

## Aislamientos del HTLV-I en donantes de sangre y pacientes politransfundidos en Cuba

Navea-Leiva LM<sup>1</sup>, Noa-Romero E<sup>1</sup>, Dubed-Echevarría M<sup>1</sup>, Martin-Alfonso D<sup>1</sup>, Díaz-Herrera DF<sup>1</sup>, Díaz-Torres HM<sup>1</sup>, Machado-Zaldívar LY, Rivero-Jiménez RA<sup>2</sup>,

<sup>1</sup>Laboratorio de Investigaciones del SIDA (LISIDA), San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba;

<sup>2</sup>Instituto de Hematología e Inmunología, La Habana, Cuba.

Email: riverora@infomed.sld.cu

### Resumen

El virus linfotrópico de las células T humana (HTLV-I) fue el primer retrovirus oncógeno humano asociado con enfermedad, originalmente aislado de un paciente con linfoma cutáneo de células T. Mediante estudios de seroprevalencia se estima que de 10 a 20 millones de personas en el mundo se encuentran infectadas, principalmente en áreas endémicas al suroeste de Japón, islas del Caribe, regiones del África central, América del Sur, y el sureste de los EUA. HTLV-I se ha identificado como agente causal directo de la leucemia/linfoma de células T del adulto (LLTA) y de la paraparesia espástica tropical. A partir de los primeros estudios de vigilancia seroepidemiológica en donantes de sangre y pacientes politransfundidos se llegó al diagnóstico del primer caso clínico de LLTA asociado al HTLV-I en 1990. Para determinar la circulación del virus en Cuba, se continuaron los estudios de pesquisaje en grupos de riesgo: donantes de sangre, pacientes politransfundidos con enfermedades hematológicas, renales, y por otras causas, contactos de seropositivos, pacientes con enfermedades neurológicas y otros; con estuches diagnóstico por inmunoensayos y como pruebas confirmatorias se realizaron el *Western blot* y el aislamiento viral. Los resultados del estudio de 40 833 muestras confirmaron 40 individuos infectados, de ellos 15 entre los donantes de sangre y pacientes politransfundidos, lo que representa el 37.5% del total de infectados y en todos se logró el aislamiento del virus, para una seroprevalencia en grupos de riesgo de 0,097%. Se concluye que HTLV-I circula en Cuba y es necesaria mantener la vigilancia epidemiológica por el riesgo potencial de transmisión sanguínea y sexual de este virus.

**Palabras clave:** HTLV-I, leucemia, linfoma, paraparesia espástica tropical, donantes, sangre, politransfundidos, aislamiento viral, inmunoensayos.

## INTRODUCCIÓN

El virus linfotrópico de las células T humana (HTLV-I) fue el primer retrovirus oncógeno humano asociado con enfermedad, originalmente aislado de un paciente con linfoma cutáneo de células T. Mediante estudios de seroprevalencia se estima que de 10 a 20 millones de personas en el mundo se encuentran infectadas, principalmente en áreas endémicas al suroeste de Japón, islas del Caribe, regiones del África central, América del Sur, y el sureste de los EUA (1). El HTLV-1 es el agente etiológico del linfoma/leucemia de las células T del adulto (LLTA) (2) y la mielopatía asociada al HTLV-1/Paraparesia Espática Tropical (MAH/PET). Sin embargo, se reporta que del total de los individuos infectados solamente el 2-5% pueden desarrollar LLTA durante su vida después de un largo período asintomático y que una pequeña proporción (0.1-2%), pueden padecer MAH/PET (2). Los anticuerpos vs. HTLV-I están presentes en más de 90% de los casos, y el virus es capaz de transformar las células T in vitro, mediante un mecanismo donde el provirus se integra en la célula maligna, el sitio de integración ocurre al azar, es único para cada paciente, dando lugar a una proliferación policlonal, y el virus puede ser aislado de las células malignas (2). A partir de los primeros estudios de vigilancia seroepidemiológica en donantes de sangre y pacientes politransfundidos en Cuba se llegó al diagnóstico del primer caso clínico de LLTA asociado al HTLV-I en 1990 (3). La mayoría de los individuos infectados con el HTLV-I permanecen asintomáticos con largos períodos de latencia (20 a 60 años). La transmisión del virus ocurre por tres vías principales: sexual, sanguínea (con productos celulares) o la vertical (madre - hijo) fundamentalmente mediante la lactancia materna. Usualmente el diagnóstico se realiza por métodos inmunológicos como los inmunoensayos y la confirmación por inmunofluorescencia, *Western blot* y métodos moleculares. Sin embargo, un cultivo positivo por aislamiento viral constituye la forma más concluyente para demostrar el agente causal.

## OBJETIVOS

*General:* Confirmar la circulación del HTLV-I en donantes de sangre y politransfundidos en Cuba.

*Específicos:* Pesquisar la serología contra HTLV-I en grupos de riesgo como donantes de sangre, pacientes politransfundidos con enfermedades hematológicas, renales y por otras causas,

contactos de seropositivos, pacientes con enfermedades neurológicas y otros, y confirmar los seropositivos mediante el aislamiento viral, estudios de biología molecular y microscopía electrónica.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio prospectivo de seguimiento longitudinal serológico y virológico a los grupos de riesgo para la infección por HTLV-I. A partir de la sangre de personas identificadas como seropositivas por la presencia de anticuerpos contra HTLV-I (DAVIH HTLV-I, DAVIH BLOT HTLV-I, Laboratorios DAVIH, La Habana, Cuba), que se confirmaron mediante el algoritmo establecido en el LISIDA, se procedió al aislamiento viral: Las células mononucleares de sangre periférica (CMSP) de los seropositivos confirmados por Western blot se obtuvieron por centrifugación de la sangre total heparinizada sobre gradiente de Ficoll, el anillo de células se lavó dos veces con solución de tampón fosfato (PBS) mediante centrifugación. Las células obtenidas se cultivaron en medio RPMI 1640 (Gibco), suplementado con 10 % de suero fetal bovino (Hyclone), 40 µg/mL de gentamicina (Sigma) y 20 µg/mL de fitohemaglutinina (DAVIH FHA, Laboratorios DAVIH) por tres días a 37°C y atmósfera húmeda con 5 % de CO<sub>2</sub>. Transcurrido este tiempo se cocultivaron con CMSP de donante sano, previamente estimulados con FHA durante 72 horas y se les adicionó medio de cultivo fresco con 10 U/mL de interleucina 2 (IL-2) (ICN-Biochemical INC). La multiplicación viral se monitoreó por inmunofluorescencia indirecta (IFI) semanalmente durante 35 días. Se consideró un cultivo positivo cuando se detectó IFI específica de membrana en más de dos monitoreos consecutivos, lo cual se confirmó posteriormente por microscopía electrónica. También se realizó la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para los genes tax, pol y gag de HTLV-I.

## RESULTADOS

En 40 833 muestras se confirmaron 40 individuos infectados, para una seroprevalencia en grupos de riesgo de 0,097 % (ver Tabla).

**Tabla: Detección de anticuerpos contra HTLV- I en diferentes grupos de riesgo. LISIDA, Cuba.**

Grupos de estudio	Individuos	Positivos	(%)	$p^{(a)}$
Donantes de sangre <sup>b</sup>	27 891	7	0,025	---
Nefrópatas	2 038	2	0,098	0,20
Politransfundidos	200	1	0,50	0,05
Hemopatías <sup>c</sup>	2 197	7	0,32	0,0000
Enfermedad neurológica <sup>d</sup>	499	1	0,20	0,29
Contactos sexuales	30	10	33,3	0,0000
Hijos de madres HTLV-I+	11	1	9,09	0,0000
Familiares convivientes	148	10	6,75	0,0000
Seropositivos VIH-1	439	0	0	
Otras infecciones de transmisión sexual	6 081	0	0	
Neuropatía epidémica	617	0	0	
Linfoma cutáneo	166	1	0,60	0,0000
Otras condiciones clínicas <sup>e</sup>	516	--	--	--
<b>Total</b>	<b>40 833</b>	<b>40</b>	<b>0,097</b>	<b>IC 95%: 0,060 - 0,123</b>

**Leyenda:**

<sup>a</sup>Comparación de cada grupo con los donantes de sangre. Estadígrafo Z.

<sup>b</sup>Donantes de sangre y médula ósea de varias provincias.

<sup>c</sup>Incluye linfoma de Hodgkin, no Hodgkin y otros síndromes linfoproliferativos, todos politransfundidos.

<sup>d</sup>Incluye paraparesia espástica, esclerosis múltiple y síndromes neuropsiquiátricos.

<sup>e</sup>Incluye afecciones autoinmunes, reumáticas y dermatológicas.

Dentro de los confirmados, 15 correspondieron a donantes de sangre y pacientes politransfundidos, lo que representa el 37.5 % del total de infectados. En todos se logró el aislamiento del virus. Los cocultivos se caracterizaron por una rápida proliferación celular en las primeras dos semanas de cultivo, con un marcado descenso de la viabilidad posteriormente, lo cual coincidió con un incremento del número de células positivas por IFI de membrana. Como se

conoce, los estudios seroepidemiológicos en el área del Caribe y algunas regiones de América del Sur han encontrado alta seroprevalencia de la infección por HTLV-I (1-7 %), con la PET como la enfermedad relacionada más frecuente; sin embargo, la seropositividad observada en nuestro país en grupos de muestras de diversas fuentes es baja en comparación con la reportada en países hispanos (4, 5) y la enfermedad asociada con mayor frecuencia es la LLTA.

## CONCLUSIONES

El HTLV-I circula en Cuba y es causa de enfermedades etiológicamente relacionadas, entre ellas la LLTA, se asoció a la donación y transfusión de sangre en 37.5 % de los infectados, por lo que es necesario mantener la vigilancia epidemiológica ante el riesgo potencial de transmisión sanguínea, vertical y sexual de este virus.

## RECOMENDACIONES

Establecer los sistemas de pesquisa en donantes de sangre, pacientes politransfundidos, receptores de terapias celulares y otros grupos vulnerables, o establecer métodos de inactivación viral en los productos sanguíneos destinados a hemoterapia con células para evitar la transmisión sanguínea.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Lairmore MD, Haines R, Anupam R. Mechanisms of human T-lymphotropic virus type 1 transmission and disease. *Curr Opin Virol.* 2012; 2(4):474-81.
2. Murphy EL. Infection with human T-lymphotropic virus types-1 and -2 (HTLV-1 and -2): Implications for blood transfusion safety. *Transfus Clin Biol.* 2016; 23(1):13-9.
3. Muñío JE, Díaz HM, Carnot J, De Castro R, Navea L, Rodríguez I. Leucemia/linfoma T del adulto. Primer caso en Cuba. *Rev Cubana Med.* [Internet]. 2003 Jun [citado 2016 Ago 16]; 42( 3 ): . Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-75232003000300010&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75232003000300010&lng=es).

4. Bermúdez-Forero MI, Berrío-Pérez M, Herrera-Hernández AM, Rodríguez-Rodríguez MJ, García-Blanco S, Orjuela-Falla G, et al. Prevalence of human T-cell lymphotropic virus I and II in Colombian blood donors, 2001-2014: Implications for transfusion safety. *Biomédica*. 2016;36(0):194-200.
5. de Mendoza C, Caballero E, Aguilera A, Pirón M, Ortiz de Lejarazu R, Rodríguez C, et al. HIV-2 and HTLV-1 infections in Spain, a non-endemic region. *AIDS Rev*. 2014; 16(3):152-9.