown that HTLV/HCV coinfecting individuals had a similar profile as the uninfected controls, presenting a positive association between IL-1 and IL8. In contrast, in the HCV-infected group there was a positive correlation between the IL-8/IL-10 and INF- γ /IL-10 pairs. The level of IL-8 has been reported to be inversely correlated to the activity of liver disease, as a reduction in levels of IL8 follows an effective antiviral treatment (Alhethel *et al.*, 2016). IFN- γ is directly associated with an effective cytotoxic response to HCV and to the virus replication control (Thimme *et al.*, 2006). On the other hand, high level of IL-10 leads to an impairment of the cytotoxic response, a decrease in the inflammatory response and the progression to liver fibrosis (Nelson *et al.*, 2000; Mege *et al.*, 2006; Aroucha *et al.*, 2013; De Souza-Cruz *et al.*, 2016).

The suppressor effect of IL-10 could indicate that patients with HCV monoinfection would have a lower cytotoxic response and higher HCV viral loads. In fact, although the difference was not statistically significant, 26% of the individuals had undetectable viral load in the HTLV/HCV coinfecting group, while this proportion was only 7.4 in the HCV group (P =

0.08). Moreover, in the HCV monoinfected group there was a higher proportion of non-responders to the treatment with high inflammatory liver activity and an advanced liver fibrosis. In Brazil, some studies have suggested that HTLV coinfection may have a positive effect on spontaneous HCV clearance (Alves *et al.*, 2018), which occurs equally in patients triple infected with HTLV, HCV, and HIV-1 (Bahia *et al.*, 2011; Moreira *et al.*, 2013; Le Marchand *et al.*, 2015). However, a study conducted in Japan reported that HTLV decreased the response to the treatment with IFN- α and reduced the clearance of HCV (Kishihara *et al.*, 2001). These conflicting results may be due to differences in the therapeutic protocols used in Japan and Brazil that combines antivirals with the IFN- α .

On the other hand, differences in the viral genotype may also influence the response to the treatment. In the present study, HCV genotype 1 was the most frequent in both HCV and HTLV/HCV coinfecting groups. Similar results were reported in other studies conducted in Salvador, Bahia and Rio de Janeiro (Silva *et al.*, 2016; Espindola *et al.*, 2017). This genotype is commonly associated with failure to antiviral treatment (Simmonds *et al.*, 1996; Simmonds *et al.*, 2005). However, most patients in the present study were responsive to treatment and had few advanced fibrosis and high inflammatory activity.

The present study is limited by its study design that does not allow to make any causal and temporal association. The majority of included patients were under treatment for HCV infection and had a partial control of the viremia. It is possible that the cytokine network between inflammatory/regulatory cytokines of naïve patients was modified by therapy. In addition, a HTLV single-infected patients group for comparison purposes was not included, and the impact of HCV on HTLV infection could not be assessed.

In conclusion, the results presented herein indicated that HTLV/HCV coinfection was associated with IFN- α production while HCV-infected individuals presented a positive

correlation between both inflammatory cytokines (IL-8 and IFN- γ) and the regulatory cytokine IL-10. The trend of higher IFN- γ levels observed in HTLV/HCV coinfecting individuals may be related to the partial control of the viremia in these individuals, with a greater proportion of undetectable viral load and clinical responders to the treatment.

REFERENCES

ABAD-FERNANDEZ, M. *et al.* Delayed liver fibrosis in HTLV-2-infected patients co-infected with HIV-1 and hepatitis C virus with suppressive antiretroviral therapy. **AIDS**, v. 29, n. 4, p. 401-409, feb 20 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25565497> .

ALHETHEEL, A. *et al.* Assessment of pro-inflammatory cytokines in sera of patients with hepatitis C virus infection before and after anti-viral therapy. **J. Infect .Dev. Ctries.**, v. 10, n. 10, p. 1093-1098, oct 31 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27801372> .

ALVES, F. A. *et al.* Hepatitis C viral load in HCV-monoinfected and HCV/HIV-1-, HCV/HTLV-1/-2-, and HCV/HIV/HTLV-1/-2-co-infected patients from Sao Paulo, Brazil. **Braz. J. Infect. Dis.**, v. 22, n. 2, p. 123-128, mar - apr 2018. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29625021> >.

AROUCHA, D. C. *et al.* High tumor necrosis factor-alpha/interleukin-10 ratio is associated with hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C. **Cytokine**, v. 62, n. 3, p. 421-5, Jun 2013. ISSN 1096-0023 (Electronic) 1043-4666 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23602201> >.

BAHIA, F. *et al.* The impact of human T-cell lymphotropic virus I infection on clinical and immunologic outcomes in patients coinfecting with HIV and hepatitis C virus. **J Acquir Immune Defic Syndr**, v. 57 Suppl 3, p. S202-7, Aug 2011. ISSN 1944-7884 (Electronic) 1525-4135 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21857319> >.

BERINI, C. A. *et al.* HTLV-1/2 among high-risk groups in Argentina: molecular diagnosis and prevalence of different sexual transmitted infections. **J Med Virol**, v. 79, n. 12, p. 1914-20, Dec 2007. ISSN 0146-6615 (Print) 0146-6615 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17935172> >.

BOSCHI-PINTO, C. *et al.* A follow-up study of morbidity and mortality associated with hepatitis C virus infection and its interaction with human T lymphotropic virus type I in Miyazaki, Japan. **J Infect Dis**, v. 181, n. 1, p. 35-41, Jan 2000. ISSN 0022-1899 (Print) 0022-1899 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10608748> >.

BRITES, C. *et al.* Infection by HTLV-1 Is Associated With High Levels of Proinflammatory Cytokines in HIV-HCV-Coinfected Patients. **J Acquir Immune Defic Syndr**, v. 77, n. 2, p. 230-234, Feb 1 2018. ISSN 1944-7884 (Electronic) 1525-4135 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29084047> >.

CARVALHO, E. M. *et al.* Cytokine profile and immunomodulation in asymptomatic human T-lymphotropic virus type 1-infected blood donors. **J Acquir Immune Defic Syndr**, v. 27, n. 1, p. 1-6, May 1 2001. ISSN 1525-4135 (Print) 1525-4135 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11404513> >.

CASSEB, J. Possible mechanism for positive interaction of human T cell leukemia type I on liver disease in a hepatitis C virus-infected Japanese cohort. **J Infect Dis**, v. 182, n. 1, p. 379-80, Jul 2000. ISSN 0022-1899 (Print)

0022-1899 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10882633> >.

CASTELO, R.; ROVERATO, A. A robust procedure for Gaussian graphical model search from microarray data with p larger than n . **J Mach Learn Res**, v. 7, p. 2621-50, 2006.

CATALAN-SOARES, B. et al. HIV-1, HBV, HCV, HTLV, HPV-16/18, and *Treponema pallidum* infections in a sample of Brazilian men who have sex with men. **PLoS One**, v. 9, n. 8, p. e102676, 2014. ISSN 1932-6203 (Electronic)
1932-6203 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25083768> >.

CATERINO-DE-ARAUJO, A. et al. Making the invisible visible: searching for human T-cell lymphotropic virus types 1 and 2 (HTLV-1 and HTLV-2) in Brazilian patients with viral hepatitis B and C. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 113, n. 2, p. 130-134, Feb 2018. ISSN 1678-8060 (Electronic)
0074-0276 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29236927> >.

CSARDI, G.; NEPUSZ, T. The igraph software package for complex network research. **InterJournal**, v. Complex Systems 1695, 2006.

DE LA FUENTE, L. et al. HTLV infection among young injection and non-injection heroin users in Spain: prevalence and correlates. **J Clin Virol**, v. 35, n. 3, p. 244-9, Mar 2006. ISSN 1386-6532 (Print)
1386-6532 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16143565> >.

DE SOUZA-CRUZ, S. et al. Liver and blood cytokine microenvironment in HCV patients is associated to liver fibrosis score: a proinflammatory cytokine ensemble orchestrated by TNF and tuned by IL-10. **BMC Microbiol**, v. 16, p. 3, Jan 7 2016. ISSN 1471-2180 (Electronic)
1471-2180 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26742960> >.

ESPINDOLA, O. M. et al. Hepatitis C virus and human T-cell lymphotropic virus type 1 co-infection: impact on liver disease, virological markers, and neurological outcomes. **Int J Infect Dis**, v. 57, p. 116-122, Apr 2017. ISSN 1878-3511 (Electronic)
1201-9712 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28185943> >.

HISADA, M. et al. Increased hepatitis C virus load among injection drug users infected with human immunodeficiency virus and human T lymphotropic virus type II. **J Infect Dis**, v. 188, n. 6, p. 891-7, Sep 15 2003. ISSN 0022-1899 (Print)
0022-1899 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12964121> >.

KAMIHIRA, S. et al. Cohort study of hepatotropic virus and human T lymphotropic virus type-I infections in an area endemic for adult T cell leukemia. **Jpn J Med**, v. 30, n. 6, p. 492-7, Nov-Dec 1991. ISSN 0021-5120 (Print)
0021-5120 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1665877> >.

KISHIHARA, Y. et al. Human T lymphotropic virus type 1 infection influences hepatitis C virus clearance. **J Infect Dis**, v. 184, n. 9, p. 1114-9, Nov 1 2001. ISSN 0022-1899 (Print)
0022-1899 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11598833> >.

LE MARCHAND, C. et al. Hepatitis C virus infection and spontaneous clearance in HTLV-1 and HIV co-infected patients in Salvador, Bahia, Brazil. **Braz J Infect Dis**, v. 19, n. 5, p. 486-91, Sep-Oct 2015. ISSN 1678-4391 (Electronic) 1413-8670 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26254690> >.

MEGE, J. L. et al. The two faces of interleukin 10 in human infectious diseases. **Lancet Infect Dis**, v. 6, n. 9, p. 557-69, Sep 2006. ISSN 1473-3099 (Print) 1473-3099 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16931407> >.

MOREIRA, M. et al. Characteristics of co-infections by HCV and HBV among Brazilian patients infected by HIV-1 and/or HTLV-1. **Braz J Infect Dis**, v. 17, n. 6, p. 661-6, Nov-Dec 2013. ISSN 1678-4391 (Electronic) 1413-8670 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24029434> >.

NAKASHIMA, K. et al. Hepatitis C virus infection on Iki Island, Japan, an area endemic for human T-lymphotropic virus type-I. A preliminary study in patients at clinics or hospitals. **Journal of Epidemiology**, v. 4, p. 17-23, 1994.

NELSON, D. R. et al. Interleukin 10 treatment reduces fibrosis in patients with chronic hepatitis C: a pilot trial of interferon nonresponders. **Gastroenterology**, v. 118, n. 4, p. 655-60, Apr 2000. ISSN 0016-5085 (Print) 0016-5085 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10734016> >.

SILVA, M. C. et al. HCV/HTLV coinfection: Does HTLV-1 interfere in the natural history of HCV-related diseases? **J Med Virol**, v. 88, n. 11, p. 1967-72, Nov 2016. ISSN 1096-9071 (Electronic) 0146-6615 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27027482> >.

SIMMONDS, P. et al. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. **Hepatology**, v. 42, n. 4, p. 962-73, Oct 2005. ISSN 0270-9139 (Print) 0270-9139 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16149085> >.

SIMMONDS, P. et al. Evolutionary analysis of variants of hepatitis C virus found in South-East Asia: comparison with classifications based upon sequence similarity. **J Gen Virol**, v. 77 (Pt 12), p. 3013-24, Dec 1996. ISSN 0022-1317 (Print) 0022-1317 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9000092> >.

TEAM, R. C. R: **A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2018.

THIMME, R.; LOHMANN, V.; WEBER, F. A target on the move: innate and adaptive immune escape strategies of hepatitis C virus. **Antiviral Res**, v. 69, n. 3, p. 129-41, Mar 2006. ISSN 0166-3542 (Print) 0166-3542 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16413618> >.

TOKUNAGA, M. et al. Influence of human T-lymphotropic virus type 1 coinfection on the development of hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis C virus infection. **J Gastroenterol**, v. 49, n. 12, p. 1567-77, Dec 2014. ISSN 1435-5922 (Electronic) 0944-1174 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24463696> >.

ZHANG, J. et al. Up-regulation of hepatitis C virus replication by human T cell leukemia virus type I-encoded Tax protein. **Virology**, v. 369, n. 1, p. 198-205, Dec 5 2007. ISSN 0042-6822 (Print)
0042-6822 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17765943> >.

ZUNT, J. R. et al. HTLV-2 infection in injection drug users in King County, Washington. **Scand J Infect Dis**, v. 38, n. 8, p. 654-63, 2006. ISSN 0036-5548 (Print)
0036-5548 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16857611> >.

5. DISCUSSÃO

Na presente tese, foi constituído e avaliado um banco de dados com 602.908 registros únicos, contendo os resultados de sorologias para HTLV, HIV, hepatites B e C de amostras enviadas ao LACEN pelos municípios do estado da Bahia no período de 2004 a 2013. A partir destes registros foi possível determinar a taxa de infecção dos indivíduos portadores de HTLV, HCV e coinfectados HTLV/HCV no estado da Bahia. Com isso, esta Tese contribuiu para prover informações inéditas sobre dados epidemiológicos de indivíduos infectados pelo HTLV, pelo HCV e coinfectados pelos HTLV/HCV na Bahia.

No primeiro estudo (**artigo 1**), demonstramos que a infecção causada pelo vírus linfotrófico de células T humana (HTLV) está disseminada no estado da Bahia com uma taxa global de infecção de 14,4/ 100.000 habitantes. Nós estimamos que cerca de 130 mil pessoas podem estar infectadas com o HTLV no estado. Estudos realizados previamente na população geral de Salvador (DOURADO *et al.*, 2003) e em grupos populacionais específicos, tais como gestantes (BITTENCOURT *et al.*, 2001; MAGALHAES *et al.*, 2008; REGO *et al.*, 2008; MELLO *et al.*, 2014) já haviam identificado a presença da infecção pelo HTLV em algumas cidades do estado. De grande importância foi a identificação de quatro clusters de HTLV-1 na Bahia: na microrregião de Salvador, nas regiões sul, central e oeste da Bahia. Estas regiões apresentam características distintas de natureza econômica, geográfica, climática e de origem étnica. De maneira interessante, os dados obtidos indicam que as microrregiões com as maiores taxas de infecção de HTLV no estado da Bahia foram as áreas onde predominam comunidades reconhecidas como quilombolas. A infecção pelo HTLV tem sido associada a populações com diversidade geográfica, baixa condição econômica, baixa escolaridade e ancestralidade africana (DOURADO *et al.*, 2003; CATALAN-SOARES, CARNEIRO-PROIETTI, *et al.*, 2005; GESSAIN E CASSAR, 2012).

Na presente tese, o HTLV-1 foi predominante, correspondendo a 91,2% dos casos de infecção, seguido pela coinfeção entre HTLV-1/ HTLV-2 (5,4%) e o HTLV-2 (2,9%). Os coeficientes mais altos de coinfeção HTLV-1/2 estavam presentes principalmente em algumas microrregiões identificadas como clusters para a infecção pelo HTLV-1, incluindo Salvador, Barreiras e Porto Seguro. As maiores taxas de infecção pelo HTLV-2 estavam presentes na microrregião de Livramento do Brumado, localizado na região central do estado e na microrregião Juazeiro, localizada no norte. É possível que a coinfeção HTLV-1/2 encontrada neste estudo possa resultar da introdução de usuários de drogas infectados pelo HTLV-2 em áreas nas quais o HTLV-1 já era prevalente.

Nós observamos um aumento progressivo na incidência da infecção pelo HTLV durante todo o período do estudo, principalmente partir de 2009. Isto pode ser devido a ampliação dos serviços de saúde no estado que oferecem a testagem para o HTLV, como os Centro de Testagem e Aconselhamento (CTA). Além disso, a partir de 2011 a infecção pelo HTLV passou a fazer parte da lista de doenças de notificação compulsória do estado da Bahia.

No que diz respeito ao perfil da população infectada pelo HTLV, a média de idade foi de 46 anos com predominância do sexo feminino. A soroprevalência do HTLV-1 aumenta gradualmente com a idade, especialmente em mulheres, em todas as áreas altamente endêmicas (DOURADO *et al.*, 2003; GESSAIN E CASSAR, 2012). Entretanto, no presente estudo uma proporção maior de mulheres infectadas pelo HTLV-1 foi detectada na faixa etária de 31 a 50 anos na maioria das mesorregiões. Isto pode ser devido à natureza não randomizada da amostra, que era jovem (idade mediana de 31 anos) e formada principalmente por mulheres. Curiosamente, nas mesorregiões do Vale de São Francisco e Centro Norte Baiano, a infecção pelo HTLV foi predominantemente encontrada nos homens da faixa etária de 31 a 50 anos. Nestas mesorregiões, a economia é voltada para agricultura, contendo municípios de alta densidade populacional. Além disso, a mesorregião do Centro Norte

Baiano atrai jovens para trabalhar na indústria de mineração. Nesse sentido, teoricamente é possível que a maior prevalência observada em homens dessa faixa etária possa ser devido ao aumento da exposição a drogas ilícitas, bem como ao aumento da incidência de doenças sexualmente transmissíveis, como HIV, gonorreia e sífilis.

No presente estudo, nós especulamos que as prováveis fonte de infecção do HTLV foram as vias de transmissão sexual e vertical, visto que a população do estudo é representada principalmente por mulher com mediana de idade de 31 anos e em todas as mesorregiões há um número significativo de mulheres infectadas na faixa etária de 31 a 50 anos. O aumento da atividade sexual é mais comum nesta faixa etária e tem sido relatado que a transmissão sexual do HTLV é mais eficiente do homem para mulher (MURPHY *et al.*, 1989). Em Salvador, a via sexual tem sido considerada prioritária para transmissão do vírus (DOURADO *et al.*, 2003; NUNES *et al.*, 2017). Além disso, nós identificamos quarenta e dois indivíduos com idade inferior a 14 anos infectados pelo HTLV, sendo três destes, menores de dois anos. A transmissão do HTLV de mãe para filho, principalmente pelo aleitamento materno constitui uma importante fonte de infecção do HTLV (BITTENCOURT *et al.*, 2001).

Avaliando a distribuição da infecção pelo HCV no estado (**artigo 2**), nós pudemos observar as áreas de maior frequência da infecção, bem como sexo e idade dos indivíduos. Foi possível igualmente descrever os genótipos do HCV. Nós encontramos que a taxa de infecção estimada para o HCV no estado da Bahia foi de 1,3% que corresponde a 21,2 casos/100.00 habitantes. Este resultado corrobora com a prevalência de 1,38% do HCV estimada previamente para o Brasil (PEREIRA *et al.*, 2013), assim como se assemelha a prevalência do 1,5% do HCV estimada na população geral de Salvador (ZARIFE, SILVA, *et al.*, 2006). A infecção do HCV foi encontrada em trinta e uma microrregiões localizadas nas sete mesorregiões da Bahia. As microrregiões com as maiores taxas de infecção pelo HCV foram Ilhéus-Itabuna, Feira de Santana, Porto Seguro, Salvador, Jacobina e Senhor do Bonfim, que

se caracterizam como grandes polos econômicos do estado pela grande circulação de pessoas para fins comerciais e turísticos.

Nós identificamos 3.230 casos de infecção pelo HCV em 52,2% municípios do estado, durante os dez anos analisados no estudo. Neste mesmo período, o SINAN recebeu a notificação de 2.739 casos de HCV na Bahia, provenientes de 140 municípios (Fonte: Ministério da Saúde/SVS - Sistema de Informação de Agravos de Notificação - Sinan Net), fato que indica uma subnotificação do número de casos de infecção pelo HCV. Os indivíduos mais acometidos pela hepatite C foram os homens com idade superior a 55 anos. Em outros estudos realizados nas demais regiões do Brasil e na Bahia este perfil também foi relatado (FOCACCIA *et al.*, 1998; ZARIFE, SILVA, *et al.*, 2006; NASCIMENTO *et al.*, 2008; PEREIRA *et al.*, 2013). Além disso, o diagnóstico laboratorial do HCV passou a ser realizado a partir de 1989 e somente em 1993 a testagem de doadores de sangue tornou-se obrigatória através do Decreto nº. 1376 do Ministério da Saúde, por isso a hepatite C é mais frequente em adultos de média idade. Nós não tivemos informações sobre a fonte de aquisição da infecção pelo HCV, mas a transmissão da hepatite C tem sido associada à transfusão de sangue e derivados e ao uso de drogas injetáveis (ALTER *et al.*, 1999; PEREIRA *et al.*, 2013).

Em relação aos genótipos circulantes do HCV na Bahia, o presente estudo detectou a presença dos genótipos 1, 2, 3, 4 e 5. Os genótipos mais prevalentes foram o 1 e seus subtipos (76,7%) seguido dos genótipos 3a (13,0%) e 3 (7,1%). Nossos resultados são semelhantes aos descritos em outros estudos realizados no Brasil (SILVA *et al.*, 2000), (SILVA *et al.*, 2010) (GUIMARAES *et al.*, 2018) e no mundo (MESSINA *et al.*, 2015). Enquanto o genótipo 1 é mais frequente em todas as regiões geográficas do Brasil, o genótipo 2 é mais frequente na região Centro Oeste e o 3 na região Sul (CAMPIOTTO *et al.*, 2005). Os genótipos 4 e 5 são mais raros, porém há registros de infecção pelo genótipo 4 em São Paulo e em Salvador (BASSIT *et al.*, 1999; ZARIFE, DE OLIVEIRA, *et al.*, 2006). No presente estudo, nós

identificamos a circulação do genótipo 5 na Bahia, que anteriormente havia sido descrito somente em São Paulo (LEVI *et al.*, 2002).

A coinfeção entre HTLV e HCV tem sido relatada com maior frequência nas áreas endêmicas para o HTLV e HCV (NAKASHIMA *et al.*, 1995), bem como em usuários de drogas (MORIMOTO *et al.*, 2005; ZUNT *et al.*, 2006; MILAGRES *et al.*, 2009), devido a similaridade das vias de transmissão de ambos os vírus. No presente estudo nós identificamos que tanto a infecção pelo HTLV (**artigo 1**) quanto pelo HCV (**artigo 2**) estão disseminadas no estado da Bahia, podendo haver áreas de circulação de ambos os vírus. Avaliando um subgrupo de cerca de 120,000 indivíduos que realizaram as sorologias para HTLV e HCV em algum momento do período do estudo (**artigo 3**), nós identificamos que 14,2% dos indivíduos infectados por HTLV na Bahia estão coinfectados pelo HCV. Esta prevalência foi superior a prevalência de 5,3% estimada para a cidade de São Paulo (CATERINO-DE-ARAÚJO *et al.*, 2018), que concentra a metade dos indivíduos em tratamento para a hepatite C no Brasil (BRASIL, 2018). Nós identificamos que os casos de coinfeção HTLV/HCV estão concentrados em três *clusters*: microrregiões de Salvador, Ilhéus-Itabuna e Porto Seguro, apesar do HTLV e HCV terem sido identificados na maioria das microrregiões do estado. Estas microrregiões são igualmente áreas com grande número de casos de infecção pelo HTLV (**artigo1**).

Neste presente estudo, os indivíduos infectados com o HTLV-2 apresentaram uma maior frequência de coinfeção com o HCV. A infecção pelo HTLV-2 é relatada principalmente entre usuários de drogas injetáveis em áreas urbanas (CATALAN-SOARES, CARNEIRO-PROIETTI, *et al.*, 2005) e na população indígena no norte do Brasil (CARNEIRO-PROIETTI *et al.*, 2002). Na Bahia, o HTLV-2 foi encontrado em áreas com alta prevalência de HTLV-1, assim como em coinfeção HTLV-1/2 (**artigo 1**), indicando que os usuários de drogas talvez seja a principal população infectada.

No presente estudo, nós identificamos que os indivíduos com idade acima de 50 anos são os mais acometidos com a coinfeção HTLV/HCV. Ambas as infecções causadas pelo HTLV e pelo HCV têm curso assintomático e são diagnosticadas tardiamente, em estágio avançado das doenças associadas a estes vírus. Estudos realizados previamente têm relatado a coinfeção em indivíduos nesta mesma faixa de idade encontrada neste estudo (MILAGRES *et al.*, 2009; MOREIRA *et al.*, 2013; CATERINO-DE-ARAUJO *et al.*, 2018).

Em suma, nós encontramos que as infecções causadas pelo HTLV e HCV isoladamente estão presentes em todo o estado da Bahia, (**artigos 1 e 2**), havendo sobreposição destes vírus em algumas microrregiões (**artigo 3**). No entanto, a coinfeção foi identificada apenas em alguns municípios, sendo que o maior número de casos da coinfeção HTLV/HCV estão concentrados em três microrregiões, que têm como similaridade, a localização as margens do litoral da Bahia e a atividade econômica voltada para o comércio e o turismo. O fato de que a maior parte dos indivíduos infectados com HTLV-2 estarem infectados com o HCV pode significar que provavelmente estes indivíduos são usuários de drogas (**artigo 3**). Não foi possível fazer esta associação neste presente estudo por falta de informação da fonte de infecção do HTLV e do HCV. Assim como, não foi possível identificarmos a taxa de infecção do HTLV nas gestantes (**artigo 1**). Os dados aqui obtidos nesta Tese comprovaram a nossa hipótese de que ambas as infecções causadas pelo HTLV e HCV estão disseminadas pelo estado da Bahia. No entanto, a coinfeção entre HTLV/HCV não está disseminada e sim restrita a três *clusters*. Os resultados deste presente estudo, fornecem subsídios para implementação das ações de saúde no estado da Bahia, no que tange a prevenção das infecções causadas pelos HTLV e HCV, principalmente para evitar que a coinfeção HTLV/HCV torne-se disseminada na Bahia, bem como políticas públicas voltadas para a assistência das populações nas áreas identificadas como focos de HTLV e HCV sejam implementadas.

Este presente estudo foi realizado devido a colaboração de um grupo de pesquisadores que na diversidade dos seus conhecimentos contribuíram para avaliar um grande número de amostras (cerca de mais de 240.000 indivíduos avaliados para cada tipo de vírus, HTLV e HCV, em um período de 10 anos), utilizando ferramentas de informática para tratar **Big Data**. Com a análise deste banco, foi possível avaliar duas importantes doenças infecciosas no estado da Bahia, ambas de interesse para a saúde pública, sendo uma delas negligenciada. O banco em questão foi obtido no Laboratório Central de Saúde Pública do estado da Bahia (LACEN), uma unidade de vigilância laboratorial, que compreende um conjunto de ações que propiciam o conhecimento e investigação diagnóstica de agravos e verificação da qualidade de produtos de interesse de saúde pública. De fato, o LACEN constitui uma fonte de dados perene, o que é oportuno para o desenvolvimento de outros estudos desta natureza, por realizar análises de amostras relacionadas aos riscos epidemiológicos, sanitários, ambientais e da saúde do trabalhador.

Nós encontramos como fator limitante no banco de dados utilizado nesta pesquisa a falta de completude e padronização dos dados sócio demográficos no cadastro das amostras recebidas, bem como o cadastro dos exames dos indivíduos atendidos no LACEN de forma presencial. Os dados perdidos não comprometeram as análises do banco. No entanto, informações básicas, tais como idade, sexo, e município de residência são essenciais para as análises epidemiológicas. Esta informação é de fundamental importância e fornece subsídios para o LACEN qualificar a sua equipe que realiza esta atividade e padronizar a rotina de cadastramento, a fim de obter cadastros mais robustos.

Além de estabelecer as prevalências e distribuição dos casos de HTLV, HCV e da coinfeção HTLV/HCV no estado da Bahia, nós avaliamos pela primeira vez uma rede de interações entre as citocinas, INF- γ , TNF- α , IL-1, IL-8 e IL 10, associadas com a resposta imune dos indivíduos às infecções causadas pelo HTLV e HCV (**artigo 4**). Os principais

achados demonstram que os níveis de citocinas entre os grupos HTLV / HCV e HCV são semelhantes, porém menores que os controles não infectados. Resultados semelhantes foram descritos em outros estudos indicando que não há diferenças nos níveis de citocinas na presença de HTLV (ABAD-FERNANDEZ *et al.*, 2015; SILVA *et al.*, 2016). Nós observamos uma maior tendência na produção de IFN- γ no grupo HTLV / HCV maior do que no grupo infectado pelo HCV. De fato, a infecção pelo HTLV-1 está fortemente associada à maior produção de citocinas inflamatórias, principalmente a INF- γ (CARVALHO *et al.*, 2001).

A avaliação da rede de citocinas mostrou que indivíduos coinfectados pelo HTLV / HCV apresentaram perfil semelhante ao dos controles não infectados, apresentando associação positiva entre os pares IL-1 e IL8. Em contraste, no grupo infectado com HCV, houve uma correlação positiva entre os pares IL-8 / IL-10 e INF- γ / IL-10. Foi relatado que o nível de IL-8 está inversamente correlacionado com a atividade da doença hepática, já que uma redução nos níveis de IL8 sugere um tratamento antiviral eficaz (ALHETHEEL *et al.*, 2016).

No presente estudo, nós não encontramos diferença estatisticamente significativa, entre os grupos avaliados para os níveis de carga viral, embora 26% dos indivíduos tiveram carga viral indetectável no grupo de coinfectado pelo HTLV / HCV, enquanto essa proporção foi de apenas 7,4 no grupo de monoinfectados com o HCV. Além disso, no grupo monoinfectados pelo HCV, houve uma proporção maior de não respondedores ao tratamento com alta atividade inflamatória hepática e fibrose hepática avançada. No Brasil, alguns estudos sugeriram que a coinfecção pelo HTLV pode ter um efeito positivo na depuração espontânea do HCV (ALVES *et al.*, 2018). que ocorre igualmente em pacientes triplamente infectados pelo HTLV, HCV e HIV-1 (BAHIA *et al.*, 2011; MOREIRA *et al.*, 2013; LE MARCHAND *et al.*, 2015).

Do mesmo modo, no presente estudo, não houve diferença estatisticamente significativa para os níveis de plaquetas e percentual tempo de protrombina entre os grupos coinfectados com HTLV/HCV e mono infectados com HCV. O genótipo 1 foi o mais frequente em ambos os grupos de mono infectados com HCV e coinfectados pelo HTLV/HCV. Similar resultado foi observado em outros estudos realizados em Salvador e no Rio de Janeiro, (SILVA *et al.*, 2016; ESPINDOLA *et al.*, 2017). No presente estudo, não tivemos informações sobre os níveis, das enzimas hepáticas alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e gama glutamil transferase (GGT). Além disso, o reduzido número de dados clínicos foram fatores limitantes para as análises, assim como um grupo de pacientes infectados apenas pelo HTLV para fins de comparação não foi incluído, e o impacto do HCV na infecção pelo HTLV não pôde ser avaliado.

Esta tese apresentou algumas limitações, entre elas a amostra não randomizada e representada principalmente por mulheres. No entanto, nosso banco de dados avaliou mais de 600.000 amostras provenientes de 395 dos 417 (94,7%) dos municípios do estado da Bahia. Apesar da amostra ser representada por mulheres, os casos de infecção pelo HCV e coinfeção HTLV/HCV foram mais frequentes em homens, de acordo com os outros estudos realizados previamente no Brasil (NASCIMENTO *et al.*, 2008; MOREIRA *et al.*, 2013; PEREIRA *et al.*, 2013; CATERINO-DE-ARAUJO *et al.*, 2018). Além disso, com o banco de dados constituído foi possível estimar as prevalências do HTLV, HCV e da coinfeção entre HTLV/HCV no estado da Bahia, o que até então não havia sido feito em realizado em outros estudos. De certo, os estudos de base populacional são considerados como padrão-ouro para estimar prevalências, porém o alto custo e dificuldades metodológicas podem apresentar desafios significativos (HLELA *et al.*, 2009). No Brasil, há registro de poucos estudos de base populacional tanto para o HTLV quanto para o HCV (FOCACCIA *et al.*, 1998; DOURADO *et al.*, 2003; ZARIFE, SILVA, *et al.*, 2006) e as prevalências para estas infecções são

comumente estimadas em grupos populacionais específicos como doadores de sangue, gestantes, usuários de drogas, hemofílicos, homens que fazem sexo com homens entre outros já citados anteriormente nesta Tese.

Os resultados obtidos no presente estudo são de grande relevância, principalmente no âmbito da saúde pública. Nós identificamos que as infecções causadas pelo HTLV e HCV não estão restritas a cidade de Salvador, capital do estado. O fato do HCV estar *interiorizado* pode significar, além de um problema de saúde pública, um outro problema de ordem social, visto que o principal fator de risco para aquisição da infecção pelo HCV é o uso de drogas injetáveis (PEREIRA *et al.*, 2013). Destaca-se também, que pela primeira vez foi realizado um estudo voltado para os aspectos epidemiológicos da coinfeção HTLV/HCV na Bahia. Nós identificamos que a coinfeção HTLV/HCV está localizada principalmente em três clusters (Salvador, Ilhéus-Itabuna e Porto Seguro) que foram identificados neste presente estudo como foco do HTLV (**artigo 1**).

Por fim, nós temos como perspectivas avaliar os indivíduos que realizaram a sorologia para HIV, HBV no mesmo período do presente estudo, 2004 a 2013, bem como analisar a coinfeção entre HTLV/HIV e HTLV/HBV sobre o aspecto epidemiológico como foi realizado nesta Tese para a coinfeção HTLV/HCV.

REFERENCIAS

- ABAD-FERNANDEZ, M. *et al.* Delayed liver fibrosis in HTLV-2-infected patients co-infected with HIV-1 and hepatitis C virus with suppressive antiretroviral therapy. **AIDS**, v. 29, n. 4, p. 401-409, feb. 20 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25565497>.
- ABOU-SETTA, A. M. Transmission risk of hepatitis C virus via semen during assisted reproduction: how real is it? **Hum. Reprod.**, v. 19, n. 12, p. 2711-2717, dec. 2004. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15489242>.
- ABRAHAO, M. H. *et al.* Short communication: human lymphotropic virus type 1 coinfection modulates the synthesis of cytokines by peripheral blood mononuclear cells from HIV type 1-infected individuals. **AIDS Res. Hum. Retroviruses**, v. 28, n. 8, p. 806-808, aug. 2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22050450>.
- ALBERTI, A.; CHEMELLO, L.; BENVENIGNU, L. Natural history of hepatitis C. **J. Hepatol.**, v. 31 Suppl 1, p. 17-24, 1999. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10622555>.
- ALCANTARA, L. C., JR. *et al.* Globin haplotypes of human T-cell lymphotropic virus type I-infected individuals in Salvador, Bahia, Brazil, suggest a post-Columbian African origin of this virus. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr.**, v. 33, n. 4, p. 536-542, aug. 1 2003. I Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12869844>.
- ALHETHEEL, A. *et al.* Assessment of pro-inflammatory cytokines in sera of patients with hepatitis C virus infection before and after anti-viral therapy. **J. Infect. Dev. Ctries**, v. 10, n. 10, p. 1093-1098, oct. 31 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27801372>.
- ALTER, H. To C or Not To C: These Are the Questions. **Blood**, v. 85, p. 1681-1695, 1995.
- ALTER, H. J. New kit on the block: evaluation of second-generation assays for detection of antibody to the hepatitis C virus. **Hepatology**, v. 15, n. 2, p. 350-353, feb. 1992. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1310478>.
- ALTER, H. J. *et al.* Detection of antibody to hepatitis C virus in prospectively followed transfusion recipients with acute and chronic non-A, non-B hepatitis. **New Engl. J. Med.**, v. 321, n. 22, p. 1494-1500, nov 30. 1989. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2509915>.
- ALTER, M. Epidemiology of hepatitis C virus infection. **World J. Gastroenterol.**, v. 13, n. 1007-9327, p. 2436-2441, 2007.
- ALTER, M. J. Prevention of spread of hepatitis C. **Hepatology**, v. 36, n. 5 Suppl 1, p. S93-98, nov 2002. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12407581>.
- ALTER, M. J. Epidemiology of viral hepatitis and HIV co-infection. **J. Hepatol.**, v. 44, n. 1 Suppl, p. S6-9, 2006. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16352363>.

ALTER, M. J. *et al.* The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1988 through 1994. **New Engl. J. Med.**, v. 341, n. 8, p. 556-652, aug. 19 1999. I
Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10451460>.

ALTER, M. J. *et al.* Hepatitis C. **Infect. Dis. Clin. North Am.**, v. 12, n. 1, p. 13-26, mar. 1998. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9494826> .

ALVES, F. A. *et al.* Hepatitis C viral load in HCV-monoinfected and HCV/HIV-1-, HCV/HTLV-1/-2-, and HCV/HIV/HTLV-1/-2-co-infected patients from Sao Paulo, Brazil. **Braz. J. Infect. Dis.**, v. 22, n. 2, p. 123-128, mar - apr. 2018.
Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29625021>.

AMORIM, R. M. *et al.* Hepatitis C virus genotypes in blood donors from the Federal District, Central Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 99, n. 8, p. 895-897, dec. 2004.
Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15761609>.

AMORIM, R. M. *et al.* Hepatitis C virus genotypes in hemodialysis patients in the Federal District, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 52, n. 1, p. 57-60, jan-feb. 2010.
Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20305957>.

AROUCHA, D. C. *et al.* High tumor necrosis factor-alpha/interleukin-10 ratio is associated with hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C. **Cytokine**, v. 62, n. 3, p. 421-425, jun. 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23602201>.

ASSONE, T. *et al.* In vitro basal T-cell proliferation among asymptomatic Human T cell Leukemia Virus type 1 patients co-infected with hepatitis C and/or Human Immunodeficiency Virus type 1. **Braz. J. Infect. Dis.**, v. 22, n. 2, p. 106-112, mar - apr. 2018.
Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29499169>.

ASSONE, T. *et al.* Genetic Markers of the Host in Persons Living with HTLV-1, HIV and HCV Infections. **Viruses**, v. 8, n. 2, feb. 3 2016. Disponível em:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26848682>.

BAHIA, F. *et al.* The impact of human T-cell lymphotropic virus I infection on clinical and immunologic outcomes in patients coinfecting with HIV and hepatitis C virus. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr.**, v. 57 Suppl 3, p. S202-207, aug. 2011. Disponível em:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21857319>.

BANGHAM, C. R. The immune control and cell-to-cell spread of human T-lymphotropic virus type 1. **J. Gen. Virol.**, v. 84, n. Pt 12, p. 3177-3189, dec. 2003. I
Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14645900>.

BARROS, M. M. O.; RONCHINI, K.; SOARES, R. L. S. Hepatitis B and C in Pregnant Women Attended by a Prenatal Program in an University Hospital in Rio De Janeiro, Brazil: Retrospective Study of Seroprevalence Screening. **Arq. Gastroenterol.**, v. 55, n. 3, p. 267-273, jul-sep. 2018. Disponível em:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30540090>.

BASSIT, L. *et al.* Genotype distributions of hepatitis C virus in Sao Paulo, Brazil: rare subtype found. **Hepatology**, v. 29, n. 3, p. 994-5, mar. 1999.

Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10189232>.

BASTOS, F. I. *et al.* HIV, HCV, HBV, and syphilis among transgender women from Brazil: Assessing different methods to adjust infection rates of a hard-to-reach, sparse population.

Medicine (Baltimore), v. 97, n. 1S Suppl 1, p. S16-S24, may. 2018. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29794601>.

BEDOSSA, P.; POYNARD, T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group. **Hepatology**, v. 24, n. 2, p. 289-293, aug. 1996.

Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8690394>.

BELD, M. *et al.* Detection and quantitation of hepatitis C virus RNA in feces of chronically infected individuals. **J. Clin. Microbiol.**, v. 38, n. 9, p. 3442-3444, sep. 2000.

Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10970398>.

BELEC, L. *et al.* Cell-associated, non-replicating strand(+) hepatitis C virus-RNA shedding in cervicovaginal secretions from chronically HCV-infected women. **J. Clin. Virol.**, v. 27, n. 3, p. 247-251, aug. 2003. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12878088>.

BERINI, C. A. *et al.* HTLV-1/2 among high-risk groups in Argentina: molecular diagnosis and prevalence of different sexual transmitted infections. **J. Med. Virol.**, v. 79, n. 12, p.

1914-1920, dec. 2007. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17935172>.

BESSA, M. *et al.* Limited evidence of HCV transmission in stable heterosexual couples from Bahia, Brazil. **Braz. J. Infect. Dis.**, v. 13, n. 4, p. 262-265, aug. 2009.

Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20231987>.

BITTENCOURT, A. L. *et al.* Human T-cell lymphotropic virus type 1 infection among pregnant women in northeastern Brazil. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr.**, v. 26, n. 5, p.

490-494, apr. 15 2001. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11391171>

BOA-SORTE, N. *et al.* Dried blood spot testing for the antenatal screening of HTLV, HIV, syphilis, toxoplasmosis and hepatitis B and C: prevalence, accuracy and operational aspects.

Braz. J. Infect. Dis., v. 18, n. 6, p. 618-624, nov-dec 2014.

Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25022566>.

BOSCHI-PINTO, C. *et al.* A follow-up study of morbidity and mortality associated with hepatitis C virus infection and its interaction with human T lymphotropic virus type I in Miyazaki, Japan. **J. Infect. Dis.**, v. 181, n. 1, p. 35-41, jan. 2000. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10608748>.

BRASIL, M. D. S. **Hepatites virais**. SAÚDE, M. D. Brasília: Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico - 49 2018.

- BRITES, C. *et al.* Infection by HTLV-1 Is Associated With High Levels of Proinflammatory Cytokines in HIV-HCV-Coinfected Patients. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr.**, v. 77, n. 2, p. 230-234, feb. 1 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29084047>.
- BRITES, C. *et al.* Severe and Norwegian scabies are strongly associated with retroviral (HIV-1/HTLV-1) infection in Bahia, Brazil. **AIDS**, v. 16, n. 9, p. 1292-1293, jun 14. 2002. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12045498>.
- BRITTO, A. P. *et al.* HTLV-I/II infection in the state of Bahia. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 31, n. 1, p. 35-41, jan-feb. 1998. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9477696>.
- CALATTINI, S. *et al.* Discovery of a new human T-cell lymphotropic virus (HTLV-3) in Central Africa. **Retrovirology**, v. 2, p. 30, may 9. 2005. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15882466>.
- CAMPIOTTO, S. *et al.* Geographic distribution of hepatitis C virus genotypes in Brazil. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 38, n. 1, p. 41-49, jan. 2005. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15665987>.
- CARDOSO, D. F. *et al.* Influence of human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) Infection on laboratory parameters of patients with chronic hepatitis C virus. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 51, n. 6, p. 325-329, oct-dec. 2009. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20209267>.
- CARNEIRO-PROIETTI, A. B. *et al.* Infection and disease caused by the human T cell lymphotropic viruses type I and II in Brazil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 35, n. 5, p. 499-508, sep-oct. 2002. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12621671>.
- CARVALHO, E. M. *et al.* Cytokine profile and immunomodulation in asymptomatic human T-lymphotropic virus type 1-infected blood donors. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr.**, v. 27, n. 1, p. 1-6, may 1. 2001. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11404513>.
- CASKEY, M. F. *et al.* Clinical manifestations associated with HTLV type I infection: a cross-sectional study. **AIDS Res. Hum. Retrov.**, v. 23, n. 3, p. 365-731, mar. 2007. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17411369>.
- CASSEB, J. Possible mechanism for positive interaction of human T cell leukemia type I on liver disease in a hepatitis C virus-infected Japanese cohort. **J. Infect. Dis.**, v. 182, n. 1, p. 379-380, jul. 2000. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10882633>.
- CASTELO, R.; ROVERATO, A. A robust procedure for Gaussian graphical model search from microarray data with p larger than n. **J. Mach. Learn Res.**, v. 7, p. 2621-2650, 2006.
- CASTRO, E.; ROGER, E. Hepatitis C virus/human T lymphotropic virus 1/2 co-infection: Regional burden and virological outcomes in people who inject drugs. **World J. Virol.**, v. 5, n. 2, p. 68-72, may. 12 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27175351>.

CASTRO-LIMA VARGENS, C. *et al.* Keratoconjunctivitis sicca of human T cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) infected individuals is associated with high levels of HTLV-1 proviral load. **J. Clin. Virol.**, v. 52, n. 3, p. 177-1780, nov. 2011. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21868282>.

CATALAN-SOARES, B. *et al.* HTLV-2 horizontal and vertical transmission in a family from a Brazilian urban area: seroepidemiological, clinical and molecular study. **AIDS Res. Hum. Retrov.**, v. 21, n. 6, p. 521-526, jun .2005. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15989456>.

CATALAN-SOARES, B. *et al.* Heterogeneous geographic distribution of human T-cell lymphotropic viruses I and II (HTLV-I/II): serological screening prevalence rates in blood donors from large urban areas in Brazil. **Cad. Saude Publ.**, v. 21, n. 3, p. 926-391, may-jun. 2005. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15868051>.

CATALAN-SOARES, B. *et al.* HIV-1, HBV, HCV, HTLV, HPV-16/18, and Treponema pallidum infections in a sample of Brazilian men who have sex with men. **PLoS One**, v. 9, n. 8, p. e102676, 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25083768>.

CATERINO-DE-ARAÚJO, A. *et al.* Making the invisible visible: searching for human T-cell lymphotropic virus types 1 and 2 (HTLV-1 and HTLV-2) in Brazilian patients with viral hepatitis B and C. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 113, n. 2, p. 130-134, feb. 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29236927>.

CATERINO-DE-ARAÚJO, A. *et al.* Inability to detect human T cell lymphotropic virus type 2-specific antibodies in a patient coinfecting with HIV-1, human T cell lymphotropic virus type 1, human T cell lymphotropic virus type 2, and hepatitis C virus. **AIDS Res. Hum. Retrov.**, v. 30, n. 1, p. 97-101, jan .2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23875602>.

CATERINO-DE-ARAÚJO, A. *et al.* Short Communication: Current Prevalence and Risk Factors Associated with Human T Lymphotropic Virus Type 1 and Human T Lymphotropic Virus Type 2 Infections Among HIV/AIDS Patients in Sao Paulo, Brazil. **AIDS Res. Hum. Retrov.**, v. 31, n. 5, p. 543-549, may. 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25464979>.

CHANG, Y. B. *et al.* Seroprevalence and demographic determinants of human T-lymphotropic virus type 1 and 2 infections among first-time blood donors--United States, 2000-2009. **J. Infect. Dis.**, v. 209, n. 4, p. 523-531, feb. 15 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24068702>.

CHOO, Q. L. *et al.* Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. **Science**, v. 244, n. 4902, p. 359-362, apr. 21 1989. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2523562>.

CONTRERAS, A. M. Anticuerpo a hepatitis C: ¿verdadero o falso positivo? Nuevas estrategias de diagnóstico. **Rev. Investig. Clin.**, v. 58, n. 2, p. 153-160, 2006.

COOK, L. B. *et al.* HTLV-1: persistence and pathogenesis. **Virology**, v. 435, n. 1, p. 131-410, jan 5 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23217623>.

COOK, L. B.; TAYLOR, G. P. HTLV-1 and HTLV-2 prevalence in the United States. **J. Infect. Dis.**, v. 209, n. 4, p. 486-487, feb. 15 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24154735>.

CORDEIRO, V. M. *et al.* Decline in hepatitis B and C prevalence among hemodialysis patients in Tocantins, Northern Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 60, p. e36, jul. 30 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30066804>.

CSARDI, G.; NEPUSZ, T. The igraph software package for complex network research. **InterJournal**, v. Complex Systems 1695, 2006.

CURRER, R. *et al.* HTLV tax: a fascinating multifunctional co-regulator of viral and cellular pathways. **Front. Microbiol.**, v. 3, p. 406, 2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23226145>.

CY, H. *et al.* Familial transmission of human T-lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) in patients with adult T-cell leukemia/lymphoma or HTLV-1- associated myelopathy. **J. Formos Med. Assoc.**, v. 97, n. 2, p. 101-105, 1998.

DA SILVA BRITO, V. *et al.* Performance of Commercially Available Serological Screening Tests for Human T-Cell Lymphotropic Virus Infection in Brazil. **J. Clin. Microbiol.**, v. 56, n. 12, dec. 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30232131>.

DE CASTRO ROCHA, D. F. N. *et al.* Epidemiology of HIV, syphilis, and hepatitis B and C among manual cane cutters in low-income regions of Brazil. **BMC Infect. Dis.**, v. 18, n. 1, p. 546, nov 3. 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30390628>.

DE LA FUENTE, L. *et al.* HTLV infection among young injection and non-injection heroin users in Spain: prevalence and correlates. **J. Clin. Virol.**, v. 35, n. 3, p. 244-249, mar. 2006. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16143565>.

DE SOUZA-CRUZ, S. *et al.* Liver and blood cytokine microenvironment in HCV patients is associated to liver fibrosis score: a proinflammatory cytokine ensemble orchestrated by TNF and tuned by IL-10. **BMC Microbiol.**, v. 16, p. 3, jan 7. 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26742960>.

DEHEE, A. *et al.* Quantitation of HTLV-I proviral load by a TaqMan real-time PCR assay. **J. Virol. Meth.**, v. 102, n. 1-2, p. 37-51, apr. 2002. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11879691>.

DELAMARRE, L. *et al.* The HTLV-I envelope glycoproteins: structure and functions. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Human Retrovirol.**, v. 13 Suppl 1, p. S85-91, 1996. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8797709>.

DOURADO, I. *et al.* HTLV-I in the general population of Salvador, Brazil: a city with African ethnic and sociodemographic characteristics. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr.**, v. 34, n. 5, p. 527-531, dec 15. 2003. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14657765>.

DOURADO, I.; ANDRADE, T.; GALVAO-CASTRO, B. HTLV-I in Northeast Brazil: differences for male and female injecting drug users. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Human Retrovirol.**, v. 19, n. 4, p. 426-429, dec 1. 1998. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9833754>.

DUFOUR, D. R. *et al.* Chemiluminescence assay improves specificity of hepatitis C antibody detection. **Clin. Chem.**, v. 49, n. 6 Pt 1, p. 940-944, jun. 2003. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12765991>.

ESPINDOLA, O. M. *et al.* Hepatitis C virus and human T-cell lymphotropic virus type 1 co-infection: impact on liver disease, virological markers, and neurological outcomes. **Int. J. Infect. Dis.**, v. 57, p. 116-122, apr. 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28185943>.

ETOH, K. *et al.* Persistent clonal proliferation of human T-lymphotropic virus type I-infected cells in vivo. **Cancer Res.**, v. 57, n. 21, p. 4862-4867, nov 1. 1997. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9354450>.

FAN, N. *et al.* Infection of peripheral blood mononuclear cells and cell lines by cell-free human T-cell lymphoma/leukemia virus type I. **J. Clin. Microbiol.**, v. 30, n. 4, p. 905-910, apr. 1992. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1572977>.

FARCI, P. *et al.* Lack of protective immunity against reinfection with hepatitis C virus. **Science**, v. 258, n. 5079, p. 135-140, oct 2. 1992. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1279801>.

FARCI, P. *et al.* Hepatitis C virus-associated fulminant hepatic failure. **New Engl. J. Med.**, v. 335, n. 9, p. 631-634, aug 29. 1996. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8687517>.

FERREIRA-JUNIOR, O. D. C. *et al.* Prevalence estimates of HIV, syphilis, hepatitis B and C among female sex workers (FSW) in Brazil, 2016. **Medicine (Baltimore)**, v. 97, n. 1S Suppl 1, p. S3-S8, may. 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29912817>.

FOCACCIA, R. *et al.* Estimated prevalence of viral hepatitis in the general population of the municipality of Sao Paulo, measured by a serologic survey of a stratified, randomized and residence-based population. **Braz. J. Infect. Dis.**, v. 2, n. 6, p. 269-284, dec. 1998. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11103019>.

GALVAO-CASTRO, B. *et al.* Distribution of human T-lymphotropic virus type I among blood donors: a nationwide Brazilian study. **Transfusion**, v. 37, n. 2, p. 242-243, feb. 1997. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9051104>.

GAUDRAY, G. *et al.* The complementary strand of the human T-cell leukemia virus type 1 RNA genome encodes a bZIP transcription factor that down-regulates viral transcription. **J. Virol.**, v. 76, n. 24, p. 12813-12822, dec 2002. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12438606>.

GESSAIN, A. *et al.* Antibodies to human T-lymphotropic virus type-I in patients with tropical spastic paraparesis. **Lancet**, v. 2, n. 8452, p. 407-410, aug 24 1985. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2863442>.

GESSAIN, A.; CASSAR, O. Epidemiological Aspects and World Distribution of HTLV-1 Infection. **Front. Microbiol.**, v. 3, p. 388, 2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23162541>.

GESSAIN, A. *et al.* HTLV-3/4 and simian foamy retroviruses in humans: discovery, epidemiology, cross-species transmission and molecular virology. **Virology**, v. 435, n. 1, p. 187-199, jan 5 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23217627>.

GHEZ, D. *et al.* Neuropilin-1 is involved in human T-cell lymphotropic virus type 1 entry. **J. Virol.**, v. 80, n. 14, p. 6844-6854, jul 2006. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16809290>.

GOWER, E. *et al.* Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. **J. Hepatol.**, v. 61, n. 1 Suppl, p. S45-57, nov 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25086286>.

GRASSI, M. F. *et al.* Tuberculosis incidence in a cohort of individuals infected with human T-lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) in Salvador, Brazil. **BMC Infect. Dis.**, v. 16, p. 491, Sep 19 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27643609>.

GRETCH, D. R. Diagnostic tests for hepatitis C. **Hepatology**, v. 26, n. 3 Suppl 1, p. 43S-47S, sep 1997. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9305663>.

GUIMARAES, V. S. *et al.* Prevalence of hepatitis C virus genotypes in the State of Para, Brazil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 51, n. 4, p. 508-512, jul-aug 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30133635>.

HALL, W. W. *et al.* Human T lymphotropic virus type II (HTLV-II): epidemiology, molecular properties, and clinical features of infection. **J. Acquir. Immune Defic. Synd. Hum. Retrovirol.**, v. 13 Suppl 1, p. S204-214, 1996. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8797725>.

HINUMA, Y. *et al.* Adult T-cell leukemia: antigen in an ATL cell line and detection of antibodies to the antigen in human sera. **Proc. Nat. Acad. Scien.**, v. 78, n. 10, p. 6476-6480, 1981.

HISADA, M. *et al.* Increased hepatitis C virus load among injection drug users infected with human immunodeficiency virus and human T lymphotropic virus type II. **J. Infect. Dis.**, v. 188, n. 6, p. 891-897, sep 15 2003. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12964121>.

HJELLE, B. *et al.* Human T-cell leukemia virus type II infection frequently goes undetected in contemporary US blood donors. **Blood**, v. 81, n. 6, p. 1641-1644, mar 15 1993. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8453109>.

HLELA, C. *et al.* The prevalence of human T-cell lymphotropic virus type 1 in the general population is unknown. **AIDS Rev.**, v. 11, n. 4, p. 205-214, oct-dec 2009. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19940947>.

HONARBAKHS, S.; TAYLOR, G. P. High prevalence of bronchiectasis is linked to HTLV-1-associated inflammatory disease. **BMC Infect. Dis.**, v. 15, p. 258, jul 6 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26143070>.

ICHIKAWA, T. *et al.* Human T-cell leukemia virus type 1 infection worsens prognosis of hepatitis C virus-related living donor liver transplantation. **Transpl. Int.**, v. 25, n. 4, p. 433-438, apr 2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22417010>.

IDREES, M.; RIAZUDDIN, S. Frequency distribution of hepatitis C virus genotypes in different geographical regions of Pakistan and their possible routes of transmission. **BMC Infect. Dis.**, v. 8, p. 69, may 23 2008. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18498666>.

IGAKURA, T. *et al.* Spread of HTLV-I between lymphocytes by virus-induced polarization of the cytoskeleton. **Science**, v. 299, n. 5613, p. 1713-1716, mar 14 2003. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12589003>.

ISHAK, K. *et al.* Histological grading and staging of chronic hepatitis. **J. Hepatology**, v. 22, n. 6, p. 696-699, jun 1995. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7560864>.

ISHAK, R. *et al.* Identification of human T cell lymphotropic virus type IIa infection in the Kayapo, an indigenous population of Brazil. **AIDS Res. Hum. Retroviruses**, v. 11, n. 7, p. 813-21, jul 1995. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7546908>.

JONES, K. S. *et al.* Heparan sulfate proteoglycans mediate attachment and entry of human T-cell leukemia virus type 1 virions into CD4+ T cells. **J. Virology**, v. 79, n. 20, p. 692-702, oct 2005. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16188972>.

JONES, K. S. *et al.* Cell-free HTLV-1 infects dendritic cells leading to transmission and transformation of CD4(+) T cells. **Nat. Med.**, v. 14, n. 4, p. 429-436, apr 2008. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18376405>.

KAJIYAMA, W. *et al.* Intrafamilial transmission of adult T cell leukemia virus. **J. Infect. Dis.**, v. 154, n. 5, p. 851-857, nov 1986. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2877031>.

KALYANARAMAN, V. S. *et al.* A new subtype of human T-cell leukemia virus (HTLV-II) associated with a T-cell variant of hairy cell leukemia. **Science**, v. 218, n. 4572, p. 571-573, nov 5 1982. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6981847>.

- KAMIHIRA, S. *et al.* Cohort study of hepatotropic virus and human T lymphotropic virus type-I infections in an area endemic for adult T cell leukemia. **Jpn J. Med.**, v. 30, n. 6, p. 492-497, nov-dec 1991. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1665877>.
- KANNIAN, P.; GREEN, P. L. Human T Lymphotropic Virus Type 1 (HTLV-1): Molecular Biology and Oncogenesis. **Viruses**, v. 2, n. 9, p. 2037-2077, Sep 2010. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21994719>.
- KISHIHARA, Y. *et al.* Human T lymphotropic virus type 1 infection influences hepatitis C virus clearance. **J. Infect. Dis.**, v. 184, n. 9, p. 1114-1119, nov 1 2001. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11598833>.
- KRUG, L. P. *et al.* Hepatitis C virus genotypes in Southern Brazil. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 29, n. 12, p. 1629-1632, dec 1996. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9222423>.
- KUCHARSKA, M. *et al.* Co-Infection of the Hepatitis C Virus With Other Blood-Borne and Hepatotropic Viruses Among Hemophilia Patients in Poland. **Hepatol. Mon.**, v. 16, n. 9, p. e35658, sep 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27822257>.
- KUMAR, R. M.; SHAHUL, S. Role of breast-feeding in transmission of hepatitis C virus to infants of HCV-infected mothers. **J. Hepatol.**, v. 29, n. 2, p. 191-197, aug 1998. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9722199>.
- KUO, G. *et al.* An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. **Science**, v. 244, n. 4902, p. 362-364, apr 21 1989. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2496467>.
- LAGRENADE, L. *et al.* Infective dermatitis of Jamaican children: a marker for HTLV-I infection. **Lancet**, v. 336, n. 8727, p. 1345-1347, dec 1 1990. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1978165>.
- LAIMORE, M. F., G. Human T-cell leukemia/lymphoma virus types 1 and 2. . In: KNIPE DM, H. P. (Ed.). **Fields Virology** 5th. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins, 2007. p.2071-2106.
- LAPERCHE, S. *et al.* Simultaneous detection of hepatitis C virus (HCV) core antigen and anti-HCV antibodies improves the early detection of HCV infection. **J. Clin. Microbiol.**, v. 43, n. 8, p. 3877-3883, aug 2005. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16081925>.
- LAROCCA, D. *et al.* Human T-cell leukemia virus minus strand transcription in infected T-cells. **Biochem Biophys Res. Commun**, v. 163, n. 2, p. 1006-1013, sep 15 1989. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2476979>.
- LAUER, G. M.; WALKER, B. D. Hepatitis C virus infection. **New Eng. J. Med.**, v. 345, n. 1, p. 41-52, jul 5 2001. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11439948>.

LAVANCHY, D. Evolving epidemiology of hepatitis C virus. **Clin. Microb. Infect.** v. 17, n. 2, p. 107-115, feb 2011. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21091831>.

LE MARCHAND, C. *et al.* Hepatitis C virus infection and spontaneous clearance in HTLV-1 and HIV co-infected patients in Salvador, Bahia, Brazil. **Braz. J. Infect. Dis.**, v. 19, n. 5, p. 486-491, sep-oct 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26254690>.

LEE, T. H. *et al.* Quantitation of HTLV-I and II proviral load using real-time quantitative PCR with SYBR Green chemistry. **J. Clin. Virol.**, v. 31, n. 4, p. 275-282, dec 2004. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15494269>.

LERAT, H. *et al.* Specific detection of hepatitis C virus minus strand RNA in hematopoietic cells. **J. Clin. Invest.**, v. 97, n. 3, p. 845-851, feb 1 1996. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8609243>.

LEROY, V. Other non-invasive markers of liver fibrosis. **Gastroent. Clin. Biol.**, v. 32, n. 6 Suppl 1, p. 52-57, sep 2008. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18973846>.

LEVI, J. E. *et al.* Contrasting HCV and HIV seroepidemiology in 11 years of blood donors screening in Brazil. **Transfusion Med.**, v. 27, n. 4, p. 286-291, aug 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28524366>.

LEVI, J. E. *et al.* Three cases of infection with hepatitis C virus genotype 5 among Brazilian hepatitis patients. **J. Clin. Microbiol.**, v. 40, n. 7, p. 2645-2647, jul 2002. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12089297>.

LI, H. C. *et al.* Provirus load in breast milk and risk of mother-to-child transmission of human T lymphotropic virus type I. **J. Infect. Dis.**, v. 190, n. 7, p. 1275-1278, oct 1 2004. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15346338>.

LINS, L. *et al.* Detection of hepatitis C virus RNA in saliva is not related to oral health status or viral load. **J. Med. Virol.**, v. 77, n. 2, p. 216-220, oct 2005. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16121379>.

LIU, T. C. *et al.* Detection of HCV RNA in saliva, urine, seminal fluid, and ascites. **J. Med. Virol.**, v. 37, n. 3, p. 197-202, jul 1992. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1331308>.

LOZA, E.; MATEOS, M. Absence of HTLV-1/2 infection among HCV- infected patients with no HIV-1/2 infection in Spain. **J. Clin. Virol.**, v. 64, p. 72-73, 2015.

MACIEL, A. M. A.; MELLO, C. E. B. Hepatitis C Virus and Human T-cell Lymphotropic Virus Co- infection: A Epidemiological, Clinical and Laboratory Analysis. **Arch. Clin. Microbiol.**, v. 6 No.2:5, p. 1-7, 2015.

MAGALHAES, T. *et al.* Phylogenetic and molecular analysis of HTLV-1 isolates from a medium sized town in northern of Brazil: tracing a common origin of the virus from the most

endemic city in the country. **J. Med. Virol.**,

v. 80, n. 11, p. 2040-2045, nov 2008. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18814252>.

MAHIEUX, R. *et al.* Human T-cell lymphotropic virus type 1 gag indeterminate western blot patterns in Central Africa: relationship to Plasmodium falciparum infection. **J. Clin.**

Microbiol., v. 38, n. 11, p. 4049-4057, nov 2000. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11060067>.

MANEL, N. *et al.* The ubiquitous glucose transporter GLUT-1 is a receptor for HTLV. **Cell**,

v. 115, n. 4, p. 449-459, nov 14 2003. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14622599>.

MANNS, A. *et al.* A prospective study of transmission by transfusion of HTLV-I and risk factors associated with seroconversion. **Int. J. Cancer**, v. 51, n. 6, p. 886-891, jul 30 1992.

Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1639536>.

MARCELLIN, P.; ASSELAH, T.; BOYER, N. Fibrosis and disease progression in hepatitis C. **Hepatology**, v. 36, n. 5 Suppl 1, p. S47-56, nov 2002. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12407576>.

MARINHO, J. *et al.* Increased risk of tuberculosis with human T-lymphotropic virus-1 infection: a case-control study. **J. Acquir. Immun Defic. Synd.**, v. 40, n. 5, p. 625-628, dec 15 2005. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16284541>.

MARRIOTT, S. J.; SEMMES, O. J. Impact of HTLV-I Tax on cell cycle progression and the cellular DNA damage repair response. **Oncogene**, v. 24, n. 39, p. 5986-5995, sep 5 2005.

Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16155605>.

MATA, E. C. *et al.* HTLV-1/2 prevalence in two Amazonian communities. **J. Virus Erad.**,

v. 4, n. 3, p. 174-178, jul 1 2018. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30050680>.

MATSUOKA, M.; JEANG, K. T. Human T-cell leukaemia virus type 1 (HTLV-1) infectivity and cellular transformation. **Nat. Rev. Cancer**, v. 7, n. 4, p. 270-280, apr 2007. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17384582>.

MEGE, J. L. *et al.* The two faces of interleukin 10 in human infectious diseases. **Lancet Infect. Dis.**, v. 6, n. 9, p. 557-569, sep 2006. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16931407>.

MELLO, M. A. *et al.* HTLV-1 in pregnant women from the Southern Bahia, Brazil: a neglected condition despite the high prevalence. **Virol. J.**, v. 11, p. 28, Feb 13 2014.

Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24524416>.

MESSINA, J. P. *et al.* Global distribution and prevalence of hepatitis C virus genotypes. **Hepatology**, v. 61, n. 1, p. 77-87, jan 2015. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25069599>.

MILAGRES, F. A. *et al.* Hepatitis C virus and human T-lymphotropic virus coinfection: epidemiological, clinical, laboratory and histopathological features. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 42, n. 4, p. 363-8, Jul-Aug 2009. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19802468>.

MILLER, R. H.; PURCELL, R. H. Hepatitis C virus shares amino acid sequence similarity with pestiviruses and flaviviruses as well as members of two plant virus supergroups. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 87, n. 6, p. 2057-2061, mar 1990. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2156259>.

MOCHIZUKI, M. *et al.* Uveitis associated with human T lymphotropic virus type I: seroepidemiologic, clinical, and virologic studies. **J. Infect. Dis.**, v. 166, n. 4, p. 943-944, oct 1992. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1527436>.

MOL, M. P. *et al.* Seroprevalence of hepatitis B and C among domestic and healthcare waste handlers in Belo Horizonte, Brazil. **Waste Manag. Res.**, v. 34, n. 9, p. 875-883, sep 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27207769>.

MORADPOUR, D.; BLUM, H. E. A primer on the molecular virology of hepatitis C. **Liver Int.**, v. 24, n. 6, p. 519-525, dec 2004. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15566499>.

MOREIRA, M. *et al.* Characteristics of co-infections by HCV and HBV among Brazilian patients infected by HIV-1 and/or HTLV-1. **Braz. J. Infect. Dis.**, v. 17, n. 6, p. 661-6, nov-dec 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24029434>.

MORIMOTO, H. K. *et al.* Seroprevalence and risk factors for human T cell lymphotropic virus type 1 and 2 infection in human immunodeficiency virus-infected patients attending AIDS referral center health units in Londrina and other communities in Parana, Brazil. **AIDS Res. Hum. Retrov.**, v. 21, n. 4, p. 256-262, apr 2005. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15943567>.

MOURA, A. A.; DE MELLO, M. J.; CORREIA, J. B. Prevalence of syphilis, human immunodeficiency virus, hepatitis B virus, and human T-lymphotropic virus infections and coinfections during prenatal screening in an urban Northeastern Brazilian population. **Intern. J. Infect. Dis.**, v. 39, p. 10-15, oct 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26255887>.

MURPHY, E. L. *et al.* Sexual transmission of human T-lymphotropic virus type I (HTLV-I). **Ann. Intern. Med.**, v. 111, n. 7, p. 555-560, oct 1 1989. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2789009>.

NAKASHIMA, K. *et al.* Hepatitis C virus infection on Iki Island, Japan, an area endemic for human T-lymphotropic virus type-I. A preliminary study in patients at clinics or hospitals. **J. Epidemiol.**, v. 4, p. 17-23, 1994.

NAKASHIMA, K. *et al.* Human T-lymphotropic virus type-I, and hepatitis A, B and C viruses in Nepal: a serological survey. **J. Trop. Med. Hyg.**, v. 98, n. 5, p. 347-350, oct 1995. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7563265>.

NASCIMENTO, M. C. *et al.* Prevalence of hepatitis B and C serological markers among first-time blood donors in Brazil: a multi-center serosurvey. **J. Med. Virol.**, v. 80, n. 1, p. 53-57, jan 2008. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18041005>.

NELSON, D. R. *et al.* Interleukin 10 treatment reduces fibrosis in patients with chronic hepatitis C: a pilot trial of interferon nonresponders. **Gastroenterology**, v. 118, n. 4, p. 655-660, apr 2000. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10734016>.

NERA, F. A. *et al.* Antibodies to *Strongyloides stercoralis* in healthy Jamaican carriers of HTLV-1. **New Eng. J. Med.**, v. 320, n. 4, p. 252-253, jan 26 1989. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2911314>.

NUNES, D. *et al.* HTLV-1 is predominantly sexually transmitted in Salvador, the city with the highest HTLV-1 prevalence in Brazil. **PLoS One**, v. 12, n. 2, p. e0171303, 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28158226>

OGATA, N. *et al.* Nucleotide sequence and mutation rate of the H strain of hepatitis C virus. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 88, n. 8, p. 3392-3396, apr 15 1991. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1849654>.

OKAYAMA, A. *et al.* Increased prevalence of HTLV-I infection in patients with hepatocellular carcinoma associated with hepatitis C virus. **Jpn. J. Cancer Res.**, v. 86, n. 1, p. 1-4, jan 1995. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7737899>.

OLIVEIRA-FILHO, A. B. *et al.* Epidemiological aspects of HCV infection in non-injecting drug users in the Brazilian state of Para, eastern Amazon. **Virol. J.**, v. 11, p. 38, Feb 25 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24564954>.

OSAME, M. *et al.* HTLV-I associated myelopathy, a new clinical entity. **Lancet**, v. 1, n. 8488, p. 1031-1032, may 3 1986. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2871307>.

PARANA, R. *et al.* HCV infection in northeastern Brazil: unexpected high prevalence of genotype 3a and absence of African genotypes. **Arq. Gastroenterol.**, v. 37, n. 4, p. 213-216, oct-dec 2000. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11460601>.

PAWLOTSKY, J. M. Diagnostic tests for hepatitis C. **J. Hepatol.**, v. 31 Suppl 1, p. 71-79, 1999. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10622564>.

PAWLOTSKY, J. M. *et al.* Relationship between hepatitis C virus genotypes and sources of infection in patients with chronic hepatitis C. **J. Infect. Dis.**, v. 171, n. 6, p. 1607-1610, jun 1995. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7769300>.

PEREIRA, F. M. *et al.* Evidence of New Endemic Clusters of Human T-Cell Leukemia Virus (HTLV) Infection in Bahia, Brazil. **Front. Microbiol.**, v. 10, p. 1002, 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31156570>.

PEREIRA, L. M. *et al.* Prevalence and risk factors of Hepatitis C virus infection in Brazil, 2005 through 2009: a cross-sectional study. **BMC Infect. Dis.**, v. 13, p. 60, feb 1 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23374914>.

PETRUZZIELLO, A. *et al.* Global epidemiology of hepatitis C virus infection: An up-date of the distribution and circulation of hepatitis C virus genotypes. **World J. Gastroenterol.**, v. 22, n. 34, p. 7824-7840, sep 14 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27678366>.

PINTO, M. T. *et al.* HTLV-1/2 seroprevalence and coinfection rate in Brazilian first-time blood donors: an 11-year follow-up. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 54, n. 3, p. 123-129, may-jun 2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22634882>.

POIESZ, B. J. *et al.* Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous T-cell lymphoma. **Proc. Natl. Acad. Sci. U SA**, v. 77, n. 12, p. 7415-7419, dec 1980. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6261256> .

POLARIS OBSERVATORY, H. C. V. C. Global prevalence and genotype distribution of hepatitis C virus infection in 2015: a modelling study. **Lancet Gastroent. Hepatol.**, v. 2, n. 3, p. 161-176, mar 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28404132>.

PONDE, R. A. Hidden hazards of HCV transmission. **Med. Microb. Immunol.**, v. 200, n. 1, p. 7-11, feb 2011. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20461405>.

PRASETYO, A. A. *et al.* Molecular epidemiology of HIV, HBV, HCV, and HTLV-1/2 in drug abuser inmates in central Javan prisons, Indonesia. **J. Infect. Dev. Ctries.**, v. 7, n. 6, p. 453-467, jun 15 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23771289>.

PRATI, D. Transmission of hepatitis C virus by blood transfusions and other medical procedures: a global review. **J. Hepatol.**, v. 45, n. 4, p. 607-616, oct 2006. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16901579>.

PROIETTI, F. A. *et al.* Global epidemiology of HTLV-I infection and associated diseases. **Oncogene**, v. 24, n. 39, p. 6058-6068, sep 5 2005. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16155612> .

PUGA, M. A. *et al.* Prevalence and Incidence of HCV Infection among Prisoners in Central Brazil. **PLoS One**, v. 12, n. 1, p. e0169195, 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28060860>.

RAMOS, J. M. *et al.* Prevalence of HIV, HBV, HCV, HTLV and Treponema pallidum among patients attending a rural hospital in Southern Ethiopia. **J. Clin. Virol.**, v. 53, n. 3, p. 268-269, mar 2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22209287>.

RE, V. *et al.* Hepatitis C and HIV coinfection in central region of Argentina: prevalence, genotype characterization and risk factors. **Enferm. Infec. Microb. Clin.**, v. 26, n. 7, p. 423-425, aug-sep 2008. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18842237>.

REGO, F. F. *et al.* HTLV type 1 molecular study in Brazilian villages with African characteristics giving support to the post-Columbian introduction hypothesis. **AIDS Res.**

Hum. Retrov., v. 24, n. 5, p. 673-677, may 2008. Disponível em:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18462080>.

RIBEIRO BARBOSA, J. *et al.* Cross-Sectional Study to Determine the Prevalence of Hepatitis B and C Virus Infection in High Risk Groups in the Northeast Region of Brazil. **Int. J. Environ Res. Public Health**, v. 14, n. 7, jul 17 2017. Disponível em:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28714924>.

RIBEIRO, I. P. *et al.* HTLV-1 and -2 in a first-time blood donor population in Northeastern Brazil: Prevalence, molecular characterization, and evidence of intrafamilial transmission. **J. Med. Virol.**, v. 90, n. 10, p. 1651-1657, oct 2018. Disponível em:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29797609>.

RICHARDSON, J. H. *et al.* In vivo cellular tropism of human T-cell leukemia virus type 1. **J. Virol.**, v. 64, n. 11, p. 5682-5687, nov 1990. Disponível em:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1976827>.

RICHTER, S. S. Laboratory assays for diagnosis and management of hepatitis C virus infection. **J. Clin. Microbiol.**, v. 40, n. 12, p. 4407-4412, dec 2002. Disponível em:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12454127>.

ROSADAS, C. *et al.* Estimation of HTLV-1 vertical transmission cases in Brazil per annum. **PLoS Negl. Trop. Dis.**, v. 12, n. 11, p. e0006913, nov 2018. Disponível em:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30418973>.

ROUCOUX, D. F.; MURPHY, E. L. The epidemiology and disease outcomes of human T-lymphotropic virus type II. **AIDS Rev.**, v. 6, n. 3, p. 144-154, jul-sep 2004. Disponível em:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15595431>.

SABINO, E. C.; CARVALHO, S. M. F. D. **Diagnóstico laboratorial do HTLV**. HTLV. Belo Horizonte: Fundação HEMOMINAS. 16 2015.

SABINO, E. C. *et al.* Evaluation of the INNO-LIA HTLV I/II assay for confirmation of human T-cell leukemia virus-reactive sera in blood bank donations. **J. Clin. Microbiol.**, v. 37, n. 5, p. 1324-1328, may 1999. Disponível em:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10203479>.

SANTOS, R. F. *et al.* Prevalence and risk factors for Human T-Lymphotropic Virus Type 1 (HTLV-1) among maintenance hemodialysis patients. **BMC Nephrol.**, v. 18, n. 1, p. 64, feb 15 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28202003>.

SCOTT, J. D.; GRETCH, D. R. Molecular diagnostics of hepatitis C virus infection: a systematic review. **JAMA**, v. 297, n. 7, p. 724-732, feb 21 2007. Disponível em:
<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17312292>.

SETTE, L. *et al.* High prevalence of occult hepatitis C infection in predialysis patients. **World J. Hepatol.**, v. 11, n. 1, p. 109-118, jan 27 2019. Disponível em:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30705723>.

SILVA, F. Q. *et al.* Hepatitis C virus infection among illicit drug users in an archipelago of the Amazon. **Arch. Virol.**, v. 163, n. 3, p. 617-622, mar. 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29164400>.

SILVA, I. C. *et al.* Moderate endemicity of the human T-lymphotropic virus infection in the metropolitan region of Belem, Para, Brazil. **Rev. Bras. Epidemiol.**, v. 21, p. e180018, oct 11. 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30328937>.

SILVA, L. K. *et al.* Hepatitis C virus genotypes in a northeastern area of Brazil. **Amer. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 62, n. 2, p. 257-260, feb. 2000. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10813481>.

SILVA, L. K. *et al.* Prevalence of hepatitis C virus infection and HCV genotypes among hemophiliacs in the State of Bahia, Northeastern Brazil: analysis of serological and virological parameters. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 38, n. 6, p. 496-502, nov-dec. 2005. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16410926>.

SILVA, L. K. *et al.* Prevalence of hepatitis C virus (HCV) infection and HCV genotypes of hemodialysis patients in Salvador, Northeastern Brazil. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 39, n. 5, p. 595-602, may. 2006. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16648896>.

SILVA, M. B. *et al.* Prevalence and genotypes of hepatitis C virus among injecting drug users from Salvador-BA, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 105, n. 3, p. 299-303, may 2010. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20512243>.

SILVA, M. C. *et al.* HCV/HTLV coinfection: Does HTLV-1 interfere in the natural history of HCV-related diseases? **J. Med. Virol.**, v. 88, n. 11, p. 1967-1972, nov 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27027482>.

SIMMONDS, P. *et al.* A proposed system for the nomenclature of hepatitis C viral genotypes. **Hepatology**, v. 19, n. 5, p. 1321-1324, may 1994. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8175159>.

SIMMONDS, P. *et al.* Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. **Hepatology**, v. 42, n. 4, p. 962-973, oct 2005. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16149085>.

SIMMONDS, P. *et al.* Classification of hepatitis C virus into six major genotypes and a series of subtypes by phylogenetic analysis of the NS-5 region. **J. Gen. Virol.**, v. 74 (Pt 11), p. 2391-2399, nov 1993. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8245854>.

SIMMONDS, P. *et al.* Evolutionary analysis of variants of hepatitis C virus found in South-East Asia: comparison with classifications based upon sequence similarity. **J. Gen. Virol.**, v. 77 (Pt 12), p. 3013-3024, dec 1996. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9000092>.

SLATTERY, J. P.; FRANCHINI, G.; GESSAIN, A. Genomic evolution, patterns of global dissemination, and interspecies transmission of human and simian T-cell

leukemia/lymphotropic viruses. **Genome Res.**, v. 9, n. 6, p. 525-540, jun 1999. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10400920>.

STRAUSS, E. Hepatitis C. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 34, n. 1, p. 69-82, jan-feb 2001. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11340500>.

STUVER, S. O. *et al.* Reply. **J. Infect. Dis.**, v. 182, n. 1, p. 379-380, jul 2000. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10882634>.

STUVER, S. O. *et al.* HCV infection and liver cancer mortality in a Japanese population with HTLV-I. **Int. J. Cancer**, v. 67, n. 1, p. 35-37, jul 3 1996. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8690522>.

SULLIVAN, M. T. *et al.* Transmission of human T-lymphotropic virus types I and II by blood transfusion. A retrospective study of recipients of blood components (1983 through 1988). The American Red Cross HTLV-I/II Collaborative Study Group. **Arch. Intern. Med.**, v. 151, n. 10, p. 2043-2048, oct 1991. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1929693>.

SYED, G. H.; AMAKO, Y.; SIDDIQUI, A. Hepatitis C virus hijacks host lipid metabolism. **Trends Endocrinol. Metab.**, v. 21, n. 1, p. 33-40, jan 2010. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19854061>.

TANAKA, G. *et al.* The clonal expansion of human T lymphotropic virus type 1-infected T cells: a comparison between seroconverters and long-term carriers. **J. Infect. Dis.**, v. 191, n. 7, p. 1140-1147, apr 1 2005. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15747250>.

TEAM, R. C. **R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria. 2018.

TERRAULT, N. A. Sexual activity as a risk factor for hepatitis C. **Hepatology**, v. 36, n. 5 Suppl 1, p. S99-105, nov 2002. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12407582>.

THIMME, R.; LOHMANN, V.; WEBER, F. A target on the move: innate and adaptive immune escape strategies of hepatitis C virus. **Antiviral Res.**, v. 69, n. 3, p. 129-141, mar 2006. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16413618>.

THOMAS, D. L. *et al.* The natural history of hepatitis C virus infection: host, viral, and environmental factors. **JAMA**, v. 284, n. 4, p. 450-456, Jul 26 2000. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10904508>.

THOMPSON, S. C.; BOUGHTON, C. R.; DORE, G. J. Blood-borne viruses and their survival in the environment: is public concern about community needlestick exposures justified? **Aust. N. Z. J. Pub. Health**, v. 27, n. 6, p. 602-607, dec 2003. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14723407>.

THORSTENSSON, R.; ALBERT, J.; ANDERSSON, S. Strategies for diagnosis of HTLV-I and -II. **Transfusion**, v. 42, n. 6, p. 780-791, jun 2002. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12147033>.

TOKUNAGA, M. *et al.* Influence of human T-lymphotropic virus type 1 coinfection on the development of hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis C virus infection. **J. Gastroenterol.**, v. 49, n. 12, p. 1567-1577, dec 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24463696>.

TORRES, K. L. *et al.* Hepatitis C virus in blood donors, Brazil. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 15, n. 4, p. 676-678, apr 2009. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19331773>.

VANDAMME, A. M. *et al.* Use of a generic polymerase chain reaction assay detecting human T-lymphotropic virus (HTLV) types I, II and divergent simian strains in the evaluation of individuals with indeterminate HTLV serology. **J. Med. Virol.**, v. 52, n. 1, p. 1-7, May 1997. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9131450>.

VERDONCK, K. *et al.* HTLV-1 infection is frequent among out-patients with pulmonary tuberculosis in northern Lima, Peru. **Intern. J. Tuberc. Lung Dis.**, v. 11, n. 10, p. 1066-1072, oct 2007. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17945062>.

VERDONCK, K. *et al.* Human T-lymphotropic virus 1: recent knowledge about an ancient infection. **Lancet Infect. Dis.**, v. 7, n. 4, p. 266-281, apr 2007. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17376384>.

VIANA, G. M. *et al.* Seroprevalence of HTLV-1/2 among blood donors in the state of Maranhao, Brazil. **Rev. Bras. Hematol. Hemot.**, v. 36, n. 1, p. 50-53, 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24624036>.

VILLAR, L. M. *et al.* Determination of hepatitis B, C and D prevalence among urban and Amerindian populations from the Eastern Brazilian Amazon: a cross sectional study. **BMC Infect. Dis.**, v. 18, n. 1, p. 411, aug 20 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30126364>.

VILLAR, L. M. *et al.* Prevalence of hepatitis B and C virus infections among military personnel. **Braz. J. Infect. Dis.**, v. 19, n. 3, p. 285-290, may-jun 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25769737>.

WATTEL, E. *et al.* Clonal expansion of infected cells: a way of life for HTLV-I. **J. Acquir. Immune Defic. Synd. Hum. Retrovirol.**, v. 13 Suppl 1, p. S92-99, 1996. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8797710>.

WIKTOR, S. Z. *et al.* Sensitivity of HTLV-I antibody assays for HTLV-II. **Lancet**, v. 338, n. 8765, p. 512-513, aug 24 1991. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1678470>.

WOLFE, N. D. *et al.* Emergence of unique primate T-lymphotropic viruses among central African bushmeat hunters. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 102, n. 22, p. 7994-7999, may 31 2005. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15911757>.

YAKOVA, M. *et al.* Increased proviral load in HTLV-1-infected patients with rheumatoid arthritis or connective tissue disease. **Retrovirology**, v. 2, p. 4, feb 1 2005. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15686595>.

YANO, M. *et al.* The long-term pathological evolution of chronic hepatitis C. **Hepatology**, v. 23, n. 6, p. 1334-1340, jun 1996. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8675148>.

YOSHIDA, M. Multiple viral strategies of HTLV-1 for dysregulation of cell growth control. **Annu. Rev. Immunol.**, v. 19, p. 475-496, 2001. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11244044>.

ZARIFE, M. A. *et al.* Detection of genotype 4 of the hepatitis C virus in Salvador, BA. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 39, n. 6, p. 567-569, nov-dec 2006. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17308705>.

ZARIFE, M. A. *et al.* Prevalence of hepatitis C virus infection in north-eastern Brazil: a population-based study. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 100, n. 7, p. 663-668, jul 2006. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16386279>.

ZEIN, N. N. Clinical significance of hepatitis C virus genotypes. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 13, n. 2, p. 223-235, apr 2000. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10755999>.

ZHANG, J. *et al.* Up-regulation of hepatitis C virus replication by human T cell leukemia virus type I-encoded Tax protein. **Virology**, v. 369, n. 1, p. 198-205, dec 5 2007. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17765943>.

ZIAEE, M.; NAMAELI, M. H.; AZARKAR, G. The prevalence of HTLV-1 and its Co-Infection with HCV, HBV and HIV in Hemophilic patients. **Pak. J. Med. Sci.**, v. 31, n. 5, p. 1246-1249, sep-oct 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26649023>.

ZIGNEGO, A. L. *et al.* Hepatitis C virus infection of mononuclear cells from peripheral blood and liver infiltrates in chronically infected patients. **J. Med. Virol.**, v. 47, n. 1, p. 58-64, sep 1995. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8551260>.

ZIOL, M. *et al.* Noninvasive assessment of liver fibrosis by measurement of stiffness in patients with chronic hepatitis C. **Hepatology**, v. 41, n. 1, p. 48-54, jan 2005. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15690481>.

ZUNT, J. R. *et al.* Cervical shedding of human T cell lymphotropic virus type I is associated with cervicitis. **J. Infect. Dis.**, v. 186, n. 11, p. 1669-1672, dec 1 2002. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12447745>.

ZUNT, J. R. *et al.* HTLV-2 infection in injection drug users in King County, Washington. **Scand. J. Infect. Dis.**, v. 38, n. 8, p. 654-663, 2006. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16857611>.