

Determinación de la presencia de anticuerpos anti-HTLV I/II en sujetos con riesgo para la infección.

(PRESENCE OF ANTIBODIES AGAINST HTLV I/II IN A HIGH-RISK POPULATIONS FOR INFECTION.)

ANA ROZO¹, INGRID VOLCANES¹, ALIX VELASCO², YAGNELI INFANTE¹ Y JOSÉ ANGEL COVA³.

Instituto de Inmunología Clínica. Universidad de Los Andes. Av. 16 de Septiembre, edificio Louis Pasteur, 511.

¹ Laboratorio de Inmunodiagnóstico-IDIC. Ministerio de Salud y Desarrollo Social. Mérida-Mérida.

² Fundación José Félix Rivas. Av. 4, frente al Batallón "Justo Briceño". Estado Mérida

³ Instituto de Inmunología Clínica (IDIC). Universidad de Los Andes. Av 16 de Septiembre, al lado del IAHULA.

E-mail: jacova@ula.ve

RESUMEN

La presencia de los virus linfotrópicos de células T humanas, tipo I y II, en determinadas zonas de Venezuela; nos llevaron a realizar este estudio clínico de tipo transversal, para conocer la frecuencia de infectados en grupos de alto riesgo, del estado Mérida. A los 44 individuos del estudio, 31 promiscuos sexuales y usuarios de drogas y 13 con neoplasias hematológicas, se les determinó la presencia de anticuerpos contra estos retrovirus, por ELISA y western blot. Ninguno de los sujetos en estudio fue seropositivo. A pesar de que esta región esta muy cercana a focos de infección en Brasil, la Guajira Colombiana y en el estado Zulia; nosotros, al menos en los sujetos estudiados, no encontramos evidencia serológica de infección por estos patógenos.

PALABRAS CLAVES

HTLV I/II, anticuerpos, factores de riesgo, neoplasias hematológicas.

ABSTRACT

Reports of infection by human T cell lymphotropic virus type I and II have been made in different areas from Venezuela. For this reason, we performed a cross-sectional study in order to know the frequency of infection through these viruses in two different high-risk groups, in Merida state, Venezuela. Forty-four blood peripheral samples from 31 intravenous drug users and sexual promiscuous, and 13 patients with hematologic neoplasms were analyzed, to determinate antibodies against HTLV virus using ELISA and western blot assays. We did not find anti-HTLV I/II positive samples

in this study. Although some areas from Brazil, Colombia and Venezuela have infections by HTLV virus, we could not detect the infection in the studied risk populations.

KEY WORDS:

HTLV I/II, antibodies, risk factors, hematologic neoplasm.

AGRADECIMIENTOS

A Coromoto Fernández y Mabil Soto por su colaboración en la recolección y preparación de los sueros. Este trabajo fue financiado por el CDCH/T de la Universidad de Los Andes bajo el código M-745-02-07-B.

INTRODUCCIÓN

Los virus linfotrópicos de las células T humanas, tipo I y II (HTLV-I y HTLV-II) pertenecen, al igual que el virus de la Inmunodeficiencia Humana (HIV), a la familia de los retrovirus. En general, estos virus se caracterizan por tener un período de latencia largo e inducir la aparición de patologías de alta morbilidad como la leucemia/linfoma de células T del adulto, la paraparesis espástica tropical con mielopatía asociada al HTLV (TSP/HAM), uveitis y dermatitis (Soriano y cols. 1999; Uchiyama y cols. 1997; Blattner y cols. 1983; Gessain y cols. 1985; Mochizuki y cols 1992; LaGrenade y cols. 1990).

La infección tiene una distribución mundial y se estima que 15 a 25 millones de personas están infectadas con estos virus, principalmente el tipo I, aunque solamente un número reducido de ellos padecen alguna enfermedad relacionada con el mismo (Hollberg y col 1996).

El HTLV-I es endémico en Japón, el Caribe, África ecuatorial, Centro y Sur América, sudeste de los Estados Unidos, Irán y algunas islas del Sur del Pacífico, mientras que el HTLV-II no tiene un área endémica definida, pero se han descrito algunos focos en poblaciones amerindias como los indios Navajos en Nuevo México, los Guaymí en Panamá, los Wayuu en Colombia, los Cayapo y Kraho en Brasil y por último los seminola en Florida (Heneine y cols 1991; Dueñas-Barajas y cols 1992; Levine y cols 1993; Cortes y cols 1989), por lo que se propuso inicialmente, que este era un retrovirus del nuevo mundo, pero tal afirmación ha perdido vigencia después de la descripción de algunos focos en África (Bonis y cols 1994).

Los HTLVs se transmiten por diferentes vías incluyendo la sexual, transfusiones sanguíneas, principalmente de componentes celulares y de la madre al niño a través de la leche materna o durante el parto. Es por eso que los grupos de riesgo han sido claramente identificados y constituyen los usuarios de drogas intravenosas, sujetos que reciben transfusiones sanguíneas de concentrados globulares y promiscuos hetero y homosexuales. Además de estos grupos, la detección de anticuerpos contra estos virus debe realizarse, en aquellas personas adultas que presentan neoplasias hematológicas sugestivas de la infección, los cuales constituyen aproximadamente un 2 a 4%. Las enfermedades neurológicas se estima que ocurren en un 2,4% de las personas seropositivas.

Debido a la cercanía con focos de alta endemicidad para HTLV-I, localizados en Brasil y Colombia y la presencia de un HTLV-II propio de Sur-América en los indios colombianos (Levine y cols 1993; Cortes y cols 1989), nosotros realizamos este estudio clínico, de tipo transversal, para estudiar la frecuencia de anticuerpos en dos poblaciones asociadas con la infección por estos retrovirus: una cohorte de promiscuos sexuales y/o usuarios de drogas y pacientes adultos con neoplasias hematológicas.

MATERIALES Y METODOS

Selección de pacientes: Se seleccionaron dos grupos de pacientes, el primero constituido por todos los usuarios de drogas que fueron atendidos en la Fundación "José Félix Ribas" durante el año 2002. El criterio de inclusión en el estudio, de este grupo lo constituyeron al menos uno de los siguientes: promiscuidad sexual (definida como relaciones sexuales con dos ó más parejas en un mismo periodo de tiempo) y uso de drogas intravenosa (UDPS).

El segundo grupo estaba conformado por los pacientes que acudieron a la consulta del servicio de Hematología del Instituto Autónomo Hospital

Universitario de los Andes (IAHULA), durante el año 2003 y que tuvieron un diagnóstico de leucemia o linfoma del adulto, basados en criterios clínicos, morfológicos y en la mayoría de los casos, comprobados por citometría de flujo. Después de firmar la aceptación de participación en el estudio, los pacientes llenaron una encuesta. Posteriormente, se obtuvo una muestra de sangre periférica del antebrazo derecho. El suero, separado por centrifugación, se utilizó para detectar los anticuerpos contra el HTLV-I y HTLV-II.

Determinación de los anticuerpos contra los HTLVs:

Este test fue realizado usando el enzimoimmunoensayo Anti-HTLV-I/II EIA (Roche, Alemania). Consiste en un EIA indirecto de dos fases. Las partículas o esferas recubiertas con el antígeno recombinante 6xHia-env-93-HTLV, que reconoce los anticuerpos contra ambos virus, fueron incubadas con los sueros de los sujetos en estudio durante 30 minutos a 37 °C. Después de una serie de lavados, se añadió una anti-IgG humana de origen caprino acoplada a peroxidasa de rábano y se incubó en iguales condiciones. Transcurrido el tiempo de incubación y después de una serie de nuevos lavados, el substrato tetrametilbencidina (TMB) fue agregado y la reacción entre la enzima y el substrato permitió evidenciar los sueros reactivos al antígeno, midiendo la densidad óptica en un espectrofotómetro (Cobas Core, Roche, Alemania), usando una longitud de onda de 450 nm.

Western blot anti-HTLV: Las muestras positivas o indeterminadas en el test anterior fueron evaluadas mediante un western blot, de acuerdo a las instrucciones del estuche comercial (HTLV blot 2.4, Genelabs Technologies, Singapore). Las tiras de nitrocelulosa con antígenos fijados para ambos HTLVs (rgp46-I y rgp46-II), se incubaron con los sueros reactivos o indeterminados por el Anti-HTLV-I/II EIA, a una dilución de 1:200, durante 1 hora a 37 °C. Después de 5 lavados, las tiras se incubaron, en iguales condiciones, con un anticuerpo específico de la clase IgG, conjugado con la enzima fosfatasa alcalina. La solución reveladora de BCIP/NBT (5-bromo-4-cloro-3-indolil-fosfato/nitroazul de tetrazolium) permitió evidenciar la unión de los anticuerpos del paciente con la proteína específica para HTLV-I ó HTLV-II.

Análisis estadístico: Los datos obtenidos se clasificaron en dos categorías, a saber, negativos (N) y positivos (P) de acuerdo a los valores obtenidos usando al menos una de las técnicas descritas. Luego en tablas de 2x2 se calcularon los valores absolutos y porcentuales de las distintas variables usando el programa Epi-INFO 2000 versión 1.1.

RESULTADOS

Un total de 44 personas, con al menos un criterio de inclusión (promiscuidad sexual, uso de drogas y neoplasia hematológica de aparición tardía) para infección por HTLVs fueron estudiados.

La tabla I muestra las características del grupo I, constituido principalmente por promiscuos sexuales y algunos usuarios de drogas intravenosas (UDPS). De los 31 pacientes incluidos en este grupo, el 90,3% (28/31) perteneció al sexo masculino y 9,7% (3/31) al femenino, con un promedio de edad de 33 años \pm 10,53. Ninguno de los pacientes en este grupo manifestó síntomas y signos de alguna enfermedad relacionada con la infección por estos retrovirus. La promiscuidad sexual fue el factor de riesgo predominante en este grupo, constituyendo el 71% de los sujetos. El uso de drogas intravenosas correspondió al 25,8% y el 3,2% no tuvo ningún factor que elevara el riesgo de infección. El 74,2% del grupo consumía drogas de tipo inhalado o masticables.

Los datos obtenidos de la encuesta muestran que el 64,5% de este grupo, considerado de alto riesgo para infecciones virales transmitidas por contacto sexual y vía hematológica, desconocían su estatus de seropositividad para los virus B (VHB) y C (VHC) de la hepatitis y el de la inmunodeficiencia humana (HIV). De los casos con estatus serológico viral conocido para estos virus solamente uno era positivo para HIV (3,3%).

TABLA I

Distribución de los resultados en el grupo de usuarios de drogas.

VARIABLES	VALORES
Edad (promedio en años)	33 (\pm 10,5)
Sexo:	
Femenino	3
Masculino	28
Factores de riesgo:	
Promiscuidad sexual	22
UDIV	8
Transfusiones sanguíneas	0
Ninguno	1
ELISA Anti-HIV:	
Positivo	1
Negativo	10
Desconocido	20
ELISA Anti-HTLV I/II	
Positivo	0
Negativo	30
Indeterminado	1

Entre paréntesis la desviación estándar. UDIV: Usuario de drogas intravenosas
 ELISA: Enzimoimmunoensayo. HTLV: Virus linfotrópico de células T humanas.

La tabla II muestra la distribución de las variables en el grupo II, conformado por pacientes con leucemias y linfomas de aparición en la edad adulta. En este grupo estaban incluidos 6 mujeres y 7 hombres (total: 13 sujetos), con un promedio de edad de 43 años \pm 16,5. La neoplasia hematológica más frecuente fue el linfoma constituyendo el 61,5% del total y el resto correspondieron a leucemias. En este grupo, el 54% de los pacientes tenían antecedentes de transfusiones sanguíneas y el fenotipo celular predominante de la neoplasia era el de células T.

De las 44 pruebas anti-HTLV realizadas por EIA, 42 resultaron negativas y 1 indeterminada. Esta muestra indeterminada estuvo en el grupo I (UDPS). La prueba confirmatoria por western blot resulto negativa y el paciente se incluyó en el grupo de negativos para anticuerpos contra los HTLVs I/II.

TABLA II

Distribución de frecuencias en el grupo con Neoplasias Hematológicas.

VARIABLES	VALORES
Edad	43 (\pm 16,5)
Sexo:	
Femenino	6
Masculino	7
Factores de riesgo:	
Promiscuidad sexual	0
UDIV	0
Transfusiones sanguíneas	7
Ninguno	6
ELISA Anti-HIV:	
Positivo	0
Negativo	4
Desconocido	9
ELISA Anti-HTLV I/II	
Positivo	0
Negativo	13
Indeterminado	0

Entre paréntesis la desviación estándar. UDIV: Usuario de drogas intravenosas
 ELISA: Enzimoimmunoensayo. HTLV: Virus linfotrópico de células T humanas.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Los HTLVs se describieron a principios de los años 80 y desde entonces estudios epidemiológicos han sido realizados en distintas zonas geográficas, demostrándose que tienen una amplia y heterogénea distribución, que va desde zonas desarrolladas hasta áreas indígenas escasamente modificadas por fenómenos migracionales y modernos. En la primera zona se realizó el estudio REDS, donde se evaluó la prevalencia de HTLV I/II en 1,7 millones de donantes

de sangre, de diferentes regiones de EUA. De esta muestra, 156 y 384 personas mostraron seropositividad para HTLV I y HTLV II, respectivamente (Murphy y cols 1999). Por otra parte, estudios realizados en 20 zonas indígenas, de Argentina y Paraguay, han evidenciado una tasa igualmente elevada, de infección por estos virus (Ferrer y cols 1996). Esto confirma la afirmación inicial en cuanto a la distribución amplia de esta familia de retrovirus.

En este estudio nosotros buscamos la presencia de anticuerpos contra los HTLV I y II en dos poblaciones en riesgo para la infección, ya que la región de Mérida se encuentra cercana a varios focos infecciosos localizados en ciertas áreas de Brasil, Guajiras colombiana y venezolana. Debido a que constantemente ocurren migraciones entre estas regiones, estos fenómenos podrían introducir nuevos agentes infecciosos que inicialmente no estaban descritos en esta región andina. En relación con esto, al menos en las dos cohortes estudiadas no encontramos evidencia serológica, dada por la ausencia de anticuerpos séricos contra estos virus, de infección por este grupo de patógenos.

Sin embargo, los virus HTLVs han sido reportados en ciertas regiones de Venezuela. En Caracas, la prevalencia de HTLV-I es del 1% en tanto que, para el Amazonas y el estado Zulia se eleva al 13% (Merino y cols 1984). También se han descrito casos de infección por HTLV-I en la isla de Margarita (de Batanjer y cols 1998). En relación con el HTLV-II, la prevalencia en áreas indígenas puede llegar hasta 5%, dependiendo de la zona de estudio (Echeverría de Perez y cols 1993).

A pesar de la presencia demostrada de los HTLVs en Venezuela, los grupos de riesgo estudiados en este trabajo, pertenecientes a la región andina, no han sido infectados por estos patógenos. Actualmente estamos evaluando la presencia de anticuerpos anti-HTLV I/II en donantes voluntarios sanos, de dos bancos de sangre de esta región para detectar la presencia de posibles casos de infección.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Blattner WA, Takatsuki K, Gallo RC. 1983. **HTLV and adult T-cell leukemia.** JAMA 250:1074-1080.
- Bonis J, Verdier M, Dumas M, Denis F. 1994. **Low HTLV-II seroprevalence in Africa.** J Infect Dis 169:225-227.
- Cortes E, Detels R, Aboulafia D, Li XL, Moudgil T, Alam M, Bonecker C, Gonzaga A, Oyafuso L, Tondo M. 1989. **HIV-1, HIV-2 and HTLV-I infection in high risk groups in Brazil.** N Eng J Med 320:953-958.
- de Batanjer EC, de Perez GE. 1998. **HTLV I/II seroprevalence in gay men and female sex workers on**

Margarita island, Venezuela. Rev Soc Bras Med Trop 4:391-393.

Dueñas-Barajas E, Bernal J, Vaught D, Briceño I, Duran C, Yanagihara R, Gajdusek D. 1992. **Coexistence of human T-cell lymphotropic virus type I and II among Wayuu Indians from the Guajira region of Colombia.** AIDS Res Hum Retroviruses 8:185-195.

Echeverría de Perez G, Leon-Ponte M, Noya O, Botto C, Gallo D, Bianco N. 1993. **First description of endemic HTLV-II infection among Venezuelan Amerindians.** J Acquir Immune Defic Syndr 6:1368-1372.

Ferrer JF, Esteban E, Dube S, Basombrio MA, Segovia A, Peralta-Ramos M, Dube DK, Sayre K, Aguayo N, Hengst J, Poiesz BJ. 1996. **Endemic infection with human T cell leukemia/lymphoma virus type IIB in Argentinean and Paraguayan Indians: epidemiology and molecular characterization.** J Infect Dis 174:944-953.

Gessain A, Barin F, Vernant JC, Gout O, Maurs L, Calender A, de Thé G. 1985. **Antibodies to Human T-Lymphotropic Virus Type-I in patients with tropical spastic paraparesis.** Lancet 2:407-410.

Heneine W, Kaplan J, Gracia F, Lal RB, Roberts B, Levine P, Reeves W. 1991. **HTLV-II endemicity among Guaymi Indians in Panama** (letter). N Eng J Med 324:565.

Hollberg P, Hafler DA. 1996. **Human T-cell lymphotropic virus type I.** En: Los retrovirus. Soriano edit. Jhon Wiley and Sons Ltd. Engalnd. P. 33-36.

LaGrenade L, Hanchard B, Fletcher V, Cranston B, Blattner W. 1990. **Infective dermatitis of Jamaican children: a marker for HTLV-I infection.** Lancet 336:1345-1347.

Levine P, Jacobson S, Elliott R, Cavallero A, Colclough G, Dorry C, Stephenson C, Knigge R, Drummond J, Nishimura M, Taylor M, Wiktor S, Shaw G. 1993. **HTLV-II infection in Florida Indians.** AIDS Res Hum Retroviruses 9:123-127.

Merino F, Robert-Gurrof M, Clark J, Biondo-Bracho M, Blattner WA, Gallo RC. 1984. **Natural antibodies to human T cell leukemia/lymphoma virus in healthy Venezuelan populations.** Int J Cancer 34:501-506.

Mochizuki M, Watanabe T, Yamaguchi K, Takatsuki K, Yoshimura K, Shirao M, et al. 1992. **HTLV-I uveitis: a distinct clinical entity caused by HTLV-I.** Jpn J Cancer Res 82:236-239.

Murphy E, Watanabe K, Nass C, Ownby H, Williams A, Nemo G. 1999. **Evidence among blood donors for a 30-year-old epidemic of human T lymphotropic virus type II infection in the United States.** J Infect Dis 180:1777-1783.

Soriano V, Lahoz-González J. 1999. **Manual de SIDA.** Soriano edit. Panamericana. Madrid. España. P.135-148.

Uchiyama T, Yodoi J, Sagawa K, Takatsuki K, Uchino H. 1977. **Adult T-cell leukemia: Clinical and hematologic features of 16 cases.** Blood 50:481-492.