

Tesis Doctoral

# Virus linfotrópico T-humano tipo 1 y 2 (HTLV-1/2): optimización del diagnóstico y epidemiología molecular en distintas poblaciones de Argentina

Berini, Carolina Andrea

2010

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Berini, Carolina Andrea. (2010). Virus linfotrópico T-humano tipo 1 y 2 (HTLV-1/2): optimización del diagnóstico y epidemiología molecular en distintas poblaciones de Argentina. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

Cita tipo Chicago:

Berini, Carolina Andrea. "Virus linfotrópico T-humano tipo 1 y 2 (HTLV-1/2): optimización del diagnóstico y epidemiología molecular en distintas poblaciones de Argentina". Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2010.

**EXACTAS** UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



**UBA**

Universidad de Buenos Aires



**UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES**  
**Facultad de Ciencias Exactas y Naturales**  
**Departamento de Química Biológica**

**VIRUS LINFOTRÓPICO T- HUMANO TIPO 1 Y 2 (HTLV-1/2):  
OPTIMIZACIÓN DEL DIAGNÓSTICO Y EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR  
EN DISTINTAS POBLACIONES DE ARGENTINA**

Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires  
en el área de Química Biológica

**Lic. Carolina Andrea Berini**

DIRECTOR DE TESIS: Dra. Mirna Marcela Biglione

DIRECTOR ASISTENTE: Dra. María de los Ángeles Pando

CONSEJERA DE ESTUDIOS: Dra. Nélida Candurra

LUGAR DE TRABAJO: Centro Nacional de Referencia para el SIDA (CNRS),  
Departamento de Microbiología, Parasitología e Inmunología,  
Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires

Buenos Aires

26 de Febrero de 2010

**VIRUS LINFOTRÓPICO T- HUMANO TIPO 1 Y 2 (HTLV-1/2):  
OPTIMIZACIÓN DEL DIAGNÓSTICO Y EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR  
EN DISTINTAS POBLACIONES DE ARGENTINA**

El objetivo principal de esta tesis es ampliar los conocimientos sobre el diagnóstico, la prevalencia y la epidemiología molecular del HTLV-1/2 y brindar datos que permitan un diagnóstico más eficiente en Argentina. Con tal fin, se analizaron equipos de tamizaje frecuentemente utilizados en nuestro país, y se demostró la importancia de confirmar los resultados seroindeterminados por WB mediante una técnica molecular para obtener un diagnóstico final.

En cuanto a la prevalencia de HTLV-1/2 en las distintas poblaciones estudiadas, hemos demostrado que ambos virus se encuentran circulando con prevalencias altas en poblaciones de riesgo y bajas en las de no riesgo en la mayor parte del país, manteniendo la característica epidemiológica de su restricción étnico/geográfica ya demostrada. Es por ello, que debemos considerar también el riesgo de infección en aquellos casos que presenten antecedentes de riesgo como, por ejemplo, haber nacido, ser descendientes o haber sido pareja sexual de individuos provenientes de áreas endémicas.

Mediante estudios filogenéticos se demostró que todas las cepas estudiadas del HTLV-1, resultaron subtipo a subgrupo A, mientras que para el HTLV-2 el subtipo b fue el mayoritario ambos en poblaciones no originarias sugiriendo que estos subtipos han sido introducidos en nuestra población caucásica a partir de la interacción con comunidades originarias.

**Palabras clave:** HTLV-1/2, Diagnóstico, WB indeterminados, Epidemiología, Filogenia

**HUMAN T-CELL LYMPHOTROPIC VIRUS TYPES 1 AND 2 (HTLV-1/2):  
DIAGNOSIS OPTIMIZATION AND MOLECULAR EPIDEMIOLOGY IN  
DIFFERENT POPULATIONS OF ARGENTINA**

The main objectives of this thesis work were to widen the knowledge about the molecular epidemiology of HTLV-1/2 infection in Argentina and to collaborate with the implementation of an optimal algorithm for its diagnosis. Therefore, different commercial kits frequently used in blood banks along South America were analyzed, showing their efficiency and demonstrating that the further molecular confirmation of seroindeterminate results by WB is an important tool for obtaining a final diagnosis and the real serostatus of this infection.

Regarding the prevalence of HTLV-1/2 in the different study populations, we demonstrated that both circulating viruses have high prevalence in at-risk populations and low prevalence in non at-risk populations in most of the country, maintaining the epidemiologic characteristics according to the ethnic/geographic restriction areas already demonstrated. In relation to HTLV-1/2 infection risk, this data should be considered especially in the cases that have risk antecedents such as being born, being descendent or being a sexual partner of an individual coming from endemic areas.

As for HTLV-1 phylogeny, all the circulating strains belong to subtype a subgroup A while for HTLV-2 the major subtype in non-aboriginal populations was b suggesting that these subtypes (HTLV-1aA and HTLV-2b) have been introduced to the general population due to closer interactions with aboriginal communities.

**Key words:** HTLV-1/2, Diagnosis, Indeterminate WB, Epidemiology, Phylogeny.

## AGRADECIMIENTOS

---

*Al Dr. Horacio Salomón, Director del CNRS, por haberme aceptado como integrante del grupo y a todo el personal del mismo cuyo trabajo contribuyó al desarrollo de ésta tesis.*

*A las Dras. María Mercedes Ávila y Liliana Martínez Peralta por haber estado siempre dispuestas a ayudarme en lo que necesitara.*

*A la Dra. María Mercedes Weissenbacher por sus valiosísimos consejos y correcciones.*

*A Daniel Rabinovich por sus sugerencias y chistes diarios que colmaron de alegría mis días de trabajo.*

*A María de los Angeles Pando por su atenta dedicación y constante contribución para el desarrollo de esta tesis.*

*A Sergio Mazzini por la ayuda que me brindó a diario y por las innumerables correcciones de inglés de las publicaciones que surgieron de esta tesis.*

*A Mirta Villa, Claudio Gómez, Sebastián Aleandro, Ricardo Casime y a todo el personal de atención a pacientes por su calidez y ser una parte fundamental en el desarrollo de esta tesis.*

*A María Esther, Irma, Nico, Daniel, Fer y Rubén por haberme abierto la puerta tempranito a la mañana las mil y una veces que me olvidé las llaves y la tarjeta, y por ser un eslabón fundamental en el laboratorio.*

*A todos los colegas que formaron parte los estudios multicéntricos en las diferentes provincias del país, por el entusiasmo y la pasión con la que llevaron adelante los trabajos.*

*A María Noe García, María Sol dos Ramos Farías, Constanza Espada por tener la suerte de conocerlas, compartir nuestras jornadas laborales, panquequeadas, comilonas y por apoyarme incansablemente a diario.*

*A María Emilia Eirin por haber encontrado una compañera con quien compartir no solo el grupo de trabajo, sino también vacaciones, momentos buenos y no tantos, y miles de experiencias que nos hacen crecer como profesionales y como personas.*

*A los Dres. Antoine Gessain y Mirdad Kazanji por su interés en nuestros trabajos, su apoyo económico, las largas charlas de trabajo y los divertidísimos momentos pasados en los congresos.*

*Un agradecimiento especial a la Dra. Mirna Biglione por haber confiado en mí desde el principio, haberme proporcionado la guía y las herramientas necesarias para comenzar mi carrera profesional, darme la oportunidad de desarrollar esta tesis, y por su incansable dedicación.*

*mis amados esposo e hijos,  
Lucas, Alain y el pequeñín que está en camino,  
por ser los soles de mis días, llenarme de felicidad  
y tener la dicha de disfrutar nuestras vidas juntos.*

## ABREVIATURAS

---

**Abreviatura:** significado en español/ significado en inglés

**ADN:** ácido desoxiribonucleico

**ADNc:** ácido desoxiribonucleico complementario

**Anti- HBC:** anticuerpos anti core del virus de la Hepatitis B.

**AP:** aglutinación de partículas

**ARN:** ácido ribonucleico

**ATL:** leucemia a células T del adulto/ adult T cell leukemia

**ATLV:** virus de la leucemia a células T del adulto

**CDC:** centros de control de enfermedades/ centers for disease control

**c-fos:** proto-oncogen

**CMSP:** células mononucleares de sangre periférica /periferic blood  
mononuclear cells

**DS:** donantes de sangre

**EDTA:** ácido etilendiaminetetracético/ ethylenediaminetetraacetic acid

**ELISA:** enzimo inmuno ensayo/ enzyme-linked immunosorbent assay

**ETS:** pacientes com enfermedades de transmisión sexual

**FDA:** administración de alimentos y drogas/ food and drugs administration

**GLUT:** transportador de glucosa

**GMCSF:** factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos/  
granulocyte-macrophage colony-stimulating factor

**gp:** glicoproteína

**HAI:** hemaglutinación indirecta

**HAM/TSP:** mielopatía asociada al HTLV-1/ paraparesis espástica tropical/  
HTLV-1 associated mielopathy/ tropical spastic paraparesis

**HBV:** virus de la hepatitis B/ hepatitis B virus

**HBsAg:** antígeno de superficie del virus de la hepatitis B

**HCV:** virus de la hepatitis C/ hepatitis C virus

**HERN:** red de investigación europea de HTLV/ HTLV European research network

**HGIP:** patrón HTLV-1 Gag indeterminado/ HTLV-1 Gag indeterminate pattern

**HIV-1:** virus de la inmunodeficiencia humana/ human immunodeficiency virus

**HLA:** antígeno leucocitario humano/ human leukocyte antigen

**HSPGs:** proteoglicanos de heparán sulfato/Heparan sulfate proteoglycans

**HSH:** hombres que tienen sexo con hombres

**HTLV:** virus linfotrópico T humano/ human lymphotropic T cell virus

**IC:** intervalo de confianza

**Ig:** inmunoglobulina

**IL:** interleuquina

**IL-R:** receptor de interleuquina

**Kb:** kilobases

**Kd:** kilodalton

**LCR:** líquido cefalorraquídeo

**LIA:** inmunoensayo en línea/ line-immunoassay

**LR:** tasa de probabilidad/ likelihood ratio

**LTR:** repetición terminal larga/ long terminal repeat

**ML:** máxima probabilidad/ maximum likelihood

**NJ:** vecino más cercano/ neighbour joining

**NRP-1:** neuropirina-1

**OMS:** organización mundial de la salud

**ONG:** organización no gubernamental

**OR:** razón de momios/ odds ratio



**ORF:** marco de lectura abierto/open reading frame

**p:** proteína

**pb:** pares de bases

**PCR:** reacción en cadena de la polimerasa/ polymerase chain reaction

**PET:** paraparesia espástica tropical

**PTLV:** virus linfotrópico T de primates/ primate T cell lymphotropic virus

**rgp:** glicoproteína recombinante

**RIBA:** ensayo de inmunoblot recombinante/ recombinant immunoblotting assay

**RRE:** elemento de respuesta a Rex/ Rex responsive element

**SNC:** sistema nervioso central

**STLV:** virus linfotrópico T de simios/ simian lymphotropic T cell virus

**SIDA:** síndrome de inmunodeficiencia adquirida

***T. cruzi:*** *Trypanosoma cruzi*

***T. gondii:*** *Toxoplasma gondii*

***T. pallidum:*** *Treponema pallidum*

**TB:** pacientes con diagnóstico de tuberculosis

**TBE:** solución de tris- borato-EDTA

**TMH:** transmisión madre-hijo

**TNF:** factor de necrosis tumoral/ tumor necrosis factor

**TPHA:** prueba de hemoaglutinación del *Treponema pallidum*/ *Treponema pallidum* hemagglutination assay

**TS:** trabajadoras sexuales

**UDI:** usuario de drogas inyectables

**UV:** rayos ultravioletas

**VDRL:** prueba de laboratorio para enfermedades venéreas/ venereal disease research laboratory test

**WB:** western blot

## INTRODUCCIÓN

<b>Virus Linfotrópico T Humano (HTLV)</b>	1
Un poco de historia	1
Clasificación	2
Estructura de la partícula viral	3
Estructura genómica	5
Replicación viral	9
Vías de transmisión	12
<b>Virus Linfotrópico T Humano tipo 1 (HTLV-1)</b>	14
Características generales	14
Epidemiología	15
Enfermedades asociadas	17
Leucemia a Células T del Adulto (ATL)	18
Mielopatía Asociada al HTLV-1 o Paraparesia Espástica Tropical (HAM/TSP)	21
Filogenia	23
<b>Virus Linfotrópico T Humano tipo 2 (HTLV-2)</b>	24
Características generales	24
Epidemiología	25
Enfermedades asociadas	28
Filogenia	29
<b>Virus Linfotrópico T Humano tipo 3 y 4 (HTLV-3/4)</b>	30
Características generales	30

<b>Epidemiología del HTLV-1/2 en Argentina</b>	32
<b>Diagnóstico de infección por HTLV-1/2</b>	33
<b>Resultados indeterminados por Western Blot (WB)</b>	36
<b>Virus de la Inmunodeficiencia Humana tipo 1(HIV-1)</b>	37
<b>Virus de la Hepatitis B (HBV)</b>	39
<b>Virus de la Hepatitis C (HCV)</b>	40
<b><i>Trypanosoma cruzi (T. cruzi)</i></b>	42
<b><i>Treponema pallidum (T. pallidum)</i></b>	43
<b>OBJETIVOS</b>	45
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>	48
Población estudiada	49
Consideraciones éticas	51
Obtención de plasma	51
Obtención de células mononucleares de sangre periférica (CMSP)	52
Extracción de ácidos nucleicos	52
Diagnóstico de la infección por HTLV-1/2	52
Tamizaje de anticuerpos anti- HTLV-1/2	52
Confirmación por WB	53
Diagnóstico molecular de casos HTLV no tipificados e indeterminados por WB mediante nested- PCR	53
Visualización de bandas	55
Secuenciación	55
Análisis filogenético	56
Diagnóstico de la infección por HIV-1	56
Serología para la infección por el virus de la hepatitis B (HBV)	57

Serología para la infección por el virus de la hepatitis C (HCV)	57
Serología para la infección por <i>Trypanosoma cruzi</i> ( <i>T. cruzi</i> )	58
Diagnóstico para la infección por <i>Treponema pallidum</i> ( <i>T. pallidum</i> )	58
Análisis estadísticos	58
<b>RESULTADOS</b>	60
Capítulo 1: Diagnóstico de la infección	61
Comparación de ensayos comerciales de tamizaje	61
Detección molecular de HTLV-1/2	66
Capítulo 2: Estudios epidemiológicos	70
Donantes de sangre	70
Mujeres embarazadas	73
UDIs, TS, HSH, TB y ETS	76
Capítulo 3: Caracterización molecular y filogenia	82
Análisis filogenético de HTLV-1	82
Análisis filogenético de HTLV-2	86
<b>DISCUSIÓN</b>	90
Capítulo 1: Diagnóstico de la infección	91
Capítulo 2: Estudios epidemiológicos	92
Capítulo 3: Análisis filogenético	107
<b>CONCLUSIONES</b>	112
<b>REFERENCIAS</b>	115
<b>PUBLICACIONES</b>	135

## INTRODUCCIÓN

---

## VIRUS LINFOTROPICOS T HUMANOS (HTLVs)

### Un poco de historia

Durante la década de los ´70 se describió por primera vez la existencia de la enzima transcriptasa reversa, la cual tiene un mecanismo de acción diferente a las polimerasas celulares siendo capaz de sintetizar ácido desoxiribonucleico (ADN) a partir de ácido ribonucleico (ARN) [1]. Desde entonces, se comenzó a investigar la presencia de retrovirus en humanos, búsqueda que culminó en 1980 con el primer aislamiento del HTLV-1 a partir de un paciente norteamericano de raza negra que padecía un linfoma cutáneo T [2]. El descubrimiento de la interleuquina-2 (IL-2) fue fundamental para este hallazgo ya que su empleo permitió mantener linfocitos humanos en cultivo y establecer líneas celulares humanas [3]. Posteriormente, en 1982 se descubrió el HTLV-2, segundo retrovirus humano, aislado a partir de un paciente norteamericano que padecía una leucemia T atípica a tricoleucocitos [4] .

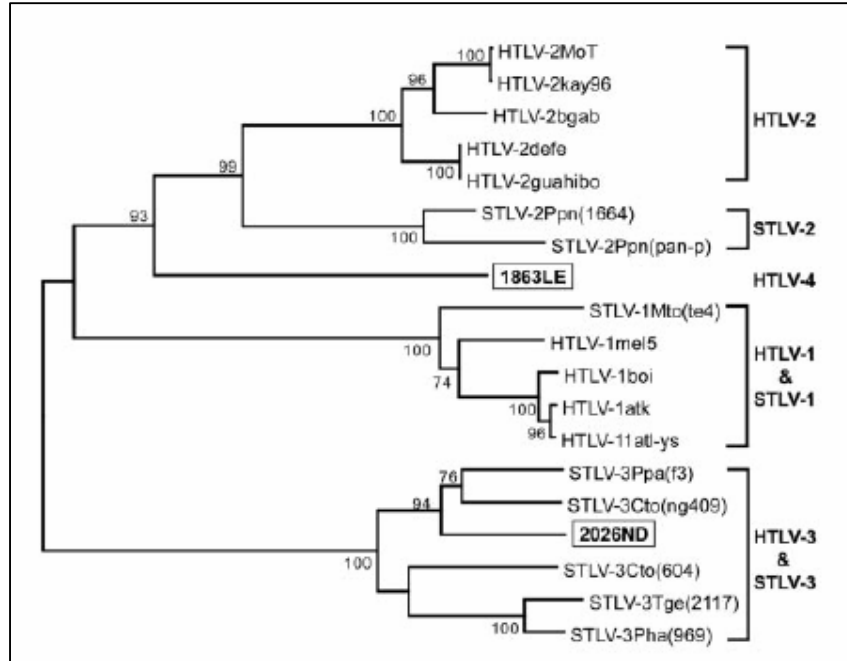
La clasificación actual de los retrovirus se basa en el análisis de la estructura genómica y en las homologías de las secuencias nucleotídicas de los mismos, hallándose así varios géneros formando parte de la familia *Retroviridae*. El HTLV se encuentra dentro del género *Deltaretrovirus*, que agrupa los virus exógenos que se caracterizan por la presencia de dos genes reguladores (*tax* y *rex*) que codifican para proteínas no estructurales importantes en la expresión del genoma y por carecer de oncogenes reconocidos pese a ser virus transformantes [5]. Los virus linfotrópicos, que infectan células T en el hombre (HTLV-1, HTLV-2, HTLV-3 y HTLV-4), son retrovirus que exhiben características comunes a los demás integrantes de la familia *Retroviridae*, tales como llevar la información genética bajo la forma de

ARN; poseer un genoma diploide organizado en tres genes estructurales principales (*gag-pol-env*) y dos regiones de secuencias repetitivas terminales largas idénticas (LTR), orientadas de la misma manera, en los extremos 5' y 3' y poseer la enzima transcriptasa reversa.

### **Clasificación**

Los virus linfotrópicos T de primates (PTLVs) comprenden a los virus linfotrópicos T humanos (HTLV) y a sus homólogos simianos, los virus linfotrópicos T simianos (STLV). El HTLV-1 y el STLV-1 pertenecen al grupo denominado PTLV-1. El STLV-1 es endémico en numerosas especies de simios y monos que habitan tanto África como Asia. El alto grado de homología entre el HTLV-1 y el STLV-1, permitió hipotetizar el surgimiento del HTLV-1 a través de eventos de transmisión interespecie. Dentro del grupo PTLV-2, compuesto por HTLV-2 y STLV-2, contrariamente a lo ocurrido en los PTLV-1, no se ha encontrado un homólogo humano cercano a las dos cepas descubiertas en chimpancés y bonobos africanos, lo que sugiere que la transmisión interespecie que ha resultado en la presencia del HTLV-2 actual, ha ocurrido en un pasado distante. Los virus STLV-3 divergen considerablemente tanto del HTLV-1 como del HTLV-2. Estos retrovirus son endémicos en numerosas especies de monos que habitan el este, centro y oeste de África. Recientemente, dos laboratorios independientemente han informado el descubrimiento de su homólogo humano, el HTLV-3 en 2 habitantes del sur de Camerún. Junto con el STLV-3, estos dos retrovirus pertenecen al grupo PTLV-3. Además, dentro del grupo PTLV-4, existe un cuarto tipo viral humano, el HTLV-4, que ha sido descubierto en el mismo área geográfica que el HTLV-3 y cuyo homólogo simiano aún no ha sido descrito

[6,7]. En la figura 1 se muestran las relaciones filogenéticas de los distintos PTLVs en base al análisis de la secuencia del gen que codifica para la porción del LTR.



**Figura 1.** Filogenia y clasificación de los virus linfotrópicos T de primates (PTLV) basados en el análisis de la región LTR. Adaptada de Switzer et al., 2006 [8].

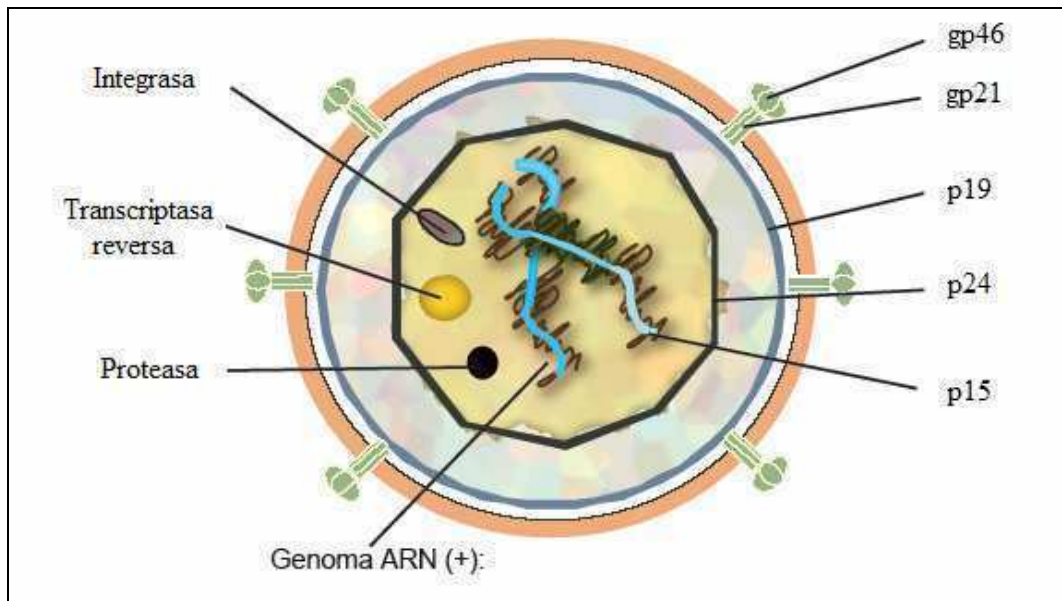
### Estructura de la partícula viral

El virión de los HTLVs es una partícula esférica de 80 a 110nm de diámetro, aproximadamente. Está formado por una nucleocápside icosaédrica protegida por una envoltura lipídica adquirida durante la brotación a partir de la membrana celular, la cual ha incorporado lípidos y proteínas de origen celular, entre ellas, las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad. En cuanto al componente proteico de origen viral, está representado por un multímero de dos proteínas que son el producto del gen *env*, las glicoproteínas gp46 externa y la gp21 de transmembrana (Figura 2). La primera es la que se adsorbe al receptor celular y tiene capacidad de producir la síntesis de anticuerpos neutralizantes en el huésped infectado. La segunda, mantiene al



complejo gp21-gp46 en la superficie del virión, y participaría en el proceso de fusión. Por dentro de la envoltura lipídica se encuentra la cápside externa, un poliedro de 60 caras triangulares, constituida por la proteína p19. Dicha proteína está miristilada en su extremo N terminal, lo que permite su anclaje al nivel de la membrana plasmática. Esta cápside contiene al *core* o núcleo interno viral, que se encuentra formado por una segunda cápside de proteína, p24, con propiedades hidrófobas. Ambas proteínas, la p19 y la p24, son productos del gen *gag*.

El *core* encierra el genoma a ARN junto con varias enzimas codificadas por el gen *pol* que son fundamentales para completar el ciclo viral. Entre ellas están la transcriptasa reversa con su actividad ADN polimerasa-ARN dependiente-ribonucleasa H, cuya función es generar un ADN complementario (ADNc) y desintegrar la cadena de ARN; la integrasa, cuya función es permitir la unión covalente del virus al ADN celular; y la proteasa con función proteolítica, necesaria para clivar las proteínas producto de los genes. El genoma viral consiste en dos moléculas idénticas de ARN monocatenario unidas a la vez a una proteína básica, la nucleoproteína p15, que es también codificada por el gen *gag* [9].

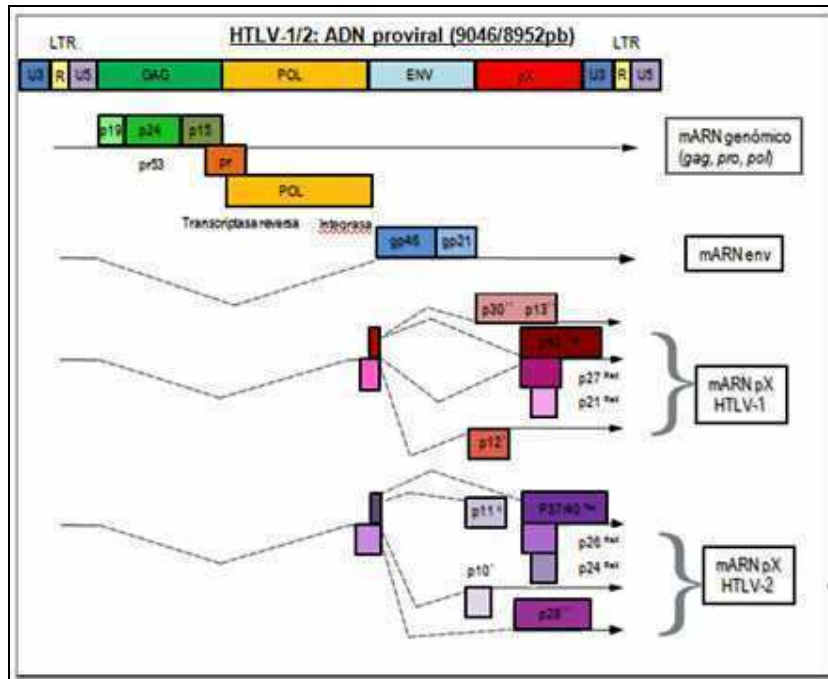


**Figura 2:** Estructura de la partícula viral del virus linfotrópico T humano. Cedido gentilmente por Nicolás Fernández Larrosa, de su tesis.

### Estructura genómica

El genoma de los HTLVs es de alrededor de 10kb de longitud, formado por moléculas de ARN modificadas según forma reminiscente de los ARN mensajeros celulares, incluyendo capsulamiento en el extremo 5' y poliadenilación en el extremo 3'. Como en todos los retrovirus, el genoma de los PTLVs presenta 3 genes estructurales codificadores de las proteínas virales de envoltura (*env*), cápside (*gag*) y polimerasas (*pol*), genes reguladores de la replicación viral y secuencias LTR en cada extremo.

El orden de los genes codificantes de proteínas estructurales es invariable: 5'*gag-pol-env* 3'. A diferencia de otros retrovirus más simples, los PTLVs poseen una región en su extremo 3' denominada pX, con varios marcos de lectura abiertos (ORFs por *opening reading frame*) conteniendo genes que codifican proteínas no estructurales, importantes para la regulación de la transcripción y replicación viral [10] (Figura 3).



**Figura 3.** Estructura genómica de los virus linfotrópicos T humanos (HTLVs).

En cuanto a los genes estructurales, *gag* codifica una poliproteína precursora de 53kd (p53), la cual es clivada por la proteasa viral en tres proteínas. Ellas son (según orden de traducción) la proteína de la matriz (p19), la de la cápside (p24), y la nucleoproteína (p15). La p24 es la que presenta mayor porcentaje de identidad (entre 85 y 91.6%) en su secuencia aminoacídica entre el HTLV-1, 2, 3 y 4; y es por lo tanto inmunológicamente responsable de la reactividad cruzada para los antígenos p24 que se observa en estos virus [11]. El gen *pro*, que codifica la proteasa, se encuentra superpuesto a los genes *gag* y *pol*, corresponde a un ORF de 703 nucleótidos que codifica la proteasa (14kd), que se genera por autoclivado. El gen *pol* codifica para la enzima transcriptasa reversa en el extremo amino-terminal y para la integrasa en el extremo carboxilo-terminal, ambas implicadas en la síntesis e integración del virus en el genoma del huésped en forma de provirus

[12]. Si bien no se conoce la estructura y conformación natural de la transcriptasa reversa de los HTLV, se sabe que la enzima no posee una actividad correctora (“proofreading”), existiendo la posibilidad de introducir errores en cada ciclo replicativo, y con ello, generar variabilidad genómica. El gen *env* codifica para una proteína precursora (gp61) de la envoltura, la que después de su digestión enzimática y glicosilación origina dos glicoproteínas, una de superficie (gp46) y una de transmembrana (gp21). Los genes reguladores, codifican para proteínas de regulación de la transcripción del ARN ( $p40^{Tax}$ ,  $p27^{Rex}$ ,  $p21^{Rex}$ ), las que probablemente desempeñen un papel en el establecimiento de la infección latente. Este región (pX), posee cuatro ORFs: el ORF-I codifica para la proteína p12<sup>I</sup> probablemente implicada en la transformación celular y que se uniría a las cadenas  $\beta$  y  $\gamma$  del receptor de la IL-2 interfiriendo en su transporte hacia la superficie celular; el ORF-II lo hace para las proteínas p13<sup>II</sup> y p30<sup>II</sup>; el ORF-III para p27<sup>Rex</sup> (o Rex) y p21<sup>Rex</sup> (molécula troncada de Rex) y el ORF-IV para p40<sup>Tax</sup> (o Tax). El gen *tax* codifica para una fosfoproteína de 40kd en el HTLV-1 ( $p40^{Tax}$ ) y de 37kd en el HTLV-2 ( $p37^{Tax}$ ), que permite la iniciación de la transcripción viral actuando en forma *trans* sobre el promotor viral TRE (*Tax Responsive Element*) y sobre promotores de algunos genes celulares [13]. No actúa directamente sobre el ADN viral o celular sino a través de intermediarios, tales como factores celulares de transcripción, entre ellos el NF- $\kappa$ B que actúa a nivel de promotores inducibles de citoquinas [14]. Tax es también transactivadora de promotores de genes celulares que codifican para proteínas implicadas en la activación, división y proliferación de células huéspedes, tales como la interleuquina 2 (IL-2), la cadena  $\alpha$  del receptor de la IL-2 (IL2-R), la vimentina,

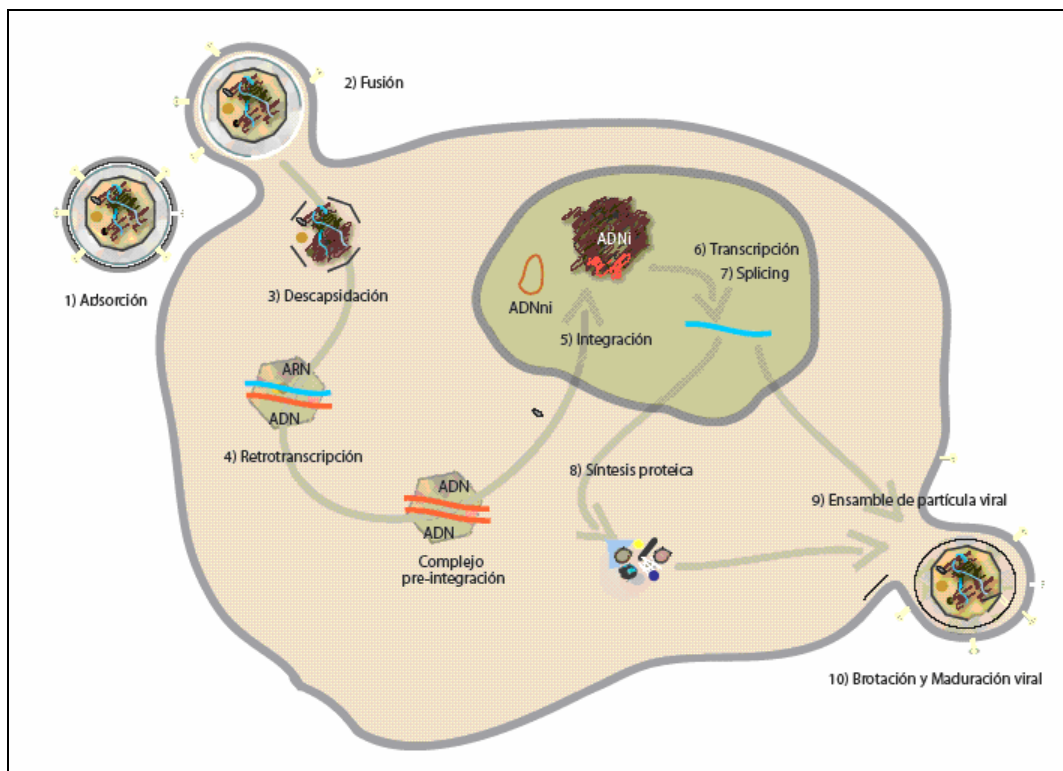
el factor estimulante de colonia de granulocitos y macrófagos (GMCSF), el proto-oncogen c-fos y el factor de necrosis tumoral (TNF). Esta función transactivadora de la proteína Tax constituye uno de los primeros factores virales de la leucogénesis. Además, se cree que Tax inhibe la expresión de la enzima polimerasa  $\beta$ , interviniendo en los procesos de reparación del ADN, y con ello perturbando la transcripción del ADN celular [15]. El gen *rex* se encuentra en el ORF III de la región pX y codifica para una proteína de 27kDa ( $p27^{Rex}$ ), que actúa de manera post-transcripcional, regulando la expresión de genes virales. Disminuye tanto su propia expresión como la de la proteína Tax al actuar directamente sobre la secuencia RRE (*Rex Responsive Element*) situada en el extremo 3' del LTR. La  $p27^{Rex}$ , de igual modo que *rev* en el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV-1), induce el pasaje de ARNs no clivados hacia el citoplasma e inhibe la expresión de los ARNs doblemente clivados, favoreciendo así la síntesis de proteínas virales estructurales [16]. El extremo carboxilo-terminal de *rex* codifica a una proteína de 21 kDa ( $p21^{Rex}$ ) aunque hasta el momento no se ha llegado a atribuirle función alguna.

Los LTRs se encuentran en cada extremo del genoma proviral, y son regiones no codificables que se dividen en U3, R y U5, siendo característicamente largas en el HTLV-1 (777pb para la cepa de referencia ATK-1) en comparación con otros retrovirus. Estos LTRs representan un elemento regulador esencial de la replicación viral ya que permiten la integración al genoma celular y contienen sitios de fijación para la ARN polimerasa. En cuanto a la región U3, posee la señal de poliadenilación, la caja TATA y tres repeticiones de una secuencia de 21pb llamadas TRE que corresponden a sitios de fijación para numerosos factores de transcripción de

origen celular y de proteínas virales, implicadas además en el control del nivel de transcripción del ARN viral mediado por Tax. A su vez, la región R contiene el sitio de iniciación de la transcripción, el sitio de poliadenilación y la mayor parte de la secuencia implicada en la formación de la estructura RRE [10].

## Replicación viral

El ciclo de replicación de los HTLVs, como en otros virus, puede dividirse en las siguientes etapas: adsorción, penetración de la nucleocápside, liberación del genoma, inserción del genoma, transcripción y producción de proteínas y genoma, ensamblaje, brotación y maduración (Figura 4).



**Figura 4.** Ciclo de replicación del HTLV-1/2. Cedido gentilmente por Nicolás Fernández Larrosa, de su tesis.

La primera etapa del ciclo de multiplicación viral, la adsorción, ocurre a través de receptores de superficie celular que reconocen a las glicoproteínas de la envoltura viral, principalmente la gp46. En el año 2003 se propuso al transportador 1 de la glucosa (GLUT-1) como receptor del HTLV-1/2, el cual se halla expresado en todas las superficies celulares de los vertebrados [17-21]. Hallazgos más recientes sugieren que el ingreso del HTLV-1 a la célula se halla mediado por la formación de un complejo ternario sobre la superficie celular formado por las proteínas de envoltura del virus, GLUT-1, proteoglicanos de heparán sulfato (HSPGs) y neuropilina-1 (NRP-1) [22]. Por su parte, el HTLV-3 se une eficientemente tanto a células CD4+ como CD8+. Luego del reconocimiento de las glicoproteínas de envoltura, la envoltura viral se fusiona con la membrana plasmática, lo que posibilita el ingreso de la nucleocápside al citoplasma. Ya en el citoplasma, por decapsidación, se libera el ARN viral. Este ARN genómico es copiado en una cadena simple de ADN por acción de la transcriptasa reversa viral dando lugar a un híbrido de poca estabilidad. El ARN es degradado por la ARNasa H, y a partir del ADN monocatenario se forma ADN doble cadena, el que es transportado al núcleo donde se integra al genoma celular por acción de la integrasa viral. El ADN viral integrado o provirus está ya en condiciones de ser transcrito a ARN genómico, aunque puede permanecer como tal tanto tiempo como la célula sea viable. Cabe señalar que los HTLVs no se integran en ningún locus específico sino que su integración es totalmente al azar [23,24].

La transcripción del provirus genera tres moléculas diferentes de ARNm. La de mayor tamaño, también llamado ARN genómico, puede ser utilizado para ser encapsidado dentro de las nuevas partículas virales o bien puede ser

traducido para producir un precursor (p55) de los genes *gag* y *pol* que luego de ser procesado produce tres proteínas: p19 (matriz), p24 (cápside) y p15 (nucleoproteína) [25]. Además, a partir de ese mismo ARNm es traducida la proteasa y la transcriptasa reversa. El segundo ARNm codifica el gen *env* del cual deriva un precursor de 61-69Kd, dependiendo el grado de glicosilación. Este precursor luego es procesado en dos productos finales: gp46 (superficie) y gp120 (transmembrana) [25]. Por último, un tercer ARNm codifica las proteínas de la región pX: p40<sup>Tax</sup>, p27<sup>Rex</sup> y p21<sup>Rex</sup> [25].

El ensamblaje de las proteínas y los ARNs genómicos tiene lugar en la proximidad de la membrana plasmática, donde previamente se han insertado las proteínas de envoltura ya glicosiladas. Esto posibilita que durante la brotación la progenie viral adquiera su envoltura con lípidos y proteínas pertenecientes a la célula huésped, entre ellas, las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad. Después de integrado como provirus al genoma celular, los HTLVs también pueden multiplicarse por expansión clonal de la célula huésped durante la división celular, siendo éste el mecanismo principal de replicación de éstos virus [24]. A diferencia del HIV-1 que posee una variabilidad genómica importante, los PTLVs son relativamente estables. Esta escasa variabilidad genética se debe principalmente a la ausencia o baja frecuencia de ciclos replicativos durante la infección persistente. Durante esta etapa, la única manera que tiene el virus de multiplicarse es mediante la expansión clonal de las células que hospedan al virus [26]. Esta baja variabilidad ha sido utilizada como herramienta molecular para una mejor comprensión del origen, evolución, y diseminación de estos retrovirus.



## Vías de transmisión

El HTLV-1/2 se transmite de madre a hijo (TMH), por contacto sexual, por vía parenteral y por trasplante de órganos [27]. Debido a que el HTLV-1/2 se disemina en el organismo por expansión clonal de las células infectadas y sinapsis viral, raramente se encuentra virus libre en plasma. Es así, como la forma que presenta mayor infectividad es la del virus asociado a células.

✚ Transmisión Madre a Hijo (TMH): estudios epidemiológicos realizados en Japón demostraron que en áreas endémicas para el HTLV-1, la transmisión madre-hijo ocurre principalmente por leche materna [28]. Hino y colaboradores establecieron que se infectan alrededor del 25% de niños de madres seropositivas que amamantan por más de 12 meses, mientras que sólo se infecta por vía transplacentaria o perinatal un 2-5% de los niños que no fueron amamantados [29]. En todos los casos, la seroconversión de los niños ocurre entre los 18 y 24 meses de edad [29]. También se han reportado casos de transmisión vertical del HTLV-2 en comunidades originarias de África y América del Sur [28,30,31]. En consecuencia, la lactancia del niño a partir de una madre HTLV-1/2 seropositiva es un factor de alto riesgo para la transmisión vertical y el riesgo aumenta en función de la prolongación de la lactancia especialmente si es superior a los 6 meses [32,33].

✚ Transmisión sexual: el HTLV-1 se encuentra en fluidos como el semen o secreciones vaginales. La transmisión sexual es más eficiente de hombre a mujer y de hombre a hombre, que de mujer a hombre [34]. Se estima que la posibilidad de transmisión hombre-mujer en una pareja estable al menos por 10 años, es de 60,8%, mientras que a la inversa esta probabilidad se reduce al 0,4% [35]. En un estudio realizado en los EEUU, se observó que

aproximadamente 25 a 30% de las parejas sexuales de donantes de sangre HTLV-1/2 seropositivos sin otro antecedente de riesgo, también estaban infectados [36]. Otro factor coadyuvante a tener en cuenta que facilita la infección y la transmisión es la presencia de enfermedades de transmisión sexual, tanto para hombres como para mujeres [37,38]. Por otra parte, el nivel de anticuerpos anti-Tax de la persona infectada y la carga proviral estarían también correlacionadas con el riesgo de transmisión [36,39]. En cuanto a la donación de semen, estudios realizados *in vitro* demostraron la capacidad del fluido seminal de transmitir el HTLV-1 [40]. Pero hasta el momento no hay reportes que indiquen infección directa de espermatozoides. Es así, como la transmisión sexual se llevaría a cabo por los linfocitos infectados presentes en el fluido seminal.

✚ Transmisión parenteral: ocurre por transfusión sanguínea o intercambio de agujas y jeringas entre usuarios de drogas inyectables (UDIs). La transmisión parenteral ocurre con mayor eficiencia si se transfunden componentes celulares (eritrocitos, linfocitos, plaquetas) o sangre entera. En un estudio retrospectivo en Japón se demostró que el 63,4% de los receptores de sangre entera o de productos sanguíneos conteniendo células de donantes HTLV-1 seropositivos, desarrollaba anticuerpos anti-HTLV-1 consecutivamente a la transfusión [41,42]. También para el HTLV-2, se ha reportado infección luego de transfusiones de productos sanguíneos celulares contaminados [43].

✚ Transmisión por trasplante: Estudios realizados en Estados Unidos, han observado que si bien las prevalencias de infección por HTLV son mas bajas en donantes de tejidos que en la población en general existe el riesgo de adquirir la infección a partir de trasplante de órganos. Además, algunos

autores sugieren incluir técnicas moleculares con el fin de reducir el riesgo de infección para el receptor. Hay reportes sobre receptores de órganos tales como médula ósea, hígado y riñón, con serología negativa previa al trasplante, que seroconvirtieron luego de recibir el órgano desarrollando la mielopatía asociada al HTLV-1 o paraparesia espástica tropical (HAM/TSP) y leucemia a células T del adulto (ATL) [44-47].

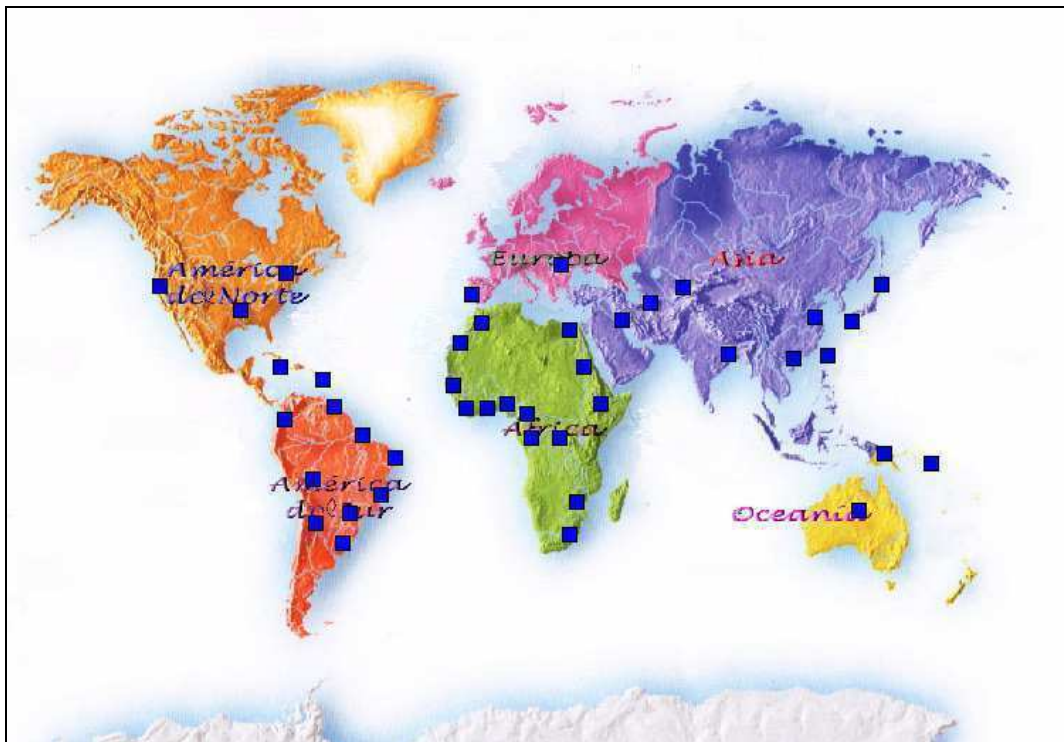
## **VIRUS LINFOTRÓPICO T HUMANO TIPO 1 (HTLV-1)**

### **Características generales**

El HTLV-1, primer oncoretrovirus humano descrito, fue aislado por dos grupos de investigadores en forma independiente. En 1980 Poiesz y colaboradores recuperaron al HTLV-1 de una línea celular de linfoblastos, la HUT 102, establecida a partir de una biopsia ganglionar de un paciente de raza negra de Estados Unidos que padecía un linfoma cutáneo T [2]. Este aislamiento fue denominado HTLV por virus linfotrópico T humano. En 1981 Yoshida y colaboradores lograron otro aislamiento en Japón a partir de una línea celular, la MT1, que fuera establecida con células de sangre periférica de un paciente con una peculiar leucemia T llamada leucemia a células T del adulto (ATL) [48]. Este virus, entonces llamado ATLV por virus de la leucemia a células T del adulto, era similar al virus linfotrópico T humano previamente descrito y pasó luego a ser denominado HTLV-1 [49]. En 1983, Seiki logró la secuencia completa del virus aislado del paciente japonés, la que fue identificada como HTLV<sub>ATK-1</sub>, constituyendo la primera secuencia de referencia para este retrovirus [50].

## Epidemiología

El HTLV-1 se encuentra diseminado en gran parte del mundo afectando aproximadamente entre 15 y 25 millones de personas (Figura 5) [51]. Existen regiones endémicas con cifras muy elevadas ( $\geq 15\%$ ) para esta infección en Japón, especialmente en las islas del sudoeste, y en algunas áreas de África, así como en Melanesia y en las islas Seychelles [51]. Se encontraron endemias con cifras intermedias (5-14%) en el Caribe y algunas regiones de África Occidental, y con cifras bajas ( $<5\%$ ) en Australia y algunos países latinoamericanos como Colombia, Perú, Panamá, Brasil, Chile y Argentina [52-55]. La seroprevalencia aumenta con la edad y es mayor en mujeres que en hombres.



**Figura 5:** Distribución mundial de HTLV-1

La prevalencia del HTLV-1 en donantes de sangre de diferentes países del mundo varía según la región geográfica estudiada. Así, existen áreas endémicas como Japón donde la prevalencia en donantes de sangre llegó a ser de 13.14%, Martinica entre 3-5% y en Trinidad y Tobago de 1.5% [56-58]. Por otro lado, en áreas no endémicas se reportaron prevalencias de HTLV-1 de 0.01% en Estados Unidos, 0.03% en Canadá, 0.002% en Noruega, 0.003 en Francia y 0.0056% en Grecia [59-64]. En cuanto a Sudamérica, la prevalencia de HTLV-1 en donantes de sangre de Argentina, Brasil, Colombia y Perú, dependiendo del área estudiada, puede llegar hasta el 2%; considerándose éstas como áreas de prevalencia baja [65-69].

Los primeros estudios para detectar la infección por este virus en mujeres embarazadas se realizaron en Japón, país de alta endemicidad, donde se reportaron cifras de prevalencia de hasta el 7.1% en el año 1989 [70]. Pero el Programa de Prevención de ATL que implementaron desde 1987 y que incluye a esta población disminuyó la tasa de transmisión madre-hijo del 20% al 3% [71]. Entre las medidas de prevención se sugiere no amamantar si son madres HTLV-1 seropositivas, como actualmente recomienda el Centro de Control de Enfermedades de Estados Unidos (CDC). Estudios realizados en países endémicos del continente americano en embarazadas saludables de bajo riesgo, mostraron una prevalencia de HTLV-1 de 1,93% en Martinica [72], mientras que en mujeres de origen Quechua de Cuzco y Quillabamba de Perú se detectó un 2,3% [73]. En Salvador, Bahía, Brasil, 0,7% a 0,88% de mujeres embarazadas de bajo nivel socio económico son HTLV-1 positivas [74]. Estudios más recientes en mujeres embarazadas realizados en países no endémicos de Europa, demostraron que la prevalencia del HTLV-1/2 no

superaba el 0.02% y además era 6 veces mayor que en donantes de sangre de la mismo área [75].

En poblaciones de UDIs se observaron seroprevalencias para HTLV-1 que llegan hasta el 30%, según la región estudiada [76]. Así, en UDIs de Europa y Estados Unidos la prevalencia de este retrovirus no supera el 0.3% contrariamente a lo que ocurre en Brasil donde el HTLV-1 es el tipo viral más frecuente en esta población (12.6%) [77-80]. En cuanto a las trabajadoras sexuales mujeres (TS), en países donde el HTLV-1 es endémico como Japón, Zaire, Perú y Brasil la prevalencia varía de 2.8% a 7.3% mientras que en áreas no endémicas como España y Singapur, la prevalencia no supera el 0.6% [38,81-85]. Por otro lado, los hombres que tienen sexo con hombres (HSH) presentan prevalencias de HTLV-1 que concuerda con las áreas de endemicidad para este retrovirus siendo, por ejemplo, de 1.8% en Perú mientras que en Europa y estados Unidos no supera el 0.4% [86-88].

### **Enfermedades asociadas**

El HTLV-1 es el causante etiológico de una enfermedad neurológica llamada mielopatía asociada al HTLV-1 o paraparesia espástica tropical (HAM/TSP), y una de naturaleza hematológica denominada Leucemia a Células T del Adulto (ATL) aunque la mayoría de los portadores de éste virus permanecen asintomáticos a lo largo de sus vidas [89-93]. Hasta el momento no se ha demostrado la existencia de una cepa viral neuropatogénica o leucemogénica ni se ha podido relacionar la variabilidad genética de aislamientos virales con el desarrollo de alguna de las enfermedades asociadas. Se estima que éstas patologías serían el producto de una conjunción de la carga proviral del inóculo, factores genéticos del huésped

como el haplotipo del antígeno leucocitario humano (en inglés, HLA) y la variabilidad genética del virus [94].

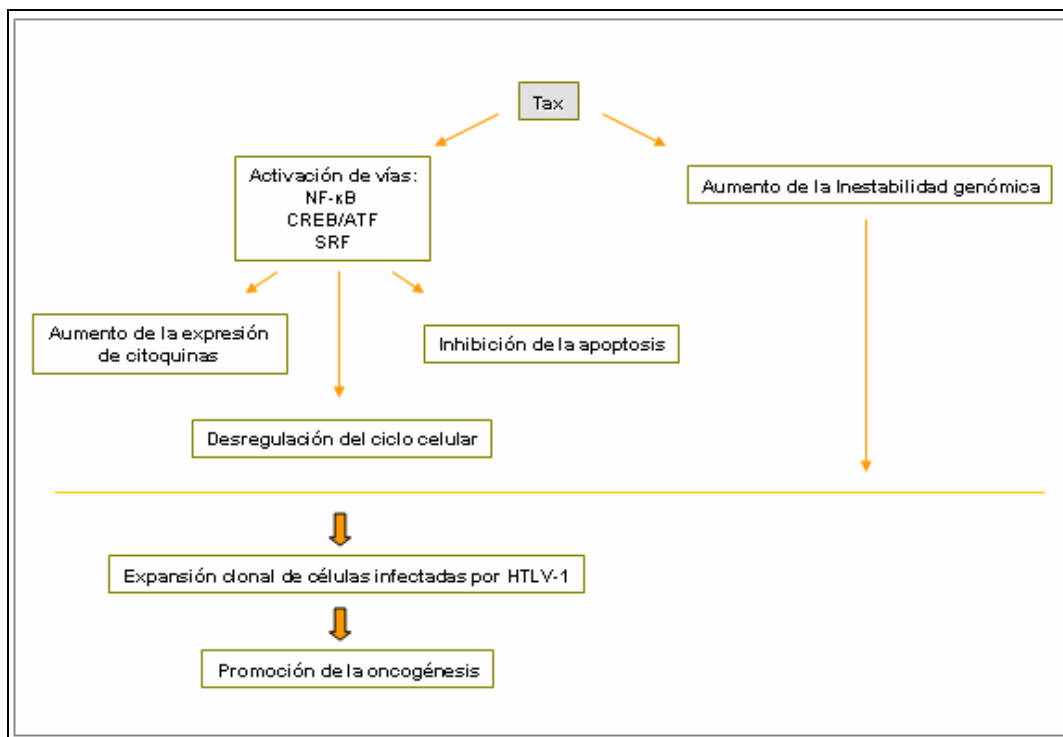
Si bien la presentación de ambas patologías en el mismo individuo se considera como excepcional, en Salvador, Brasil, el 14% de los pacientes con ATL, manifiestan además HAM/TSP [95]. Además, la infección por HTLV-1 está asociada con el desarrollo de otras enfermedades severas que pueden ser clasificadas en dos categorías: síndromes inflamatorios (uveítis intermedia, miositis, polimiositis, artritis, neumonitis pulmonar infiltrativa) e infecciones oportunistas (hiperinfección por *Strongyloides stercoralis* y dermatitis infecciosa en niños) [96]. Tanto la ATL como la HAM/TSP se encuentran con mayor frecuencia en áreas en donde el virus es endémico, aunque solo el 1 a 5% de sujetos HTLV-1 seropositivos tiene el riesgo de desarrollar una de las dos patologías a lo largo de sus vidas. Además, se ha propuesto que la vía de infección primaria determinaría el curso de la patogénesis subsecuente. Específicamente, la exposición a través de las mucosas con el HTLV-1 ha sido asociada al desarrollo de ATL mientras que la infección a través de transfusiones ha sido correlacionada con el desarrollo de HAM/TSP [97].

### **Leucemia a Células T del Adulto (ATL)**

La Leucemia a Células T del Adulto (ATL) es una leucemia linfocitaria T CD4+, endémica en el sur de Japón donde fue descrita por primera vez en 1977 [92]. La ATL se manifiesta con mayor frecuencia en regiones donde la infección es endémica y donde la misma es adquirida a temprana edad por transmisión vertical. En nuestro país se encuentra con alta prevalencia, al igual que la HAM/TSP, en el Noroeste argentino [98]. Tiene un período de

incubación mínimo de 20 años con una edad de presentación promedio de 50 años y similar en ambos sexos. Se desarrolla con más frecuencia en individuos infectados por transmisión madre a hijo, lo que resulta en una mayor incidencia intrafamiliar [99]. Se han descrito casos excepcionales de ATL postransfusional en individuos inmunocomprometidos y politransfundidos.

Esta leucemia es la única afección humana neoplásica conocida ligada directamente a la infección por un retrovirus. Si bien en los últimos años ha habido un avance notorio en la investigación de los mecanismos oncogénicos, aún no han sido del todo aclarados, la proteína Tax tendría un rol fundamental en la leuquemogénesis como se resume brevemente en la figura 6 [100].



**Figura 6:** Efectos pleiotrópicos de la expresión de la proteína Tax (Adaptado de Mahieux et al., 2003 [101]).

Si bien la expresión de Tax es mínima en el transcurso de la ATL, parece ser que su presencia es necesaria para mantener el fenotipo maligno *in*



*vitro* [102]. En la ATL se observa una integración monoclonal de uno o varios provirus en el genoma de las células tumorales, mientras que en los portadores asintomáticos la integración es policlonal [103]. Además, en los pacientes con ATL se producen niveles moderados de anticuerpos con cargas provirales elevadas. La ATL presenta características clínicas semejantes a otras leucemias agudas, tales como infiltrados de células malignas en médula ósea, ganglios linfáticos y piel, configurando un patrón clínico con afección de vísceras, huesos, pulmón e infecciones oportunistas con alteración de la función hepática, lesiones osteolíticas y distintos tipos de lesiones dermatológicas. Son patognomónicos los linfocitos pleomórficos con núcleos hipersegmentados en forma de trébol en sangre periférica y la hipercalcemia. También se presentan formas clínicas crónicas, linfomatosas y latentes [101]. El diagnóstico debe considerar características clínicas y resultados de laboratorio, tales como la morfología de linfocitos, el inmunofenotipo, la histología de los tejidos afectados en los casos de linfoma; estudios serológicos para detección de anticuerpos anti-HTLV-1 en plasma/suero y estudios moleculares que permitan detectar el genoma viral en los cortes histológicos. El diagnóstico diferencial de ATL incluye otras leucemias a células T tales como la leucemia promielocítica a células T, el síndrome de Sézary, linfomas a células T periféricos o la enfermedad de Hodgkin [101]. La ATL aguda tiene un curso rápidamente progresivo presentando una sobrevida de 6 a 9 meses, por lo que es común el sub-diagnóstico si no se cuenta con laboratorios especializados que permitan su clasificación en forma certera y rápida, antes de la precipitada evolución a un desenlace fatal, como sucede en la mayoría de los casos. En cuanto al tratamiento, hasta el momento las

terapias disponibles presentan una eficacia mínima con pocos individuos respondedores. Las estrategias empleadas incluyen tratamientos quimioterapéuticos, con un sinnúmero de drogas utilizadas, la mayoría de ellas produciendo remisión parcial y solo en muy pocos casos la remisión total de los casos agudos de ATL [104].

### **Mielopatía Asociada al HTLV-1/Paraparesia Espástica Tropical (HAM/TSP)**

Este síndrome neurológico anteriormente definido por Montgomery bajo el nombre de paraparesia espástica tropical (PET), fue descrito por primera vez en Jamaica en 1988 [105]. En 1985 Gessain y colaboradores detectaron en Martinica una prevalencia muy alta de anticuerpos anti-HTLV-1 en pacientes con paraparesia espástica, asociando por primera vez esta patología con la infección por el HTLV-1 [90]. Un año después Osame y colaboradores describieron en Japón un cuadro similar al que denominaron mielopatía asociada al HTLV-1 (HAM) [106]. Cuando se estableció que ambas entidades eran idénticas, se adoptó el término de HAM/TSP para referirse a ellas y la TSP dejó de considerarse exclusivamente tropical [107].

La HAM/TSP se encuentra en distintas partes del mundo con focos de prevalencia variable dentro de regiones donde las cifras de infección por HTLV-1 son uniformes. Esta característica sugiere la participación de cofactores, ya sean ambientales o genéticos para la manifestación de la enfermedad en individuos portadores del virus. Se han observado focos de alta incidencia en el sur de Japón, Colombia, África, y en las islas Seychelles y de menor incidencia en algunos países de América del Sur como Brasil y Chile [33,108,109]. Cuando la HAM/TSP se presenta en áreas no endémicas, su

origen frecuentemente se asocia a individuos inmigrantes de áreas endémicas o descendientes de los mismos [33,110].

La HAM/TSP es un síndrome neurológico desmielinizante caracterizado por destrucción celular y manifestación de un proceso inflamatorio en el sistema nervioso central (SNC) que afecta primariamente la espina dorsal y el cerebro. Se desarrolla en individuos de edad adulta siendo más prevalente en mujeres. El período de incubación es de 15 a 20 años si la vía de transmisión es de madre a hijo o de tipo sexual, y de 3 meses a 3 años si es por transfusión [111]. LA HAM/TSP muestra integración policlonal del provirus en las células T CD4+ (2 a 5%) y alto título de anticuerpos anti-HTLV-1 tanto en suero/ plasma como en líquido céfalo-raquídeo (LCR) y una elevada carga proviral [112]. En sangre periférica, se puede observar las células con núcleo multilobulado y un alto nivel de linfocitos CD4+ activados y linfocitos CD25+ que se caracterizan por su capacidad para proliferar espontáneamente *in vitro* [113,114]. Se sugiere que el daño en el SNC podría ser causado por un efecto directo de la invasión viral al SNC o bien como producto de la respuesta inmune celular a la infección en un microambiente proinflamatorio [115].

La presentación se caracteriza por una debilidad de miembros inferiores que se incrementa progresivamente hasta llegar a una discapacidad motora invalidante. Con el tiempo, se establece una paraparesia espástica con aumento de reflejos tendinosos de miembros inferiores (hiperreflexia) y vejiga neurogénica. Puede además observarse impotencia en hombres, calambres en miembros inferiores, dolor lumbar, estreñimiento y alteraciones de la sensibilidad. A diferencia de la esclerosis múltiple, los nervios craneales no están involucrados, y la función cognitiva no se encuentra afectada. Los

criterios actuales de diagnóstico de HAM/TSP han sido establecidos por la Organización Mundial de la Salud (OMS) [41]. La confirmación del diagnóstico de pacientes con mielopatía progresiva crónica que no padecen inmunodeficiencia, debe incluir también la detección de anticuerpos específicos anti-HTLV-1 en suero/plasma y LCR, además de excluir cualquier otra patología posible como tumores de médula espinal, lesiones compresivas y otras mielopatías [116].

Las actuales terapias que tienen por objeto reducir la replicación viral y/o la invasión de los tejidos no han producido resultados del todo satisfactorios. Los corticoides y andrógenos sintéticos son frecuentemente utilizados, especialmente en la fase inicial de la enfermedad y por otro lado, el Interferón-beta1a, por sus efectos inmunomoduladores y antivirales, se utiliza para disminuir los efectos del sistema inmune en el daño del SNC [117-119].

## **Filogenia**

Comparando secuencias genómicas de virus de distintas regiones del mundo se demostró cierta variabilidad genética, que aunque escasa comparada con HIV-1, es suficiente para establecer diferentes subtipos virales relacionados geográficamente [120,121]. Se ha observado que aislamientos provirales de diferentes regiones como África, Japón o América del Sur, presentaban más del 97% de identidad nucleotídica. Las cepas aisladas de Melanesia (Mel) muestran la mayor divergencia (5 a 8,5% en *env*) con respecto a la cepa prototipo, HTLV<sub>ATK-1</sub>; tanto es así, que la secuencia HTLV-1<sub>MEL5</sub> presenta un 91,5% de homología con el referido prototipo [122]. En un comienzo se había postulado un origen asiático, pero tiempo después

surgieron evidencias de un posible origen africano, siendo hoy en día el origen filogeográfico de los PTLV-1 aún desconocido [26] .

El HTLV-1 se divide filogenéticamente en siete subtipos: Cosmopolita (a), África Central (b y d), Melanesia (c), Zaire (e), Gabón (f) y Camerún (g) [7,123,124]. El subtipo Cosmopolita se ha diseminado por todo el mundo y está compuesto por 5 subgrupos: Transcontinental (A), Japonés (B), África del Oeste (C), África del Norte (D), y Peruanos Negros (E) [125].

Ha sido sugerido que la introducción del subtipo Cosmopolita del HTLV-1 en el continente americano, fue el resultado de las repetidas migraciones mongoloides pre-colombinas a través del estrecho de Bering, y también por migraciones post-colombinas asociadas al mercado de esclavos africanos. Más tarde, la caracterización molecular ha demostrado que el subgrupo A Transcontinental era al más ampliamente distribuido. Por otro lado, el subgrupo B Japonés ha sido detectado en Perú y Brasil en individuos inmigrantes de Japón mientras que el subgrupo E de Negros Peruanos ha sido descrito en individuos de comunidades originarias con ascendencia negra [124,126] .

## **VIRUS LINFOTRÓPICO T HUMANO TIPO 2 (HTLV-2)**

### **Características generales**

El HTLV-2 es el segundo oncoretrovirus humano descrito. Este virus comparte un alto grado de homología con el HTLV-1 (65%), tanto en su estructura genómica como en sus propiedades biológicas [127]. El primer aislamiento (Mo) se realizó en 1982 a partir de una línea de células linfoides T de origen esplénico, obtenidas de un paciente norteamericano que padecía

una leucemia T atípica a tricoleucocitos [4]. Aproximadamente dos años más tarde, el mismo laboratorio aisló otro HTLV-2 a partir de sangre de otro paciente que también padecía este tipo de leucemia [128]. En comparación con el HTLV-1 los aislamientos de cepas HTLV-2 han sido menos frecuentes. Algunos se han logrado a partir de cultivos a largo término de células mononucleares provenientes de individuos asintomáticos de comunidades originarias del continente americano, de UDIs infectados o no por HIV-1 y de individuos politransfundidos [129,130]. La primera secuencia completa se realizó a partir del aislamiento Mo observándose que la organización estructural y el tamaño del HTLV-2 (8952 bases) eran similares a los del HTLV-1 [127]. Luego se describieron otras dos secuencias completas, una proveniente de un paciente con leucemia T a tricoleucitos (NRA) y otra de un aborigen de la tribu Guaymi de Panamá (G12) [131,132].

## **Epidemiología**

Se estima que el HTLV-2 infecta alrededor de 3 a 5 millones de personas en el mundo y ha sido demostrado que, al igual que el HTLV-1, es endémico en diferentes partes del mundo. Entre los grupos de poblaciones humanas afectadas por el HTLV-2, se encuentran poblaciones de aborígenes del continente americano donde el virus se presenta en forma naturalmente endémica [133]. Entre ellas se mencionan las de América del Norte y Central, tales como los Navajo y los Pueblo en Nueva México, los Seminola en Florida o los Guaymi en Panamá. En América del Sur, los primeros hallazgos de altas tasas de seroprevalencia para HTLV-2 se realizaron en dos tribus de Brasil, la Cayapo y la Kraho [134-137]. Posteriormente, en 1993, se encontró al HTLV-2

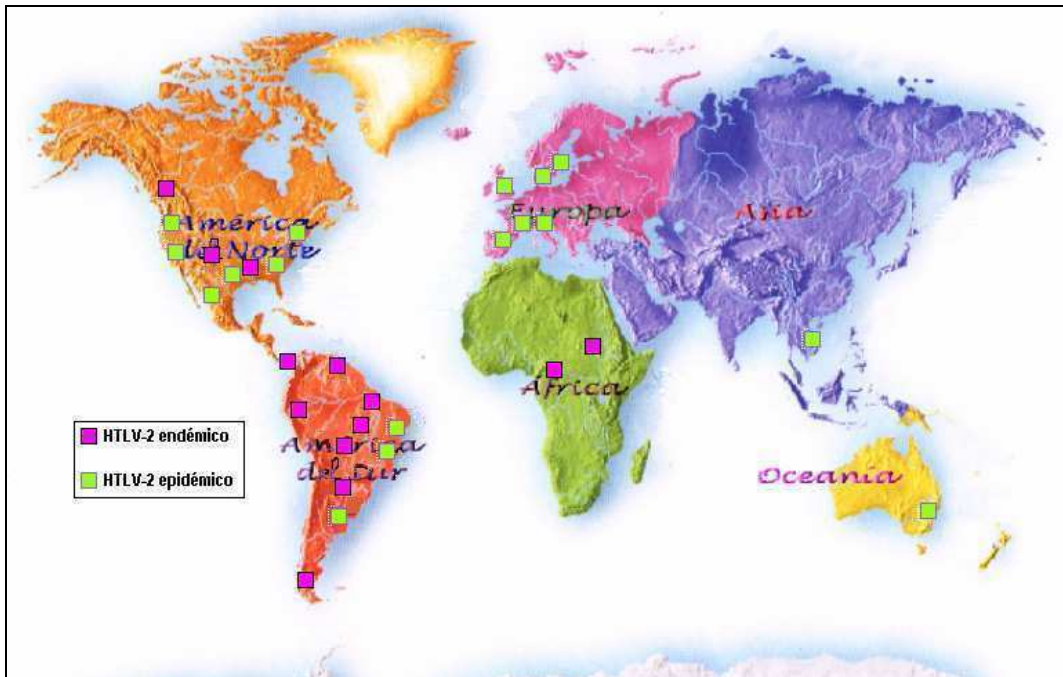
en nativos que residen en el este del Amazonas, en las comunidades Munduruku, Arara do Laranjal y Tyrio, indicando la presencia de otros focos endémicos para HTLV-2 en Brasil [138]. Entre los grupos estudiados en Colombia se encuentran los Wayuu que residen en la costa Atlántica, los Guahibo en Orinoco y los Tunebo que habitan en la región Santander del país [139]. En Venezuela el HTLV-2 es endémico entre los Pume que viven en el sur del país [140]. Estudios realizados en Chile confirmaron también la presencia del virus en nativos de la Isla Chiloé y en la ciudad de Pitruken, donde aún viven individuos paleo-mongoloides; mientras que en Paraguay, el HTLV-2 se ha reportado en la comunidad originaria de los Sanapanás [52,141].

La infección por HTLV-2 ha sido detectada en donantes de sangre con cifras de seroprevalencia para áreas no endémicas como Estados Unidos que oscilan alrededor de 0,03% [142]. Al contrario de lo que ocurre con el HTLV-1, que la prevalencia aumenta con la edad, para el HTLV-2 se ha observado que las prevalencias más altas se observan en los donantes de sangre de edad media, sugiriendo un efecto atribuible a una epidemia en UDIs y transmisión sexual del HTLV-2 en los años 1960s y 1970s [143]. En África, estudios realizados en Senegal, reportaron prevalencias que no superan el 0.02% mientras que en Mozambique no se ha detectado ningún caso [144,145]. En Europa la prevalencia de este retrovirus en donantes de sangre no supera el 0.3% en Suiza mientras que en Dinamarca (0.001%) y Francia (0.015%) son aún más bajas. En cuanto a Sudamérica, se han observado prevalencias bajas en Brasil (0.02%) y Venezuela (0.01%) no habiéndose encontrado donantes de sangre HTLV-2 positivos en Perú [68,146,147].

Hacia fines de los años ´80 y en los ´90, se fue confirmando la presencia de HTLV-1/2 en diferentes grupos de UDIs de distintas partes del mundo, con la posibilidad de que el HTLV-2 representara un significativo porcentaje de estas infecciones, aunque aún no existían pruebas serológicas rutinarias para distinguir entre los dos tipos virales. Pero, el HTLV-2 no suscitaba mayor interés hasta que un estudio en UDIs de Queens, Nueva York, demostró la presencia del mismo con una prevalencia muy alta, y aún mayor que para el HTLV-1 [76]. Además, existen estudios que observan casos de coinfecciones HTLV-2/HIV-1 en UDIs, por ejemplo en Estados Unidos, se detecta HIV-1 en 6 a 25 % de los individuos HTLV-2 seropositivos [148]. También se registraron casos similares en algunos países de Europa y más recientemente de América del Sur [149,150].

Además de las poblaciones humanas infectadas por HTLV-2 hasta ahora conocidas se han descrito infecciones por el HTLV-2 en algunas áreas de África. La presencia del HTLV-2 fue detectada en el continente africano (África Occidental) en mujeres HIV-1 seropositivas que ejercían la prostitución, en Guinea en donantes de sangre y en dos poblaciones de Pigmeos que aún viven aisladas, una en el este del Zaire y la otra en el oeste de Camerún [151-153] (figura 7).





**Figura 7:** Distribución mundial de HTLV-2 endémico y HTLV-2 epidémico.

### **Enfermedades asociadas**

A diferencia de lo que ocurre con el HTLV-1, hasta el momento no se ha podido establecer que el HTLV-2 fuera el agente causal patogénico de una enfermedad específica. Algunos estudios por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) describieron la presencia de fragmentos de genoma HTLV-2 en lesiones cutáneas de pacientes con linfomas T cutáneos pero HTLV-2 seronegativos, sugiriendo la posibilidad de su vinculación a genomas virales defectivos. Por otro lado, existen numerosos trabajos enfocados en encontrar asociaciones entre la infección por HTLV-2 y diversas patologías hematológicas, pero aún no se ha logrado reproducir una relación causal entre virus y enfermedad [154]. A su vez, existen estudios que relacionan al HTLV-2 con cuadros neurológicos similares a la HAM/TSP como mielopatías crónicas, ataxia, además de un aumento de la incidencia de neumonía, bronquitis,

tuberculosis, infecciones de riñón, vejiga, asma y enfermedades autoinmunes como artritis [155]. Aunque estas entidades clínicas han sido relacionadas con el HTLV-2, se necesitan datos adicionales que demuestren un verdadero rol patogénico del HTLV-2 y que establezcan su asociación con una enfermedad específica [135,156]. Es decir que mientras el rol del HTLV-1 en la patogenia de dos enfermedades bien definidas (ATL y HAM/TSP) está categóricamente establecido, aún resta por dilucidar la trascendencia de la infección por HTLV-2. Existe creciente evidencia que confirma un rol protector del HTLV-2 en individuos coinfectados con HTLV-2/HIV-1 que se manifiesta en una mayor supervivencia y retardo en la progresión al síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). El efecto protector se estima que es el resultado de un mantenimiento de los niveles de CD4+ y CD8+ dentro de rangos normales, disminuyendo la replicación del HIV-1 y aumentando la activación del sistema inmune. Además, el número de progresores lentos para SIDA en el grupo de coinfectados con HTLV-2/HIV-1 fue significativamente superior comparada con individuos mono infectados con HIV-1 [157].

## **Filogenia**

En 1990, Hall y colaboradores analizaron la proteína gp21 del HTLV-2 a partir de UDIs de Estados Unidos [158]. Los resultados demostraron la existencia de dos subtipos moleculares, a y b, con una divergencia de un 4% en dicha proteína. Estos subtipos fueron luego confirmados analizando completamente el gen de la envoltura, y un fragmento de 140 pares de bases de la región *pol* [159]. El grado de identidad nucleotídica entre los subtipos a y b es aproximadamente de 95%, con una divergencia que varía de 2 a 7%

según el gen analizado [160]. La divergencia nucleotídica que se encuentra dentro de cada subtipo es muy baja, siendo de alrededor de 0,2 a 1% como máximo [161]. El subtipo HTLV-2a es el que se encuentra en mayor proporción en UDIs mientras que el b es el más frecuentemente hallado en comunidades originarias del continente americano. Actualmente se conocen dos subtipos más de HTLV-2, el subtipo c descrito en aborígenes de Brasil y el subtipo d caracterizado a partir de un pigmeo Bambuti de Zaire en África [162,163].

### **VIRUS LINFOTRÓPICO T HUMANO TIPO 3 y 4 (HTLV-3/4)**

#### **Características generales**

En el año 2005, dos laboratorios informaron independientemente el descubrimiento de un nuevo integrante de los PTLVs: el HTLV-3 [7,164]. Estos retrovirus fueron detectados a partir de individuos asintomáticos de Camerún cuyos sueros presentaban resultados indeterminados por western blot (WB). Por un lado, un grupo francés describió el aislamiento HTLV-3PYL43, mientras que en el grupo americano, el aislamiento HTLV-32026ND. Comparaciones del genoma completo y análisis filogenéticos han demostrado que la organización genómica del HTLV-3 es similar a la de algunas secuencias de STLV-3 de África central y comparten una identidad nucleotídica de 87 a 99% por lo que es razonable sugerir que el HTLV-3 en humanos ha sido adquirido por una transmisión interespecie, desde monos infectados con STLV-3 [7,164,165]. Recientemente, una tercera secuencia denominada HTLV-3Lobak18, ha sido descubierta a partir de las CMSP de un cazador de Camerún.

El HTLV tipo 4 (HTLV-4) consiste hasta el momento de un único aislamiento humano, que como el HTLV-3, ha sido identificado en Camerún a

partir de un individuo que presentó un patrón indeterminado por WB [7]. El análisis filogenético realizado con fragmentos pequeños de los genes *pol* y *tax* permitieron definir un nuevo linaje monofilético separado con un valor de soporte significativo, llamado “HTLV-4”, que posteriormente fue confirmado con el análisis del genoma completo [7,11]. La comparación del aislamiento HTLV-4 (HTLV-4(1863LE)) con secuencias prototipo de los distintos PTLVs ha demostrado que este virus es filogenéticamente equidistante del HTLV-1 (identidad del 62%), PTLV-2 (identidad del 70.7%), y PTLV-3 (identidad del 63.4%) [7,11]. Según el análisis de reloj molecular, se ha sugerido que el linaje del HTLV-4 ha divergido de su progenitor PTLV-2 hace unos 200 millones de años y sería aún anterior a los ancestros del HTLV-1, 2, y 3, conservando muchos de las estructuras funcionales importantes para la expresión viral y posible oncogénesis. A partir de datos previos de HTLV-1/STLV-1 y HTLV-3/STLV-3, cabe esperar que hubiera una especie de monos infectada o bien que en el pasado hubiese existido un equivalente simiano del HTLV-4 aunque hasta el momento todos los estudios realizados en pos de hallar éste virus, han fracasado [166].

Se desconoce la prevalencia, distribución y modos de transmisión interhumana de los virus HTLV-3 y HTLV-4. Hasta el momento, los únicos datos disponibles fueron obtenidos de unos pocos miles de individuos que habitan el sur de Camerún en África central, un área donde el STLV-3 ha sido detectado en diferentes especies de monos [166-168]. Basados en estos resultados, y en los de HTLV-1/STLV-1, se podría hipotetizar que los virus HTLV-3 y 4 se encuentran ampliamente distribuidos en otras áreas de la selva de Camerún y en otros países de África central (figura 8).



**Figura 8:** Distribución de HTLV-3 y HTLV-4

### **Epidemiología del HTLV-1/2 en Argentina**

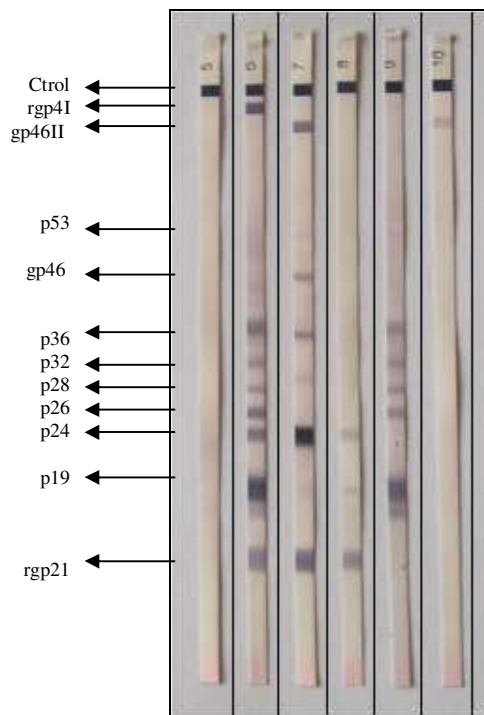
La presencia de HTLV-1/2 fue reportada por primera vez en nuestro país en 1989, en un grupo de UDIs de la ciudad de Buenos Aires y en estudios posteriores, se fueron detectando tanto el HTLV-1 como HTLV-2, en otras poblaciones vulnerables [66]. En 1993, se observó que al igual que en otras comunidades originarias del continente americano, la infección por HTLV-2 era endémica en comunidades Tobas y Wichis de la Región Chaqueña (Formosa, Chaco) y se confirmó la importancia de la transmisión del virus de madre a hijo muy probablemente debido a los largos períodos de lactancia que acostumbran dichas poblaciones [169,170]. Luego, se detectó este virus en una comunidad Mapuche del sur de nuestro país con una prevalencia de 2% [171]. A partir de 1994, se describe la presencia de ambos virus en donantes de sangre de

Buenos Aires, con cifras de prevalencia bajas (0.09%), similares a las observadas en países no endémicos y en mujeres embarazadas [172-176]. La infección por HTLV-1 también fue detectada en hemodializados de diferentes centros de Buenos Aires y en un paciente receptor de transplante de hígado [177,178]. Así, Argentina fue considerada como no endémica para la infección por HTLV-1, hasta que se reportó por primera vez, una alta prevalencia de HTLV-1 en comunidades originarias (2.3%) y donantes de sangre de la provincia de Jujuy (0.97%) y Salta (0.71%) [169,179]. Los primeros casos de HAM/TSP se describieron en Jujuy, Salta y en la ciudad de Buenos Aires y en 1995, fueron descriptos por primera vez, 5 casos de ATL en nuestro país [180-183]. Al presente es una certeza que tanto la infección por HTLV-1 como sus enfermedades asociadas, HAM/TSP y ATL, son endémicas en el noroeste argentino [98,180]. En cuanto a la distribución de la infección en nuestro país, podemos observar que, similar a lo que ocurre en América Latina, existe una restricción étnica/geográfica con comunidades originarias del Noroeste infectadas por HTLV-1 (familia Aymara de Salta y Jujuy) y otras de la Región Chaqueña infectadas por el HTLV-2 (familia Mataco-Guaycurú de Formosa y Chaco) [184].

### **Diagnóstico de infección por HTLV-1/2**

Los virus HTLV-1 y HTLV-2 tienen un alto grado de similitud (65%) en sus secuencias nucleotídicas. En consecuencia, existe una fuerte reactividad cruzada de la respuesta inmune. Esto permite que se puedan detectar anticuerpos dirigidos contra proteínas de cualquiera de ellos a partir de lisados de un solo tipo [185]. Actualmente, se cuenta con equipos de nueva generación

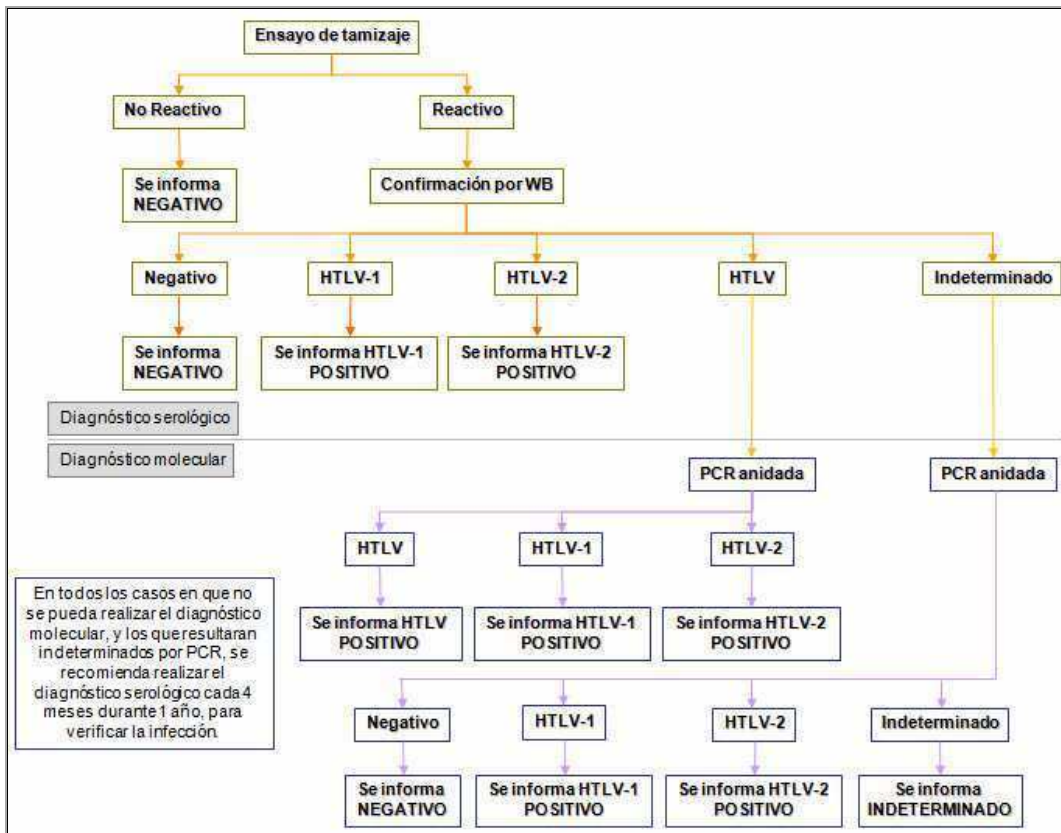
con formato tipo *sándwich* que incluyen antígenos de péptidos recombinantes y/o sintéticos para ambos tipos virales, aumentando la sensibilidad y especificidad [186]. En los Estados Unidos y Europa, los ELISAs son los equipos más utilizados para tamizaje, mientras que en Japón el más usado es la aglutinación de partículas (AP). Hay autores que proponen un algoritmo dual de ELISAs para aumentar la sensibilidad del tamizaje [187]. Las muestras repetidamente reactivas deben luego ser confirmadas por una técnica adicional, aún más específica, como el WB [188]. El equipo de WB más usado se basa en lisados de virus enteros con el agregado de antígenos recombinantes de la envoltura (GD21) presentes en ambos retrovirus y de péptidos específicos de la envoltura del HTLV-1 (rgp46-1) y del HTLV-2 (rgp46-2), que permiten distinguir los dos tipos virales [189]. Si bien ésta técnica no está aprobada por la administración de alimentos y drogas de Estados Unidos (*Food and Drug Administration, FDA*) hasta el momento, es la más frecuentemente utilizada. Este análisis puede brindar cinco resultados distintos: negativo (ausencia de bandas específicas de los dos tipos virales); HTLV-1 positivo (reactividad a *gag* -p19 y/o p24- y *env* -GD21 y rgp46-1); HTLV-2 positivo (reactividad a *gag* -p19 y/o p24- y *env* -GD21 y rgp46-2-); HTLV positivo (reactividad tanto a ambas *gag* -p19 y p24- y *env* -GD21-, sin clasificación en tipo viral) e indeterminado (reactividad a proteínas específicas virales que no cumplen con los criterios de positividad antes mencionados (Figura 9).



**Figura 9.** Diferentes patrones de WB (WB2.4 Genelabs Diagnostic Biotechnology). Línea 1, muestra negativa; línea 2, muestra HTLV-1-positiva; línea 3, muestra HTLV-2 positiva; línea 4, muestra HTLV sin tipificar; línea 5, patrón indeterminado HGIP; línea 6, patrón indeterminado con una banda aislada rgp46-II.

En los casos indeterminados o HTLV sin tipificar por WB, se recomienda realizar una PCR con alta sensibilidad para evitar falsos negativos y suficientemente específica para diferenciar entre los distintos tipos virales (HTLV-1 y HTLV-2) [190]. Como mínimo se deben registrar dos fragmentos de genes virales distintos para considerar positivo al resultado [191]. Aquellas muestras que amplifiquen únicamente uno de los fragmentos analizados, seguirán siendo indeterminados. En todos los casos en que no se pueda realizar una PCR, y en los que resultaran indeterminados por PCR, se recomienda realizar el diagnóstico serológico cada 4 meses durante 1 año, para verificar la infección (figura 10).





**Figura 10.** Algoritmo diagnóstico de infección por HTLV-1 y HTLV-2 en adultos propuesto por la Red Europea de Investigación del HTLV (HERN).

### Resultados indeterminados por WB

Los casos de resultados indeterminados por WB fueron observados con prevalencia considerable entre donantes de sangre y poblaciones africanas. Uno de los patrones de WB indeterminados más frecuentes en estas poblaciones es el llamado “Patrón HTLV-I *gag* Indeterminado” (HGIP) que presenta las bandas correspondientes a *gag* (p19, p26, p 28 y p32 y 53) con ausencia de p24 y gp46. En África, Mahieux y colaboradores determinaron la existencia de reactividad cruzada entre proteínas Gag del HTLV-1 y antígenos derivados de *Plasmodium falciparum*, sugiriendo que éste tipo de patrón frecuente y particular no es causado siempre por la infección por HTLV-1, sino

que en ocasiones estaría asociado a infección por *Plasmodium falciparum* [192]. Sin embargo, en áreas donde este patógeno no se encuentra presente, otros autores sugieren que el patrón indeterminado puede deberse a reacciones cruzadas con retrovirus endógenos [193]. Tanto en Europa como en Estados Unidos, Japón y Brasil se ha demostrado que los patrones indeterminados por WB podrían deberse a reacciones cruzadas con otros STLVs, virus Varicella- Zóster y hasta el virus del dengue [190,194,195]. Varios estudios han demostrado la presencia de patrones indeterminados HGIP más frecuentemente entre donantes de sangre de áreas endémicas para la infección por HTLV-1/2, igual a lo reportado en áreas no endémicas como Taiwan y Argentina [192,196,197].

### **El Virus de la Inmunodeficiencia Humana tipo 1 (HIV-1)**

El HIV-1, descubierto en el año 1981, es un retrovirus del género *Lentivirus* dentro de la familia *Retroviridae* [5,198,199]. La estructura, ciclo y modos de transmisión son similares a los del HTLV. Según las estimaciones más recientes del Programa Conjunto de la Naciones Unidas sobre HIV/SIDA (UNAIDS, 2009) y la Organización Mundial de la Salud (OMS), a fines de 2008 el número de personas viviendo con HIV era de 33.4 millones (rango: 31.1-35.8 millones) en todo el mundo. Según los datos presentados por UNAIDS en el año 2009, África subsahariana sigue siendo la región más afectada por la epidemia de HIV/SIDA [200]. Las epidemias en Europa Oriental y Asia Central se encuentran caracterizadas por una rápida propagación debida principalmente al aumento del consumo de drogas inyectables y relaciones sexuales sin protección entre los más jóvenes. En los países de ingresos más

elevados (América del Norte, Europa Occidental, Meridional y Septentrional) el número total de personas que viven con el HIV sigue aumentando, en gran parte a causa del acceso generalizado al tratamiento antirretroviral que ha disminuido el número de casos de SIDA y las muertes asociadas al SIDA.

Actualmente son más de dos millones las personas que viven con el HIV-1 en América Latina y el Caribe. Dos de las epidemias más graves de la región son las de Haití y República Dominicana.

Los primeros casos de SIDA en la Argentina fueron informados al Ministerio de Salud de la Nación a fines del año 1982 y correspondían a individuos masculinos que presentaban como antecedente el haber mantenido relaciones sexuales con otros hombres en las ciudades de Nueva York, Miami o San Francisco. De acuerdo a la información publicada en el Boletín sobre el SIDA en Argentina, 2009, el número de casos de SIDA notificados alcanza los 75.009, estimándose que el número de personas infectadas con HIV-1 es de aproximadamente 120.000 [200]. Al analizar la evolución de la distribución de los casos de SIDA por sexo, se observa que hasta el año 1987 eran en su totalidad enfermos masculinos notificándose entonces el primer caso de SIDA femenino. La evolución de la razón hombre/mujer alcanza hoy en día un valor de 1.6 hombres por cada mujer diagnosticada. En el total de casos de SIDA informados desde el inicio de la epidemia, la principal vía de transmisión fue la vía heterosexual con el 56.0% de los casos informados, el 20.0% fue por transmisión homosexual, seguido por el uso de drogas inyectables con el 11% de los casos. Según muestran los casos reportados de SIDA, la franja de edad más afectada se concentra en ambos sexos entre los 25 y 34 años de edad.

## **Virus de la Hepatitis B (HBV)**

El HBV, descubierto en 1965 es miembro de la familia *Hepadnaviridae* [201-203]. Posee un genoma de ADN parcialmente bicatenario con una cápside icosaédrica y una envoltura lipídica con antígenos de superficie. Los estudios de microscopía electrónica provenientes de suero humano demostraron tres tipos de partículas: partículas de Dane, que constituyen el virión intacto; partículas esféricas y partículas filamentosas. Estas dos últimas formas subvirales carecen de ácido nucleico, por lo que no son infectivas. La infección por HBV es un grave problema mundial. Se estima que existen 2 billones de personas infectadas en todo el mundo y que 350 millones sufren de infección crónica. Es la décima causa de mortalidad mundial con una estimación de 500.000 a 1 millón de muertes anuales causadas por hepatitis crónica, cirrosis y carcinoma hepatocelular. La distribución de la infección por hepatitis B varía ampliamente a lo largo del mundo. En áreas donde la prevalencia es alta, países del extremo sudeste asiático, China y África, la infección crónica por HBV es común y usualmente adquirida en forma perinatal o en la niñez [204]. Por el contrario en los países de baja prevalencia, entre los que se incluyen Australia, Europa Central, América del Norte y Argentina, solo una minoría de la población entra en contacto con el virus, como resultado de transmisión sexual entre adultos jóvenes o bien por la vía parenteral. Desde el año 1987 el número de casos ha declinado en todo el mundo debido a la inmunización de las poblaciones más vulnerables y el control de sangre en donantes. El material más infectivo es la sangre del enfermo o portador y en menor medida el semen y otros fluidos o secreciones. La principal vía de transmisión es la exposición percutánea y de mucosas a fluidos corporales

infectados. El ingreso por vía parenteral se produce especialmente mediante transfusiones de sangre o derivados o bien por compartir el equipo de inyección entre UDI. El virus también se transmite por vía sexual y de madre a hijo. Dado que el HBV conserva su viabilidad durante períodos de 7 o más días en superficies ambientales, es posible también la transmisión indirecta mediante objetos inanimados [205]. El diagnóstico específico de infección por HBV se obtiene mediante la detección de marcadores de laboratorio específicos a través de enzimoimmunoensayos, que en algunos casos tienen además valor pronóstico. El HBsAg es el marcador más importante y comúnmente usado porque su presencia en suero indica infección activa con HBV ya sea ésta de forma aguda o crónica. Si además se detecta presencia de IgM anti-HBc sugiere entonces una infección reciente. Por otro lado la presencia de HBsAg por más de 6 meses sugiere una infección crónica. La ausencia de HBsAg en presencia de IgG anti-HBc sugiere una infección previa. La co-infección entre HBV y HIV-1 es común debido a que ambos virus comparten las vías de transmisión, aunque es de resaltar que HBV se transmite más eficientemente.

### **Virus de la Hepatitis C (HCV)**

El HCV es un *Flavivirus* que posee envoltura viral donde se observan glicoproteínas bajo la forma de espículas. El genoma está compuesto por ARN de polaridad positiva con una zona central que codifica para una poliproteína precursora que da lugar al menos a diez proteínas estructurales y no estructurales [206]. El HCV fue identificado en Estados Unidos en 1989 como el mayor causante de hepatitis postransfusional no-A, no-B [207]. De acuerdo a la

Organización Mundial de la Salud (OMS), aproximadamente 170 millones de personas están crónicamente infectadas con HCV. La prevalencia de HCV varía en distintas partes del mundo, con una mayor incidencia en los países del hemisferio oriental comparados con el occidental. Sin embargo ciertos grupos de individuos, como los UDIs, presentan un riesgo incrementado de adquirir esta infección independientemente de la localización geográfica [208,209]. El HCV se transmite por vía parenteral a través de fluidos biológicos, principalmente sangre y sus derivados. Consecuentemente, las inyecciones intravenosas o las transfusiones constituyen la principal vía de infección. Algunos autores sugieren que la transmisión vertical, sexual o de contactos familiares ocurre infrecuentemente pero debe ser considerada en el diagnóstico de hepatitis C [210,211].

La infección por HCV se caracteriza por una tasa elevada de evolución a la cronicidad (60 a 80%). El diagnóstico etiológico de la infección se basa en pruebas serológicas que detectan anticuerpos circulantes y en la determinación de secuencias genómicas de HCV. La detección de anticuerpos anti-HCV se realiza normalmente por la técnica de ELISA. Las pruebas de ELISA son habitualmente confirmadas mediante pruebas suplementarias que determinan la presencia de anticuerpos específicos para cada antígeno viral individualmente. Son las pruebas de RIBA (recombinant immunoblotting assay) y LIA (linear immune assay). Algunos autores estiman que un 10% de las personas infectadas con HCV, son a su vez HIV-1 positivas y que de las personas infectadas por HIV, un 25% tendrían además infección por HCV [212,213].

### ***Trypanosoma cruzi (T. cruzi)***

La Enfermedad de Chagas (Trypanosomiasis Americana), descubierta y descrita en 1909 por el Dr. Das Chagas en Brasil es transmitida por un insecto conocido en Argentina como "vinchuca" (*Triatoma infestans*) y producida por un parásito hematófago (*Trypanosoma cruzi*), afectando a seres humanos y animales de sangre caliente. Los animales infectados actúan como reservorios de los parásitos, las vinchucas al picarlos se infectan, y en picaduras posteriores pueden transmitir la infección a un animal o persona sana. El *T. infestans*, agente vector de mayor importancia sanitaria en nuestro país, es un insecto de hábitos estrictamente domiciliarios y peri domiciliarios. Es posible hallarla en el 70% del territorio nacional (desde el norte de nuestro país hasta el sur de Río Negro) y en mayor cantidad en las regiones de clima cálido y seco. El *Trypanosoma cruzi (T. cruzi)*, parásito hemoflagelado se reproduce en el interior de las células de los tejidos y circula libre en la sangre. En el hombre se distinguen tres etapas clínicas: aguda, indeterminada y crónica. La enfermedad aguda se presenta inmediatamente a la adquisición de la infección. La etapa indeterminada puede durar toda la vida, y la etapa crónica se presenta en un porcentaje que oscila entre el 20 y el 30% de los pacientes, produciendo lesiones cardíacas, del aparato digestivo, del sistema nervioso central y periférico. El porcentaje de mortalidad en el Chagas agudo varía del 1% al 5% con una mayor incidencia en niños de corta edad. Las formas de transmisión son: vectorial a través del *T. infestans*; de madre a hijo (durante el embarazo o en el momento del parto); por transfusión de sangre, y por trasplante de órganos. Desde hace varios años es obligación por ley efectuar pruebas serológicas para detectar la infección del donante en todos los bancos de

sangre del país. La transmisión de madre a hijo durante el embarazo ocurre con una incidencia del 0,5% en áreas no endémicas y del 9% en áreas endémicas. Para diagnosticar la enfermedad en la etapa aguda, teniendo en cuenta la presencia de parásitos circulantes en la sangre, el diagnóstico se hace buscando el *T. cruzi* y sus antígenos en sangre. En la etapa intermedia y crónica los parásitos disminuyen, apareciendo anticuerpos específicos; en este caso, el diagnóstico se hace mediante el empleo de técnicas serológicas que demuestran la existencia de los anticuerpos específicos. Para confirmar la infección al menos dos técnicas serológicas diferentes deben ser reactivas. En la Argentina aproximadamente 2.300.000 personas (7.2%) de la población está infectada [214].

### ***Treponema pallidum (T. pallidum)***

La sífilis es una enfermedad infecciosa con afectación sistémica causada por el *Treponema pallidum*. La sífilis tiene distribución mundial, variando la incidencia con la distribución geográfica y el entorno socioeconómico. Durante la década de los ochenta se produjo un resurgimiento de la enfermedad con un desproporcionado aumento de casos en los hombres que tienen sexo con hombres (HSH) que, poco a poco, fue decreciendo debido a la adquisición de prácticas sexuales más seguras. Coincidiendo con este descenso, aparece un rápido incremento en los heterosexuales, reflejado en la frecuencia de la infección en mujeres y neonatos. Por edades, el grupo más involucrado es el que va de los 15 a los 30 años, relacionado con la actividad sexual. Así, en 2008 la OMS estimaba que la incidencia mundial de la sífilis era del 0,4% (12 millones de casos) y la prevalencia serológica del 1% [215,216]. En el 95% de los casos el *Treponema*



se transmite por prácticas sexuales. El riesgo de adquirir sífilis de una persona infectada por práctica sexual es del 30 al 50%; las posibilidades varían según la morfología y distribución de las lesiones. La sífilis congénita se produce con más frecuencia cuando el feto se infecta *in útero*, aunque es posible la infección del neonato al pasar por el canal del parto. La sífilis adquirida por transfusión es actualmente infrecuente debido al examen serológico de los donantes [217].

Las pruebas serológicas utilizadas como diagnóstico se dividen entre aquellas que detectan los anticuerpos no treponémicos (reagínicos no específicos) y los treponémicos (específicos).

Los anticuerpos reagínicos son de tipo IgG e IgM dirigidos frente a un antígeno lipideo (cardiolipina unido a colesterol y lecitina). Aunque pueden tener resultados falsos positivos, son los mejores métodos de diagnóstico serológico en la sífilis latente temprana y en la tardía y son ampliamente utilizados por ser los de más bajo costo. Dentro de las pruebas inespecíficas más utilizadas se encuentra la VDRL (*Venereal Disease Research Laboratory*), la floculación macroscópica y el enzimoimmunoensayo no treponémico. La prueba de VDRL es un buen marcador de infección en fase aguda y para el control de la respuesta al tratamiento ya que permite obtener resultados cuantitativos. En cuanto a las pruebas treponémicas específicas se destacan la inmunofluorescencia, la hemaglutinación y el ELISA de anticuerpos treponémicos.

## **OBJETIVOS**

---

El objetivo general de este trabajo de tesis doctoral es aportar mayores conocimientos para una mejor implementación del diagnóstico de de la infección por HTLV-1/2 en nuestro medio así como sobre la epidemiología y características filogenéticas del HTLV-1/2 en Argentina.

## **Capítulo 1:**

### **DIAGNOSTICO DE LA INFECCIÓN**

**Objetivo general:** Optimizar el diagnóstico para la infección por HTLV-1/2.

#### **Objetivos específicos:**

- ✚ Comparar ensayos comerciales de tamizaje para la detección de anticuerpos anti-HTLV-1/2 comúnmente utilizados en bancos de sangre de Argentina.
- ✚ Detectar molecularmente la infección por HTLV-1/2 y su asociación con patrones indeterminados específicos de Western blot (WB)

## **Capítulo 2:**

### **ESTUDIOS EPIDEMIOLOGICOS**

**Objetivo general:** Estimar la prevalencia de la infección por HTLV-1/2 en distintas poblaciones de Argentina.

#### **Objetivos específicos:**

- ✚ Estimar la prevalencia de HTLV-1/2 en poblaciones de bajo riesgo: donantes de sangre y mujeres embarazadas.
- ✚ Estimar la prevalencia de HTLV-1/2 en poblaciones de alto riesgo: usuarios de drogas inyectables (UDIs), trabajadoras sexuales (TS) y hombres que tienen sexo con hombres (HSH).

- ✚ Estimar la frecuencia de coinfecciones por HIV-1, HBV, HCV, *Tripanosoma cruzi* y *Treponema pallidum* en todas las poblaciones.

### Capítulo 3:

#### ESTUDIOS MOLECULARES

**Objetivo general:** Caracterizar a nivel molecular los aislamientos de HTLV-1/2 detectados.

**Objetivos específicos:**

- ✚ Analizar la filogenia de los aislamientos HTLV-1/2 positivos de las distintas poblaciones estudiadas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

---

## **Población estudiada**

### *Poblaciones de bajo riesgo: donantes de sangre y mujeres embarazadas*

#### *Donantes de sangre*

Se realizó un análisis retrospectivo de los registros de los donantes de sangre del banco de sangre del Hospital “Juan A. Fernández”. Se recolectaron los datos de todos los potenciales donantes de sangre que asistieron durante seis años consecutivos desde Enero de 2003 a Diciembre de 2008 quienes habían sido sometidos a una entrevista con un médico. En todos los casos, podían rehusarse a la donación autoexcluyéndose. Se ha realizado el tamizaje para las infecciones de detección obligatoria (HTLV-1/2, HIV-1, HBV, HCV, *T. cruzi*, *T. pallidum*, *Brucella sp.*) en el banco de sangre del Hospital “Juan A. Fernández” y aquellas que resultaron reactivas habían sido repetidas. Las muestras con al menos dos pruebas reactivas para cualquiera de las infecciones antes mencionadas fueron consideradas como repetidamente reactivas.

#### *Mujeres embarazadas*

Se trabajó con grupos de profesionales de las ciudades de Buenos Aires (Maternidad “Dr. Ramón Sardá”), Gran Buenos Aires (Hospital Interzonal General de Agudos “Dr. Pedro Fiorito”), Neuquén (Hospital “Dr. Castro Rendón”), San Juan (Hospital “Dr. Guillermo Rawson”) y Ushuaia (Hospital Regional de Ushuaia “Gobernador Ernesto Campos”) entre los años 2005 y 2009. A todas las mujeres embarazadas se les realizó una encuesta sociodemográfica y epidemiológica diseñada en nuestro centro específicamente para este estudio y se determinó el estado de infección de patógenos de detección obligatoria (HBV, HCV, *T. cruzi*, *T. pallidum*, *T. gondii*).

Las muestras de sangre entera se obtuvieron durante cualquier etapa del embarazo.

*Poblaciones de alto riesgo: UDIs, TS, HSH, TB y ETS*

Las muestras de UDIs, TS, HSH, pacientes con diagnóstico de tuberculosis (TB) y pacientes con enfermedades de transmisión sexual (ETS) provenían de estudios de seroprevalencia de corte transversal realizados por otro grupo de investigadores del Centro Nacional de Referencia para el SIDA durante los años 2000 y 2003 en Buenos Aires.

Todos los individuos eran mayores de 18 años y habían sido reclutados en la ciudad de Buenos Aires a excepción de las TS que provenían además de las ciudades de La Plata, Salta, Córdoba, Mendoza y Rosario. Los detalles del reclutamiento y los procedimientos de recolección de muestras han sido descritos previamente [218-221]. Tanto los HSH como las TS habían sido invitados a través de dos organizaciones no gubernamentales (ONGs): Nexo Asociación Civil y AMMAR (Asociación de Mujeres Meretrices de Argentina), respectivamente. En tanto, los UDIs habían sido reclutados a través de dos ONGs que participan en programas de reducción de daños (El Retoño e Intercambios). La población de TB había sido reclutada ente pacientes con diagnóstico clínico de tuberculosis en tres hospitales públicos (Bernardino Rivadavia, Carlos G. Duran y Enrique Tornú), mientras que la población de ETS fue reclutada en 5 hospitales públicos (Hospital de Clínicas José de San Martín, José M. Ramos Mejía, Juan A. Fernández, Francisco J. Muñiz, y Teodoro Álvarez). La información socio-demográfica, sexual y conductas de riesgo fueron recolectadas a través de un cuestionario estandarizado que fue

administrado durante una entrevista confidencial. Todos los participantes recibieron asesoramiento previo y posterior y, cuando fuera necesario, fueron derivados a servicios médicos y/o sociales.

### **Consideraciones éticas**

Para los estudios de seroprevalencia en todas las poblaciones estudiadas se obtuvo la aprobación del Comité de Ética correspondiente. Todos los individuos fueron invitados a participar voluntariamente y se les informó sobre los alcances y relevancia del estudio a través de la lectura del consentimiento informado, el cual fue firmado por duplicado en presencia de un testigo al aceptar participar. Se les entregaron los resultados de la infección por HIV-1 y se les aconsejó sobre el mismo. Las detecciones de HTLV-1/2, HBV, HCV y *T. pallidum* fueron realizadas de manera retrospectiva por lo que no se les ha informado el estado de infección. En todos los casos se mantuvo la confidencialidad de la información de estos estudios según pautas de la legislación nacional e internacional vigentes y según las Pautas Internacionales para la Evaluación Ética de los Estudios Epidemiológicos, CIOMS, Ginebra, 1991.

### **Obtención de plasma**

Las muestras de plasma utilizadas para realizar las serologías de HTLV-1/2, HIV-1, HBV, HCV, *T. cruzi*, *T. gondii* y *T. pallidum* para cualquiera de las infecciones antes mencionadas fueron obtenidas a partir de la extracción de 10ml de sangre entera recolectada en tubos con 125 µl de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) al 10%. Después de centrifugarlas a 1900rpm



(3300 x g) por 10 minutos a temperatura ambiente, se recuperó el plasma en tubos eppendorff. El mismo se conservó a -20°C para su posterior procesamiento.

### **Obtención de células mononucleares de sangre periférica (CMSP)**

La obtención de las CMSP se realizó mediante la técnica de Ficoll-Hypaque (Pharmacia, Sweden). Las CMSP obtenidas fueron fraccionadas en tubos conteniendo aproximadamente 2 millones de células y conservadas como pellet seco a -70°C hasta su utilización en la extracción de ácidos nucleicos para su posterior amplificación por nested- PCR.

### **Extracción de ácidos nucleicos**

El ADN fue extraído utilizando un kit de extracción comercial QIAamp DNA extraction kit, QIAGEN, Hilden, Germany.

### **Diagnóstico de la infección por HTLV-1/2**

#### *Tamizaje de anticuerpos anti-HTLV-1/2*

Se utilizaron diferentes equipos comerciales de tamizaje: un equipo de aglutinación de partículas (AP) (Serodia HTLV-1, Fujirebio, Tokyo, Japan) y tres ELISAs; BioELISA (HTLV-1+2, BioKit, Barcelona, Spain), Vironostika (HTLV-1/2, bioMerieux, Boxtel, The Netherlands), y Murex (HTLV-1+2, Murex Diagnostics, Dartford, England). Todos los ensayos y la interpretación de los resultados fueron realizados siguiendo estrictamente las instrucciones provistas por los fabricantes.

### *Confirmación por WB*

Todas las muestras que resultaron repetidamente reactivas y/o discordantes por alguno de los ensayos de tamizaje realizados, fueron luego confirmadas por WB (HTLV blot 2.4, Genelabs Diagnostics, Science Park, Singapore). Los criterios de positividad utilizados han sido los descritos en la introducción, página 34.

### *Diagnóstico molecular de casos HTLV no tipificados e indeterminados por WB mediante nested-PCR*

Se amplificó una región de los genes *pol* y *tax* del genoma viral específica de cada tipo viral, HTLV-1 y HTLV-2. La mezcla de reacción para la primera amplificación consistió en 5 µl de buffer 10x; 4µl de Cl<sub>2</sub>Mg 50mM; 1µl de dNTPs 10mM; 1µl del cebador (10µM), 0.25µl de Taq Pol 5U/µl; 27,75 µl de agua y 1 µg de ADN genómico. El volumen final fue de 50µl. Para el gen *pol* del HTLV-1 se utilizaron los cebadores SK110-I y SK111-I; y SK110-II y SK111-II para el HTLV-2. Para el gen *tax* del HTLV-1 se utilizaron los cebadores SK43-I y SK44-I mientras que para el HTLV-2 se utilizaron los cebadores SK43-II y SK44-II. La mezcla de reacción para la segunda amplificación consistió en 5 µl de buffer 10x; 4µl de Cl<sub>2</sub>Mg 50mM; 1µl de dNTPs 10mM; 1µl del cebador (10µM) 0.25µl de Taq Pol 5U/µl. Para el gen *pol* del HTLV-1 los cebadores de la segunda reacción de PCR fueron pol1.1 y pol3.1; y para HTLV-2 los cebadores fueron pol1.2 y pol3.2. Para la segunda amplificación del gen *tax* del HTLV-1/2 los cebadores internos fueron comunes para ambos virus [222]. Las reacciones de amplificación se realizaron en un termociclador (GeneAmp PCR system 2400, Perkin Elmer). La temperatura de apareamiento se calculó según

la siguiente fórmula: 2. (A + T) + 4. (G + C) y la ronda de ciclos fue la siguiente: 5 minutos a 94°C, 35 ciclos (extensión de 2 seg. por ciclo) con 1 minuto a 94°C y 1 minuto a 56°C y 2 minutos a 72°C, con unos 7 minutos finales a 72°C. Como control interno de extracción de ADN se realizó una PCR para el gen de  $\beta$ -actina con los cebadores  $\beta$ 1 y  $\beta$ 2 (Tabla 1). Las muestras se consideraron como positivas cuando se obtuvo amplificación de ambos genes para cada tipo viral específico, y se consideraron como indeterminadas por PCR cuando solo se logró amplificar uno de los dos genes analizados [197]. La nested PCR que se utilizó presentó una sensibilidad de 1 copia de ADN por cada  $10^5$  células para HTLV-1 y de 15 copias de ADN cada  $10^5$  células para HTLV-2.

**Tabla 1.** Pares de cebadores usados para la amplificación de HTLV-1 y HTLV-2.

**Primer ciclo**

Cebadores	Gen- Virus	Posición	Secuencia (5' → 3')
SK110	pol- 1	4757- 4778	CCC TAC AAT CCA ACC AGC TCA G
	pol- 2	4735- 4756	CCA TAC AAC CCC ACC AGC TCA G
SK111	pol- 1	4942- 4919	GTG GTG AAG CTG CCA TCG GGT TTT
	pol- 2	4920- 4897	GTG GTG GAT TTG CCA TCG GGT TTT
SK43	tax- 1	7358- 7377	CGG ATA CCC AGT CTA CGT GT
	tax- 2	7248- 7267	TGG ATA CCC CGT CTA CGT GT
SK44	tax- 1	7516- 7496	GAG CCG ATA ACG CGT CCA TCG
	tax- 2	7406- 7368	AG CTG ACA ACG CGT CCA TCG
$\beta$ <sub>1</sub> -actina			GGA CCT GAC TGA CTA CCT CAT GAA
$\beta$ <sub>2</sub> -actina			GAT CCA CAT CTG CTG GAA GGT GG

**Segundo ciclo**

Cebadores	Gen- Virus	Posición	Secuencia (5' → 3')
POL1.1	pol- 1	4782- 4805	TTG TAG AAC GCT CTA ATG GCA TTC
POL3.1	pol- 2	4917- 4894	TGG CAG TTG GTT AAC ACA TTC AGG
POL1.2	pol- 1	4758- 4780	CCT GGT CGA GAG AAC CAA TGG TG
POL 3.2	pol- 2	4895- 4872	CCA CTG GGG TTC ATG ACA TTT AGC
Inner sense 43/44	tax- 2	7264- 7283	GTG TTT GGC GAT TGT GTA CA
Inner antisense 43/43	tax- 1/2	7501- 7485	CCA TCG ATG GGG TCC CA

### *Visualización de bandas*

El producto de PCR se sembró en un gel de agarosa 1% en buffer solución de tris- borato-EDTA (TBE) 1X, junto con marcadores de peso molecular de 100pb y se visualizó con luz ultravioleta (UV) por tinción con Bromuro de Etidio 0,5g/ml. Las muestras se corrieron 30 minutos a 100 volts. Para el caso de la  $\beta$ -actina debe observarse una banda de 523pb. Para el HTLV-1 se observaron bandas de 198pb para el gen *pol* y de 159pb para el gen *tax*. En cuanto al HTLV-2, las bandas obtenidas fueron de 138pb para *pol* y 128pb para *tax*.

### *Secuenciación*

Para el análisis filogenético se amplificó la región LTR del HTLV-1 y HTLV-2 con los cebadores externos específicos 8200LA/3VEXT y BSQF6/BSDR3; y los cebadores internos 8200LA/3VINT y BSQF2/BSDR4, respectivamente. El tamaño de los productos de amplificación fueron de 528pb y 665pb, respectivamente. Como controles HTLV-1 positivos se utilizaron: ADN extraído de la línea celular MT2 (productora de HTLV-1) en la mínima dilución positiva y muestras HTLV-1 positivas conocidas. Como controles HTLV-2 positivos se utilizaron: ADN de la línea celular Mo-T (productora de HTLV-2) y muestras HTLV-2 positivas conocidas. Como controles negativos se utilizaron agua estéril, ADN de la línea celular H9 (no infectada) y muestras negativas para HTLV-1/2 conocidas.

Se llevó a cabo la secuenciación directa utilizando una mezcla comercial (ABI Prism Big Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Version 3.0 mixture, Applied Biosystems), que contiene a los terminadores marcados,

deoxinucleósidos trifosfato, AmpliTaq ADN Polimerasa, pirofosfatasa, cloruro de magnesio y buffer. La mezcla de dNTPs incluye dITP en lugar de dGTP para minimizar la compresión de las bandas. Además utiliza dUTP en lugar de dTTP para mejorar la incorporación de los terminadores. Estas secuencias se generaron en un secuenciador automático (ABI Prism 3100 Genetic Analyzer) siguiendo las instrucciones del fabricante.

### *Análisis filogenético*

Las secuencias fueron examinadas con el programa BioEdit, alineadas con el algoritmo ClustalW y corregidas manualmente [223,224]. Los cálculos de distancia media y la reconstrucción filogenética por medio de neighbour joining (NJ) se realizaron utilizando el programa MEGA 4 para Windows [225]. Para la reconstrucción filogenética primero se eligió el mejor modelo de sustitución nucleotídica empleando el programa MODELTEST 3.07 para Windows y luego se utilizó Maximum Likelihood (ML) para la reconstrucción, por medio del programa PHYML [226]. Los valores de bootstrap para el análisis de ML se obtuvieron con el programa PHYML.

### **Diagnóstico de la infección por HIV-1**

El diagnóstico de HIV-1 se realizó mediante una AP y diferentes ELISAs (Serodia HIV, Fujirebio; GENSCREENPlus HIV AgAb, BioRad, Marnes la Coquette, France; Vironostika HIV-1 Antigen, bioMérieux, Boxtel, The Netherlands; Vironostika HIV Uni-Form II plus O, bioMérieux, Boxtel, The Netherlands; Vironostika HIV Uni-Form II Ag/Ab, Organon Teknika, Boxtel, Netherlands; Murex HIV-1.2.O, Murex, Biotech Ltd, Kent, UK o Anti-HIV TETRA

ELISA, Biotest, Dreieich, Germany). Las muestras que resultaron reactivas para una o ambas determinaciones fueron luego confirmadas por WB (Novapath HIV-I, Immunoblot, BioRad, Hercules, California, USA). Una muestra fue considerada como HIV-1 positiva cuando presentó 2 de las bandas correspondientes a las proteínas gp160/120 (gp 120 y gp160 pueden estar separadas y cuentan como una banda), gp41 y p24; indeterminada si presenta bandas específicas que no cumplen con los criterios de positividad antes mencionados y negativa si no exhibe ninguna banda específica.

### **Serología para la infección por el virus de la hepatitis B (HBV)**

El tamizaje para HBV se realizó mediante diferentes ELISAs dependiendo del año y población de estudio, evaluando la reactividad contra el antígeno de superficie (HBsAg) con los equipos Hepanostika HBsAg Uni-Form II, bioMérieux, Boxtel The Netherlands y los anticuerpos anti-core (anti-HBc) con los equipos de Wiener Laboratorios S.A.I.C., Rosario, Argentina; Hepanostika anti-HBc Uni-Form, bioMérieux, Boxtel, The Netherlands; Bioelisa anti-HBc, Biokit, Barcelona, Spain y Enzygnost Anti-HBc monoclonal, Dade-Behring, Marburg, Germany.

### **Serología para la infección por el virus de la hepatitis C (HCV)**

El tamizaje para HCV se realizó mediante el uso de diferentes ELISAs dependiendo el año y población de estudio: HCV Core Antigen ELISA Test System, Ortho Clinical Diagnostics, Raritan, New Jersey, USA; anti-HCV ELISA, Wiener Laboratories S.A.I.C., Rosario, Argentina; Bioelisa HCV, Biokit, Barcelona, Spain y Murex HCV 4.0, Abbott Laboratories, Abbott, Illinois, USA.

### **Serología para la infección por *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*)**

Todas las muestras fueron evaluadas para la detección de anticuerpos anti-*T. cruzi* mediante una técnica de hemoaglutinación indirecta comercial (Chagatest HAI, Wiener lab, Rosario, Argentina) y ELISA (Chagatek, Organon teknika, Buenos Aires, Argentina). Se consideraron como positivas aquellas muestras que resultaron reactivas en ambas determinaciones según establece la Ley de Chagas 22360 y la nueva Ley 26.281.

### **Diagnóstico para la infección por *Treponema pallidum* (*T. pallidum*)**

La identificación de infecciones pasadas por *T. pallidum* fueron realizadas por VDRL (Wiener Laboratorios, S.A.I.C.) y la confirmación se realizó únicamente en la población de HSH mediante un ensayo de hemoaglutinación pasiva (TPHA Biosystems S.A., Barcelona, Spain) e inmunofluorescencia indirecta (FTA-Abs, Inmunofluor Biocientífica S.A., Argentina).

### **Análisis estadísticos**

Para el estudio de comparación de técnicas serológicas para HTLV-1/2 se calculó la sensibilidad, la especificidad y la tasa de probabilidad con un intervalo de confianza del 95% (IC 95%) de cada uno de los equipos de tamizaje y combinación de 2 equipos evaluados. El índice *kappa* fue calculado para medir el acuerdo del testeo. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el programa STATA versión 8.0 (Stata Corporation, TX, USA). Los datos fueron comparados utilizando  $\chi^2$  y la prueba exacta de Fisher. Todos

los valores de  $p$  computados hasta un nivel de 0.05 fueron reportados como medidas de significancia estadística.

Para todos los estudios epidemiológicos tanto de HTLV-1/2 como de las otras infecciones estudiadas, la prevalencia fue estimada como la proporción de positivos confirmados en toda la población testada. Los IC 95% fueron calculados asumiendo una distribución binomial. La prevalencia y los cambios de ésta en el tiempo fueron analizados con la prueba de  $\chi^2$  estratificados por nacionalidad, edad y sexo. Los análisis estadísticos fueron realizados utilizando el programa SPSS, versión 11.5.0, 2002, Chicago, IL, USA. Para comparar proporciones se utilizaron tanto las pruebas de  $\chi^2$  como la exacta de Fisher. Para estimar la magnitud de asociación de los factores de riesgo para la infección por HTLV-1/2 se aplicó regresión logística expresada como cociente de las probabilidades con IC 95%. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el programa LogXact versión 5.0.1 (Cytel Software Corporation, Cambridge, MA).

En los estudios filogenéticos el porcentaje de similitud fue obtenido mediante la comparación de la secuencia prototipo y las muestras analizadas, para cada uno de los subtipos (prueba de Kruskal-Wallis). La media estimada fue con un IC 95%.



## RESULTADOS

---

## CAPITULO 1

### DIAGNOSTICO DE LA INFECCIÓN

#### ***Comparación de ensayos comerciales de tamizaje para la detección de anticuerpos anti-HTLV-1/2 comúnmente utilizados en bancos de sangre de Argentina.***

Con el objetivo de comparar ensayos comerciales para el diagnóstico de HTLV-1/2 se organizó un panel de sueros que incluyó un total de 478 muestras de las cuales 86 eran HTLV-1 seropositivas, 56 HTLV-2 seropositivas, 305 seronegativas y 31 seroindeterminadas por WB y negativas por nested- PCR.

Para la selección de muestras HTLV-1 y 2 positivas se consideró la técnica de WB (HTLV blot 2.4, Genelabs Diagnostics, Science Park, Singapore) como referencia utilizando los criterios propuestos por la Red Europea de Investigación del HTLV (HERN, *HTLV European Research Network*). Todas las muestras fueron sometidas a una prueba complementaria de nested- PCR para los genes *pol* y *tax* realizadas por duplicado y se las consideró como positivas cuando se obtuvo amplificación de los dos genes estudiados [197,222]. El panel seronegativo se integró por muestras que fueron repetidamente no reactivas por tamizaje; discordantes por tamizaje con al menos dos técnicas, luego seroindeterminadas por WB y finalmente todas fueron confirmadas como negativas por nested- PCR.

De las 478 muestras analizadas, las 86 HTLV-1 positivas pertenecían a 64 donantes de sangre, 11 individuos HIV-1 positivos, 4 UDIs, 4 pacientes con infecciones de transmisión sexual y 3 pacientes con tuberculosis. El panel de sueros HTLV-2 positivos estaba compuesto por 24 muestras de donantes de sangre, 7 individuos HIV-1 positivos, 17 UDIs y 8 mujeres embarazadas. El

grupo de muestras seronegativas incluyó 336 muestras de donantes de sangre de la ciudad de Buenos Aires.

La sensibilidad mide la proporción o porcentaje de participantes con la enfermedad (en este caso individuos HTLV-1/2 positivos) definidos según un test de referencia. En nuestro caso, la sensibilidad se calculó según:

La especificidad mide la proporción o porcentaje de participantes que están libres de la enfermedad (en este caso individuos HTLV-1/2 negativos) según el test de referencia y que son correctamente clasificados como libres de la enfermedad por el test que se está analizando.

Para calcular la sensibilidad y la especificidad, se clasificaron los sueros de los individuos en: HTLV-1 o HTLV-2 positivos y negativos. Luego se los clasificó como positivos o negativos según cada uno de los equipos analizados y por último se relacionaron los resultados de los tests de referencia (WB y PCR) con los obtenidos para cada uno de los equipos analizados, utilizando una tabla de 2x2 como la que se muestra a continuación en la Tabla 2:

**Tabla 2.** Tabla de 2x2 confeccionada para determinar posteriormente la sensibilidad y especificidad de cada uno de los equipos de tamizaje de HTLV-1/2 analizados.

		<b>Individuos HTLV-1 o HTLV-2 positivos por tests de referencia</b>	<b>Individuos negativos para HTLV-1/2 por tests de referencia</b>
<b>Positivo según equipo analizado</b>	<b>A=</b> número de individuos HTLV-1 o 2 positivos que resultaron también positivos con el equipo analizado <b>Verdaderos positivos</b>	<b>B=</b> número de individuos negativos que resultaron positivos con el equipo analizado <b>Falsos positivos</b>	
<b>Negativo según equipo analizado</b>	<b>C=</b> número de individuos HTLV-1 o 2 positivos que resultaron negativos con el equipo analizado <b>Falsos negativos</b>	<b>D=</b> número de individuos negativos que también resultaron negativos con el equipo analizado <b>Verdaderos Negativos</b>	
	<b>A+C=</b> total de individuos HTLV-1 o 2 positivos	<b>B+D=</b> total de individuos negativos	

La sensibilidad fue entonces calculada según la siguiente fórmula:

$$\text{Sensibilidad (\%)} = \frac{A}{A+C} \times 100\% = \frac{\text{Verdaderos positivos}}{(\text{Verdaderos positivos} + \text{falsos negativos})} \times 100\%.$$

Y la especificidad se calculó según:

$$\text{Especificidad (\%)} = \frac{D}{B+D} \times 100\% = \frac{\text{Verdaderos negativos}}{(\text{Verdaderos negativos} + \text{falsos positivos})} \times 100\%.$$

La sensibilidad obtenida para cada uno de los distintos ensayos analizados para la detección de HTLV-1/2 se muestra en la Tabla 3.

En cuanto a la sensibilidad para la infección por HTLV-1, 3 equipos de tamizaje fueron responsables de 4 resultados falsos negativos en 2 muestras diferentes: una muestra no fue detectada por Fujirebio, Vironostika ni Murex al mismo tiempo; mientras que la otra muestra no fue detectada únicamente por Vironostika (Tabla 3). Por otro lado, en relación a la infección por HTLV-2, hubo 10 resultados falsos negativos en 5 muestras diferentes: 1 muestra no fue detectada ni por Fujirebio, ni Vironostika ni Murex al mismo tiempo; otras 2 muestras no fueron detectadas por Biokit y Murex concomitantemente; y dos muestras no fueron detectadas solo por Vironostika.

La sensibilidad para HTLV-1 varió de 97.7% a 100%, siendo Biokit el equipo más sensible para la infección por HTLV-1 (100%) seguido por Fujirebio (98.8%), Murex (98.8%), y Vironostika (97.7%). La sensibilidad para HTLV-2 varió de 94.6% a 98.2%. Fujirebio (98.2%) resultó el ser el equipo más sensible para la infección por HTLV-2 seguido por Biokit (96.4%), Murex (94.6%) y Vironostika (94.6%). La sensibilidad conjunta para HTLV-1/2 varió desde 96.5% a 98.6%, siendo Fujirebio y Biokit los equipos más sensibles (98.6%), seguidos de Murex (97.2%) y finalmente Vironostika (96.5%).

**Tabla 3:** Sensibilidad de cuatro ensayos comerciales de tamizaje (Fujirebio, BioKit, Vironostika, Murex) en relación al resultado de WB y nested- PCR para HTLV-1 y HTLV-2.

Ensayos	Sensibilidad		
	HTLV-1% (IC 95%)	HTLV-2 % (IC 95%)	HTLV-1/2 % (IC 95%)
<b>Fujirebio</b>	98.8 (94.4, 99.9)	98.2 (91.5, 99.9)	98.6 (95.4, 99.8)
<b>Biokit</b>	100.0 (96.6, 100.0)	96.4 (88.7, 99.4)	98.6 (95.4, 99.8)
<b>Vironostika</b>	97.7 (92.5, 99.6)	94.6 (86.1, 98.6)	96.5 (92.4, 98.7)
<b>Murex</b>	98.8 (94.4, 99.9)	94.6 (86.1, 98.6)	97.2 (93.4, 99.1)

*Nota: HTLV, virus linfotrópico T humano; IC, intervalo de confianza.*

Las especificidades para la infección por HTLV-1/2 fueron de 99.7%, 97.0%, 95.8%, y 92.9% para Murex, Biokit, Fujirebio y Vironostika, respectivamente; las cuales se pueden observar Tabla 4. Además, cuando se compararon los equipos en relación a los resultados por WB y PCR, el equipo que presentó un mayor índice de acuerdo fue Murex ( $\kappa=0.97$ , IC 95%: 0.95-1.00) en comparación con los otros equipos (Tabla 4).

**Tabla 4:** Características de la eficiencia de los 4 equipos analizados (Fujirebio, BioKit, Vironostika, Murex) comparados con los resultados de WB y nested- PCR para HTLV-1 y HTLV-2/HTLV-1/2.

Ensayos	Especificidad % (IC 95)	Likelihood ratio % (IC 95)	Kappa % (IC 95)
<b>Fujirebio</b>	95.8 (93.3, 97.6)	23.7 (14.1, 39.3)	0.92 (0.88, 0.96)
<b>Biokit</b>	97.0 (94.8, 98.5)	33.1 (18.0, 61.0)	0.94 (0.91, 0.97)
<b>Vironostika</b>	92.9 (89.7, 95.3)	13.5 (9.2, 19.9)	0.86 (0.81, 0.91)
<b>Murex</b>	99.7 (98.5, 100.0)	326.5 (46.1, 2311.9)	0.97 (0.95, 1.00)

*Nota: HTLV, virus linfotrópico T humano; IC, intervalo de confianza.*

De las 336 muestras HTLV-1/2 negativas, hubo 49 resultados falsos positivos (14 por Fujirebio, 10 por Biokit, 24 por Vironostika, y uno por Murex) de los cuales 27 han sido reactivas con un equipo por vez, mientras que las

restantes 11 mostraron reactividad concomitantemente con 2 equipos (Fujirebio y Biokit; Fujirebio y Vironostika; y Biokit y Vironostika). De las 38 muestras falsas reactivas, 7 resultaron negativas por WB y PCR mientras que las restantes 31 fueron indeterminadas por WB y negativas por PCR (Tablas 5- 6).

**Tabla 5:** Comparación de los 4 equipos analizados (Fujirebio, BioKit, Vironostika, Murex) en relación a los resultados por WB.

Western blot	Fujirebio		BioKit		Vironostika		Murex	
	Reactivo	Negativo	Reactivo	Negativo	Reactivo	Negativo	Reactivo	Negativo
<b>Positivo (n = 142)</b>	140	2	140	2	137	5	138	4
<b>HTLV-1 (n = 86)</b>	85	1	86	0	84	2	85	1
<b>HTLV-2 (n = 56)</b>	55	1	54	2	53	3	53	3
<b>Negativo (n = 305)</b>	1	304	5	300	2	303	0	305
<b>Indeterminado (n = 31)</b>	13	18	5	26	22	9	1	30
<b>Total (n = 478)</b>	<b>154</b>	<b>324</b>	<b>150</b>	<b>328</b>	<b>161</b>	<b>317</b>	<b>139</b>	<b>339</b>

*Nota: HTLV, virus linfotrópico T humano.*

**Tabla 6:** Comparación de los 4 equipos analizados en relación a los resultados por nested-PCR.

Nested-PCR	Fujirebio		BioKit		Vironostika		Murex	
	Reactivo	Negativo	Reactivo	Negativo	Reactivo	Negativo	Reactivo	Negativo
<b>Positivo (n = 142)</b>	140	2	140	2	137	5	138	4
<b>HTLV-1 (n = 86)</b>	85	1	86	0	84	2	85	1
<b>HTLV-2 (n = 56)</b>	55	1	54	2	53	3	53	3
<b>Negativo (n = 336)</b>	14	322	10	326	24	312	1	335
<b>Total (n = 478)</b>	<b>154</b>	<b>324</b>	<b>150</b>	<b>328</b>	<b>161</b>	<b>317</b>	<b>139</b>	<b>339</b>

*Nota: HTLV, virus linfotrópico T humano.*

Para determinar el algoritmo óptimo de tamizaje utilizando dos ensayos diferentes en combinación, se utilizó el criterio de positividad conjunta por lo que las muestras fueron caracterizadas como positivas solo si eran reactivas por ambos equipos. El análisis determinó que la mayor eficiencia se obtiene con la combinación del equipo de Murex y de Biokit, independientemente del orden de utilización (Tabla 7).

**Tabla 7:** Análisis para determinar el algoritmo óptimo utilizando una combinación de dos equipos comerciales.

Orden de combinación	Muestras negativas con resultado falso positivo en el 1° análisis	Muestras positivas con resultado falso negativo en el 1° análisis	Sensibilidad	Especificidad	LR+
1° Biokit 2° Murex	10	2 HTLV-2	97,18	100,00	∞
1° Murex 2° Biokit	1	1 HTLV-1 y 3 HTLV-2)			
1° Fujirebio 2° Murex	14	1 HTLV-1 y 1 HTLV-2	97,18	100,00	∞
1° Murex 2° Fujirebio	1	1 HTLV-1 y 3 HTLV-2			
1° Fujirebio 2° Biokit	14	1 HTLV-1 y 1 HTLV-2	97,18	100,00	∞
1° Biokit 2° Fujirebio	10	2 HTLV-2			
1° Fujirebio 2° Vironostika	14	1 HTLV-1 y 1 HTLV-2	96,48	97,92	46,31
1° Vironostika 2° Fujirebio	24	2 HTLV-1 y 3 HTLV-2			
1° Vironostika 2° Murex	24	2 HTLV-1 y 3 HTLV-2	95,07	100,00	∞
1° Murex 2° Vironostika	1	1 HTLV-1 y 3 HTLV-2			
1° Biokit 2° Vironostika	10	2 HTLV-2	95,07	99,40	159,72
1° Vironostika 2° Biokit	24	5 (2 HTLV-1; 3 HTLV-2)			

*Nota: HTLV, virus linfotrópico T humano; LR+, likelihood ratio.*

### ***Detección molecular de HTLV-1/2 y su asociación con patrones indeterminados específicos de Western blot (WB)***

Para verificar el estado de infección de casos que resultaron con diagnóstico indeterminado para HTLV-1/2 por la técnica de Western blot se estudiaron un total de 83 muestras de las cuales 49 pertenecían a donantes

de sangre y 34 a individuos de poblaciones de riesgo (11 HSH, 13 TS, 4 UDIs, 3 pacientes con tuberculosis y 3 individuos HIV-1 positivos) [142,218-221].

Para realizar el análisis de asociación de una determinada población con los diferentes patrones de WB, los mismos fueron clasificados en 4 categorías: 1) patrón HTLV-1 Gag indeterminado, comúnmente conocido como HGIP, que presenta las bandas correspondientes a p19, p26, p28, p32, y p53; 2) patrón Gag con las bandas p19 y/o p24; 3) patrón Env con la banda correspondiente a GD21 independientemente de la existencia de otra banda (considerando que la presencia de GD21 ha sido asociada más frecuentemente con infección); y 4) patrón Mix incluye a todos aquellos patrones que no clasificaban en ninguna de las categorías anteriormente descritas.

De las 83 muestras seroindeterminadas analizadas, 35 presentaron un patrón HGIP, 26 Gag, 15 Env, y 7 Mix. La distribución de los diferentes patrones de WB por población se muestra en la Tabla 8. El patrón HGIP fue significativamente más frecuente ( $p=0.03$ ) que los otros patrones seroindeterminados en el grupo de donantes de sangre a diferencia de lo que se observa en las poblaciones de riesgo donde ningún patrón fue mayoritario.

**Tabla 8:** Clasificación de los distintos patrones de WB indeterminados distribuidos por población de riesgo y donantes de sangre.

Población	Patrones de WB distribuidos por población			
	HGIP n (%)	Gag n (%)	Env n (%)	Mix n (%)
<b>Poblaciones de riesgo (n=34)</b>	9 (26.5)	13 (38.2)	9 (26.5)	3 (8.8)
<b>Donantes de sangre (n=49)</b>	26 (53.1)	13 (26.5)	6 (12.2)	4 (8.2)
<b>Total (n=83)</b>	<b>35</b>	<b>26</b>	<b>15</b>	<b>7</b>

*Nota: WB: Western blot; HGIP, patron HTLV Gag indeterminado.*



De las 83 muestras analizadas, 70 (84.3%) resultaron negativas tanto para HTLV-1 como para HTLV-2; mientras que 11 (13.2 %) fueron HTLV-1/2 positivas, siendo 11 HTLV-1 y 2 de ellas coinfectadas con HTLV-2. Del total, 2 (2.4%) amplificaron solo el gen *pol* de HTLV-1 o *tax* de HTLV-2, respectivamente interpretándose como indeterminadas.

De los 49 donantes de sangre, 1 (2.0%) resultó HTLV-1 positivo con un patrón Gag (p24). Entre las 34 muestras de la población de riesgo, 10 (29.4%) fueron HTLV-1 positivas y dos de ellas presentaron coinfecciones con HTLV-2. Entre los casos HTLV-1/2 positivos se observó una diferencia significativamente superior en la población de riesgo comparada con los donantes de sangre ( $p=0.01$ ). La distribución de los casos HTLV-1 y 2 positivos por población y patrón de WB indeterminado se muestra en la Tabla 9.

**Tabla 9:** Distribución de los casos HTLV-1 y 2 positivos según la población estudiada y el patrón de WB indeterminado.

Población	Número (%) de individuos HTLV-1 y 2 positivos			
	HGIP	Gag	Env	Total
<b>Población de riesgo n= 34</b>	1 (2.9)	3 (8.8)	6 <sup>a</sup> (17.6)	10 (29.4)
<b>Donantes de sangre n= 49</b>	-	1 (2.0)	-	1 (2.0)
<b>Total n= 83</b>	<b>1 (1.2)</b>	<b>4 (4.8)</b>	<b>6 (7.2)</b>	<b>11 (13.2)</b>

*Nota: HGIP, patrón HTLV Gag indeterminado. <sup>a</sup> Dos de los 6 casos estaban coinfectados con HTLV-1 y 2*

Las bandas observadas en los patrones de WB de todos los casos positivos según la población se muestran en la Tabla 10.

**Tabla 10:** Descripción de las bandas presentes en los distintos patrones de WB indeterminados de los individuos HTLV-1 y 2 positivos por nested- PCR.

<b>Población/ Positivos</b>	<b>HSH</b>	<b>TS</b>	<b>UDI</b>	<b>DS</b>
<b>HTLV-1</b>	p19 p24 GD21, p19	p19 HGIP GD21	GD21, p24 GD21, p24 GD21, p24 GD21, HGIP	p24
<b>HTLV-1 y HTLV-2</b>	-	-	GD21, p24 GD21, p24	-
<b>Indeterminados</b>	-	p24 ( <i>tax-II</i> ) p19 ( <i>pol-I</i> )	-	-

*Nota: HSH, hombres que tienen sexo con hombres; TS, trabajadoras sexuales; UDI, usuarios de drogas inyectables; DS, donantes de sangre; HGIP, patrón HTLV Gag indeterminado. Cada fila en la tabla representa un único patrón de WB.*

## CAPITULO 2

### ESTUDIOS EPIDEMIOLOGICOS

#### ***Estimación de la prevalencia de HTLV-1/2 en poblaciones de bajo riesgo: donantes de sangre y mujeres embarazadas***

##### *Donantes de sangre*

Las donaciones de sangre fueron clasificadas como de reposición si los donantes reportaban que la razón para donar era que tenían un amigo o familiar internado; y como voluntario si el donante manifestaba hacerlo periódicamente de forma altruista y no remunerada. De las 28,483 donaciones de sangre, 7,442 (26.1%) fueron donantes mujeres, 14,582 (51.2%) fueron menores a 35 años, y 23,746 (83.4%) fueron argentinos. Del total de donantes, 285 (1.0%) fueron voluntarios de los cuales 105 (36.8%) eran mujeres, 180 (63.2%) hombres y 243 (85.3%) argentinos. Entre las 285 donaciones voluntarias, 55 muestras (19.3%) pertenecían a 18 donantes repetidos durante el período de estudio. El número de donaciones varió de un mínimo de 3,912 en 2006 a un máximo de 5,223 en 2004.

La prevalencia de muestras repetidamente reactivas para HTLV-1/2 fue de 0.8% (221/28,483) (IC 95% 0.67-0.88) y luego de la confirmación por WB fue de 0.1% (28/28,483) (IC 95% 0.063-0.15). Del total, 21 resultaron HTLV-1 (0.07%) y 7 HTLV-2 seropositivas (0.03%). Se observó una tendencia decreciente de la infección por HTLV-1/2 entre los hombres ( $p=0.004$ ). No se registró infección por HTLV-1/2 entre los donantes de sangre voluntarios.

De los 21 individuos HTLV-1 positivos, 9 eran argentinos (5 de la ciudad de Buenos Aires y alrededores, tres de Jujuy y uno de Misiones), 4 paraguayos, 4 peruanos, dos chilenos, y un boliviano. En cuanto a los

individuos HTLV-2 positivos, tres eran argentinos (de Buenos Aires), dos peruanos y un uruguayo (Tabla 11). No se obtuvo información de 2 individuos.

**Tabla 11.** Procedencia de los donantes de sangre que resultaron positivos para HTLV-1/2.

<b>País de origen</b>	<b>HTLV-1 (n=21)</b>	<b>HTLV-2 (n=7)</b>
<b>Argentina</b>	9	3
<b>Paraguay</b>	4	-
<b>Perú</b>	4	2
<b>Chile</b>	2	-
<b>Bolivia</b>	1	-
<b>Uruguay</b>	-	1
<b>Sin Datos</b>	1	1

De los 21 individuos HTLV-1 positivos, cuatro presentaban anticuerpos anti-HBV. De estos cuatro casos, dos estaban coinfectados con *T. cruzi* y uno de ellos presentaba además infección por *T. pallidum*. No se observaron coinfecciones con HTLV-1/2 y HIV-1. La comparación entre HTLV-1/2 y HBV, *T. cruzi* y *T. Pallidum* no mostró ninguna asociación significativa cuando se aplicó la prueba de Fisher.

La prevalencia de infección por HIV-1 fue de 0.3% por técnicas de tamizaje (82/28,483) (IC 95% 0.22-0.35) y 0.2% (45/28,483) (IC 95% 0.110-0.206) luego de la confirmación por WB. De los 45 individuos HIV-1 positivos, 33 eran argentinos (23 de la ciudad de Buenos Aires y alrededores, dos de Misiones, dos de Corrientes, una de Jujuy, una de La Rioja y uno de Santiago del Estero), 7 paraguayos, tres peruanos y dos uruguayos. No obtuvimos información de dos individuos (Tabla 12).

**Tabla 12.** Procedencia de los donantes de sangre que resultaron positivos para HIV-1.

País de origen	HIV-1 (n=45)
Argentina	33
Paraguay	7
Perú	3
Chile	-
Bolivia	-
Uruguay	2
Sin Datos	-

De los 45 donantes HIV-1 positivos, 7 eran además positivos para anti-HBc. De estos 7 casos, uno también presentaba coinfección con HCV, dos coinfecciones con *T. cruzi* y uno además con *T. pallidum*. Se observaron además, coinfecciones HIV-1/HCV en dos individuos y HIV-1/*T. pallidum* en otros dos individuos.

La Tabla 13 muestra las prevalencias de HTLV-1/2 y HIV-1 por año y sexo. La prevalencia de la infección por HIV-1 se mantuvo a lo largo del período estudiado pero se observó una disminución estadísticamente significativa entre donantes hombres comparados con las mujeres ( $p < 0.05$ ).

No se observó infección por HIV-1 entre los donantes de sangre voluntarios. No se observaron coinfecciones HTLV/HIV-1 ni en los donantes de sangre de reposición ni en los voluntarios.

**Tabla 13a.** Prevalencia de las muestras confirmadas para la infección por HTLV-1/2 y HIV-1 en donantes de sangre de Buenos Aires, Argentina estratificados por año de estudio.

Marcador de infección	AÑO					
	2003 N=5156 % (95%CI)	2004 N=5223 % (95%CI)	2005 N=4666 % (95%CI)	2006 N=3912 % (95%CI)	2007 N=4650 % (95%CI)	2008 N=4876 % (95%CI)
Anti-HTLV-1/2	1.028 (0.016-0.220)	0.785 (0.006-0.185)	1.029 (0.007-0.210)	0.792 (0.039-0.366)	0.516 (0.019-0.264)	0.513 (0.019-0.312)
Anti-HIV-1	0.150 (0.018-0.284)	0.282 (0.103-0.461)	0.262 (0.076-0.447)	0.090 (0.019-0.264)	0.159 (0.019-0.573)	0.194 (0.036-0.351)

**Tabla 13b.** Prevalencia de las muestras confirmadas para la infección por HTLV-1/2 y HIV-1 en donantes de sangre mujeres de Buenos Aires, Argentina estratificados por año de estudio.

Marcador de infección	AÑO					
	2003 N=1181 % (95%CI)	2004 N=1322 % (95%CI)	2005 N=1229 % (95%CI)	2006 N=1120 % (95%CI)	2007 N=1331 % (95%CI)	2008 N=1259 % (95%CI)
Anti-HTLV-1/2	0.0	0.0	0.0	0.18 (0.022-0.644)	0.23 (0.047-0.657)	0.24 (0.049-0.695)
Anti-HIV-1	0.0	0.0	0.0	0.09 (0.002-0.496)	0.0	0.16 (0.019-0.573)

**Tabla 13c.** Prevalencia de las muestras confirmadas para la infección por HTLV-1/2 y HIV-1 en donantes de sangre hombres de Buenos Aires, Argentina estratificados por año de estudio.

Marcador de infección	AÑO					
	2003 N=3975 % (95%CI)	2004 N=3901 % (95%CI)	2005 N=3437 % (95%CI)	2006 N=2792 % (95%CI)	2007 N=3319 % (95%CI)	2008 N=3617 % (95%CI)
Anti-HTLV-1/2	0.08 (0.016-0.220)	0.05 (0.006-0.185)	0.06 (0.007-0.210)	0.14 (0.039-0.366)	0.09 (0.019-0.264)	0.17 (0.019-0.312)
Anti-HIV-1	0.15 (0.018-0.284)	0.28 (0.103-0.461)	0.26 (0.076-0.447)	0.22 (0.025-0.405)	0.09 (0.019-0.264)	0.19 (0.036-0.351)

#### *Mujeres embarazadas*

Se estudiaron un total de 2403 mujeres embarazadas de cuatro provincias de Argentina: Buenos Aires (n=1045), Neuquén (n=707), San Juan (n=556) y Tierra del Fuego (n=95). La prevalencia final de HTLV-1/2 en mujeres embarazadas de las diferentes provincias analizadas fue de 0.2 (6/2403) siendo de 0.17% para HTLV-1 (4/2403) y de 0.08% (2/2403) para HTLV-2.

En la ciudad autónoma de Buenos Aires, se estudiaron 804 mujeres embarazadas de la Maternidad “Dr. Ramón Sardá”. Del total estudiado (n=804), 2 resultaron HTLV-1 positivas (2/804), con una prevalencia final de 0.25%. En cuanto al análisis de otras infecciones, 7 (0.9%) resultaron HIV-1 positivas, 2 (0.2%) HBV positivas, 3 (0.4%) HCV positivas, 358 (44.52 %) fueron positivas

para *T. gondii*, 48 (6.0 %) resultaron *T. cruzi* positivas y 14 (1.74%) fueron VDRL reactivas.

En cuanto a las coinfecciones, cuatro (0.49%) presentaban coinfecciones de *T. cruzi* y *T. pallidum*, 2 (0.31%) resultaron HIV-1 y *T. gondii* positivas, 1 (0.12%) resultó HIV-1 y HCV positiva y 34 (4.23%) presentaban coinfección *T. gondii* y *T. cruzi*.

Además, se estudiaron 241 mujeres embarazadas del Hospital Interzonal General de Agudos "Dr. Pedro Fiorito". Del total estudiado (n=241), 1 resultó HTLV-2 positiva (1/241), con una prevalencia final de 0.4%. En cuanto al análisis de otras infecciones, 4 (1.7%) resultaron HIV-1 positivas, 4 (1.7 %) fueron positivas para *T. gondii*, 3 (1.24 %) resultaron *T. cruzi* positivas, 3 (1.24%) fueron VDRL reactivas. No se observaron coinfecciones de HTLV-1/2 con ninguno de los patógenos estudiados.

En la provincia de Neuquén, se estudiaron retrospectivamente un total de 707 muestras de mujeres embarazadas del Hospital "Dr. Castro Rendón" de Neuquén. Del total estudiado (n=707), una muestra resultó positiva para HTLV-1 con una prevalencia de 0.14%, y otra resultó positiva para HTLV-2 con una prevalencia de 0.14%, siendo la prevalencia final de HTLV-1/2 de 0.3% (2/707). En cuanto a infecciones con otros patógenos, de las 646 muestras analizadas, 100 (14.4 %) fueron positivas para *T. gondii*, 9 (1.40 %) resultaron *T. cruzi* positivas, 7 (1%) fueron VDRL reactivas, 3 (0.42%) presentaban coinfecciones de *T. gondii* y *T. pallidum*, 2 (0.31%) resultaron HIV-1 positivas sin presencia de otra coinfección, y 2 (0.28%) casos de coinfección por *T. gondii* y *T. cruzi*.

En la provincia de San Juan, se estudiaron 556 mujeres embarazadas del Hospital "Dr. Guillermo Rawson". Del total estudiado (n=556), no se

observaron infecciones por HTLV-1/2. En cuanto al análisis de otras infecciones, 1 (0.2%) resultó HIV-1 positiva, 2 (0.2%) HBV positivas, 14 (2.5%) fueron positivas para *T. gondii*, 13 (2.3 %) resultaron *T. cruzi* positivas, 5 (0.9%) fueron VDRL reactivas, 2 (0.2%) presentaban coinfecciones de *T. cruzi* y *T. pallidum*, y 1 (0.2%) resultó coinfectada con *T. cruzi* y *T. gondii*.

En la ciudad de Ushuaia se estudiaron 95 mujeres embarazadas del Hospital Regional de Ushuaia. Del total (n=95), solo una (1.05%) resultó HTLV-1 positiva. Este caso se trató de una mujer nacida en Jujuy (zona endémica para el HTLV-1), pareja de un individuo HTLV-1 positivo con antecedentes familiares (hermano) de leucemias a células T del adulto, enfermedad asociada a la infección por HTLV-1. En cuanto a otras infecciones estudiadas, 26 (27.4%) resultaron *T. gondii* positivas, 2 (7.7%) de las cuales presentaban coinfección con *T. cruzi*. Un total de 5 (5.3%) mujeres resultaron *T. cruzi* positivas, 1 (20%) de las cuales estaba a su vez coinfectada con *T. pallidum*.

Los resultados respecto de las mujeres analizadas en las diferentes provincias y las prevalencias para cada una de las infecciones se resumen en la Tabla 14.

**Tabla 14:** Prevalencia de HTLV-1/2, HIV-1, HBV, HCV, *T. cruzi*, *T. pallidum* y *T. gondii* en mujeres embarazadas de las ciudades de Buenos Aires, Neuquén, San Juan y Ushuaia.

<b>Infección</b>	<b>Buenos Aires % (n/N)</b>	<b>Neuquén % (n/N)</b>	<b>San Juan % (n/N)</b>	<b>Ushuaia % (n/N)</b>	<b>Total % (n/N)</b>
<b>HTLV-1/2</b>	0.3 (3/1045)	0.1 (2/707)	0.0 (0/556)	1.0 (1/95)	0.2 (6/2403)
<b>HIV-1</b>	1.1 (11/1045)	0.3 (2/646)	0.2 (1/556)	0 (0/95)	0.6 (14/2403)
<b>HBV</b>	0.2 (2/1045)	ND	0.2 (2/556)	ND	ND
<b>HCV</b>	0.3 (3/1045)	ND	ND	ND	ND
<b><i>T. cruzi</i></b>	0.7 (7/1045)	1.4 (9/646)	2.3 (13/556)	5.3 (5/95)	1.1 (26/2403)
<b><i>T. pallidum</i></b>	1.6 (17/1045)	1.0 (7/646)	0.9 (5/556)	-	ND
<b><i>T. gondii</i></b>	34.6 (362/1045)	14.4 (100/646)	2.5 (14/556)	27.4 (26/95)	37.5 (902/2403)

*Nota: ND, no determinada ya que en algunas ciudades no se realizó la determinación.*



En cuanto a las infecciones de detección obligatoria, se puede observar que la prevalencia de HIV-1 no difiere significativamente entre las provincias estudiadas al igual de lo que ocurre para HBV entre Buenos y San Juan ( $p=0.9$ , IC 95% -0.009-0.005). En cuanto a la infección por *T. cruzi*, Buenos Aires presenta la prevalencia mas baja (0.7%), la cual no es estadísticamente significativa respecto de la provincia de Neuquén (1.4%) ( $p=0.2$ , IC 95% -0.019-0.004) pero si respecto de las provincias de San Juan Y Tierra del Fuego donde las prevalencias fueron de 2.3% y 5.3%, respectivamente ( $p=0.009$ ., IC 95% -0.002-0.032). Para *T. gondii* no hay diferencias significativas respecto de las prevalencias en Buenos Aires y Ushuaia ( $p=0.18$ ), pero éstas son significativamente superiores a la de Neuquén ( $p=0.06$ , IC 95% 0.019-0.219), y ésta último lo es respecto de San Juan ( $p<0.05$ , IC 95% 0.097-0.162).

***Estimación de la prevalencia de HTLV-1/2 en poblaciones de alto riesgo: usuarios de drogas inyectables (UDIs), trabajadoras sexuales (TS), hombres que tienen sexo con hombres (HSH), pacientes con tuberculosis (TB) y pacientes con enfermedades de transmisión sexual (ETS) .***

Se realizó un estudio en 2055 individuos pertenecientes a poblaciones de riesgo para la infección por HTLV-1/2, de los cuales 173 eran UDIs, 613 TS, 682 HSH, 187 TB y 400 ETS. Las características demográficas de los 2055 individuos estudiados se muestran en la Tabla 15. La media de edad de todos los participantes varió entre los 29 y 31 años de edad. Hubo un total de 845 (41%) mujeres y 1210 (59%) hombres. El 58% de los participantes poseían

nivel de educación formal superior (secundaria o superior). Se observó un alto nivel de participantes sin empleo formal (66%).

**Tabla 15:** Características demográficas de las distintas poblaciones de riesgo estudiadas (UDIs, TS, HSH, TB y ETS)

<b>Característica</b>	<b>UDIs</b> no (%)	<b>TS</b> no (%)	<b>HSH</b> no (%)	<b>TB</b> no (%)	<b>ETS</b> no (%)
<b>No. participantes</b>	173	613	682	187	400
<b>Grupos etarios (años)</b>					
<b>18-24</b>	37 (21.4)	122 (19.9)	177 (26.0)	49 (27.1)	85 (21.3)
<b>≥ 25</b>	136 (78.6)	491 (80.1)	505 (74.0)	132 (72.9)	315 (78.8)
<b>Edad media (años)</b>	29	31	29	30	31
<b>Sexo</b>					
<b>Masculino</b>	137 (79.2)	-	682 (100)	123 (65.8)	268 (67.0)
<b>Femenino</b>	36 (20.8)	613 (100)	-	64 (34.2)	132 (33.0)
<b>Nivel de educación</b>					
<b>Primario o menor</b>	156 (90.2)	389 (63.5)	33 (4.8)	74 (39.6)	221 (55.3)
<b>Secundario o superior</b>	17 (9.8)	224 (36.5)	649 (95.2)	113 (60.4)	179 (44.8)
<b>Estado laboral</b>					
<b>Empleado</b>	62 (35.8)	120 (19.6)	583 (85.5)	137 (77.4)	263 (65.8)
<b>Desempleado</b>	111 (64.2)	493 (80.4)	99 (14.5)	40 (22.6)	137 (34.3)

*Nota: UDI, usuario de drogas inyectables TS, trabajadora sexual; HSH, hombres que tienen sexo con hombres; TB, pacientes con tuberculosis; ETS, pacientes con enfermedades de transmisión sexual.*

### *Prevalencia de HTLV-1/2*

De las 2055 muestras estudiadas, 55 (2.7%) fueron HTLV-1/2 seropositivas resultando 9 HTLV sin tipificar (0.4%), 17 HTLV-1 (0.8%), 29 HTLV-2 (1.3%), y 27 (1.8%) seroindeterminadas por WB. De las indeterminadas, 12 resultaron HTLV-1/2 positivas por nested-PCR incluyendo

10 HTLV-1 y 2 coinfecciones con HTLV-2 con una prevalencia final para HTLV-1/2 de 3.2% (65/2055). Las 17 muestras indeterminadas restantes resultaron negativas por nested- PCR.

La prevalencia final para HTLV-1 fue de 1.3% (27/2055) incluyendo 8 UDIs, 9 TS, 3 HSH, 3 TB y 4 ETS. Para HTLV-2 la prevalencia final fue de 1.5% (31/2055) siendo los positivos 29 UDIs, una TS y un TB. La prevalencia más alta de infección por HTLV-1/2 se observó en los UDIs (19.1%) siendo significativamente superior ( $p < 0.05$ , IC 95% 0.102–0.237) comparada con las demás poblaciones estudiadas como los TB (4.3%), ETS (2.3%), TS (2.0%), y los HSH (0.4%). La prevalencia más alta de infección por HTLV-1 se observó en los UDIs (4.6%), seguido de los TB (1.6%), TS (1.5%), ETS (1.0%) y los HSH (0.4%). La mayoría de las infecciones por HTLV-2 fueron observadas en los UDIs, dando una prevalencia de 15.6%, seguida por las TS y TB con una prevalencia de 0.5%. Se observaron diferencias significativas superiores en la prevalencia de HTLV-1 comparado con el HTLV-2 entre los UDIs ( $p = 0.0013$ , IC 95% 0.178; 0.042) y TS ( $p = 0.0262$ , IC 95% 0.001; 0.025). No se detectó HTLV-2 en los HSH ni en los ETS. La Tabla 16 muestra la prevalencia final de la infección por HTLV-1/2 para cada población de riesgo.

**Tabla 16:** Prevalencia de infección por HTLV-1, HTLV-2 y HTLV-1/2 luego de confirmación por WB y nested-PCR en UDIs, TS, HSH, TB y ETS.

Población	HTLV-1 positivo		HTLV-2 positivo		HTLV-1/2 positivo	
	No.	Prevalencia % (IC 95%)	No.	Prevalencia % (IC 95%)	No.	Prevalencia % (IC 95%)
<b>UDIs (n=173)</b>	8	4.6 (1.2,8.0)	27	15.6 (9.9,21.3)	33 <sup>a</sup>	19.1 (12.9,25.2)
<b>TS (n=613)</b>	9	1.5 (0.4,2.5)	1	0.2 (0.004,0.9)	10	2.0 (0.8,3.1)
<b>HSH (n=682)</b>	3	0.4 (0.1,1.3)	-	-	3	0.4 (0.1,1.3)
<b>TB (n=187)</b>	3	1.6 (0.3,4.6)	1	0.5 (0.01,2.9)	4	2.1 (0.6,5.4)
<b>ETS (n=400)</b>	4	1.0 (0.3,2.5)	-	-	4	1.3 (0.4,2.9)

*Nota: UDIs, usuarios de drogas inyectables; TS, trabajadoras sexuales; HSH, hombres que tienen sexo con hombres; TB, pacientes con tuberculosis; ETS, pacientes con enfermedades de transmisión sexual. <sup>a</sup> Dos de los UDIs presentaban coinfección HTLV-1 y HTLV-2.*

#### *Coinfección con otros agentes de transmisión sexual y/o parenteral*

La prevalencia de HIV-1, HBV, HCV, *T. pallidum* en los distintos grupos de riesgo y la presencia de coinfecciones con HTLV-1 y 2 se muestran en las tablas 16 y 17. De los 20 casos HTLV-1 positivos observados en todas las poblaciones estudiadas, se reportaron coinfecciones con HCV (51.9%) y/o HBV (63.0%). En los UDIs, el 100% (n=8) de los individuos HTLV-1 estaban coinfectados con HCV, 7 con HBV y otros 7 con HIV-1. La prevalencia de infección por HIV-1, HBV, y HCV en los individuos HTLV-1 positivos fue significativamente superior que en los individuos HTLV-1 negativos ( $p=0.04$ , IC 95% 0.1–0.8;  $p=0.04$ , IC 95% 0.1–0.7;  $p=0.02$ , IC 95% 0.3–0.6, respectivamente). Entre las TS HTLV-1 positivas, se observaron coinfecciones con *T. pallidum* en cinco individuos (5/9, 55.6%). Tres de ellas, además presentaban coinfección con HBV y 1 con HCV. En cuanto a los individuos HSH HTLV-1 positivos, tres presentaban coinfección con HBV, mientras que dos con HCV, y uno con HIV-1. La infección con HCV fue la única

significativamente superior entre los HSH HTLV-1 positivos comparados con los HSH HTLV-1 negativos de la misma población ( $p < 0.05$ , IC 95% 0.1 a 1.4).

**Tabla 17:** Coinfecciones de HTLV-1 con HIV-1, HBC y *T. pallidum* en UDIs, TS, HSH, TB y ETS.

Población de riesgo	HTLV-1	HIV-1	HBV	HCV	<i>T. pallidum</i>
	positivo	no. (%)	no. (%)	no. (%)	no. (%)
	No. casos				
UDIs	8	7 (87.5)	7 (87.5)	8 (100)	ND
TS	9	0 (0)	3 (33.3)	1 (11.1)	5 (55.6)
HSH	3	1 (33.3)	3 (100)	2 (66.7)	2 (66.7)
TB	3	2 (66.7)	3 (100)	2 (66.7)	0 (0)
ETS	4	1 (25.0)	1 (25.0)	1 (25.0)	1 (25.0)
<b>Total</b>	<b>27</b>	<b>11 (40.7)</b>	<b>17 (63.0)</b>	<b>14 (51.9)</b>	<b>8 (42.1)*</b>

*Nota:* UDIs, usuarios de drogas inyectables; TS, trabajadora sexual; HSH, hombres que tienen sexo con hombres; TB, pacientes con tuberculosis; ETS, pacientes con enfermedades de transmisión sexual; ND, no determinado.

Por otro lado, entre los 27 UDIs HTLV-2 positivos, 26 (96,3%), estaban coinfectados con HCV, 25 (92,6%) con HIV-1, y 21 (77,8%) con HBV (Tabla 18). En cuanto a las coinfecciones HTLV-2 con HBV y HCV se observó una diferencia significativamente superior comparados con individuos HTLV-2 negativos de la misma población ( $p < 0.05$ , 95% IC 0.2–0.6;  $p < 0.05$ , 95% IC 0.4–0.6).

**Tabla 18:** Coinfecciones de HTLV-2 con HIV-1, HBC y *T. pallidum* en UDIs, TS y TB

Población	HTLV-2	HIV-1	HBV	HCV	<i>T. pallidum</i>
	positivo				
	No. de casos	no. (%)	no. (%)	no. (%)	no. (%)
<b>UDIs</b>	27	25 (92.6)	21 (77.8)	26 (96.3)	-
<b>TS</b>	1	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<b>TB</b>	1	0 (0)	0 (0)	1 (100)	1 (100)

*Nota: UDIs, usuarios de drogas inyectables; TS, trabajadoras sexuales; TB, pacientes con tuberculosis.*

### *Análisis de los factores riesgo*

La única población en las que no se encontraron factores de riesgo asociados para la infección por HTLV-1/2 fue la correspondiente a HSH. Entre los UDIs, los factores de riesgo asociados a la infección por HTLV-1/2 fueron ser menor a 30 años, (cociente de probabilidades [OR]=10.7, IC 95% 1.9–73.9,  $p=0.004$ ) y poseer un nivel de educación primario o inferior (OR=6.7, IC 95% 1.0–pinf,  $p=0.048$ ). Para las TS, el único riesgo asociado fue tener una historia de infección por una enfermedad de transmisión sexual (OR=4.0, 95% IC=1.1–15.4,  $p=0.040$ ). Para los TB, los factores de riesgo asociados significativamente fueron el uso de drogas ilegales (OR=33.8, IC 95% 2.0–564.2,  $p=0.014$ ) y ser UDI (OR=24.8, IC 95% 2.0–308.2,  $p=0.012$ ). En cuanto al grupo de ETS, el único factor de riesgo significativamente asociado fue ser UDI (OR=18.0, IC 95% 1.6–201.9,  $p=0.019$ ).

## CAPITULO 3

### CARACTERIZACION MOLECULAR Y FILOGENIA

#### ***Análisis filogenético de HTLV-1 a partir de casos seropositivos de las distintas poblaciones estudiadas.***

Se analizaron un total de 16 muestras HTLV-1 positivas, de las cuales 2 provenían de mujeres embarazadas, 3 de HSH, 6 de TS y 5 de UDIs. Del total de individuos estudiados, 10 (62.5%) eran mujeres y 6 (37.5%) hombres. Las características epidemiológicas y clínicas de los mismos se muestran en la tabla 19.

**Tabla 19:** Características epidemiológicas de las 16 muestras HTLV-1 positivas.

<b>Población</b>	<b>Muestra</b>	<b>Edad/sexo</b>	<b>Lugar de nacimiento</b>	<b>Lugar de residencia</b>	<b>Factores de riesgo</b>
<b>Mujeres embarazadas</b>	PW1	25/F	Bolivia	Buenos Aires	No
	PW2	41/F	Argentina	Buenos Aires	HIV-1+
<b>UDIs</b>	IDU1	28/M	Argentina	Buenos Aires	HIV-1+
	IDU2	29/M	Argentina	Buenos Aires	HIV-1+
	IDU3	43/F	Argentina	Buenos Aires	HIV-1+
	IDU4	34/M	Argentina	Buenos Aires	HIV-1+
	IDU6	28/F	Argentina	Buenos Aires	HIV-1+/ HTLV-2+
<b>TS</b>	FSW1	45/F	Perú	Buenos Aires	ETS
	FSW2	36/F	Argentina	Salta	área endémica
	FSW3	20/F	Argentina	Salta	área endémica
	FSW4	37/F	Argentina	Salta	área endémica
	FSW5	28/F	Argentina	Buenos Aires	ETS
	FSW6	47/F	Argentina	Buenos Aires	ETS
<b>HSH</b>	MSM2	32M	Argentina	Buenos Aires	HIV-1+/ transfusión
	MSM3	59/M	Argentina	Buenos Aires	HIV-1+
	MSM4	61/M	Argentina	Buenos Aires	HIV-1+

*Nota: UDIs, usuarios de drogas inyectables; TS, trabajadoras sexuales; HSH, hombres que tienen sexo con hombres; ETS, enfermedades de transmisión sexual.*

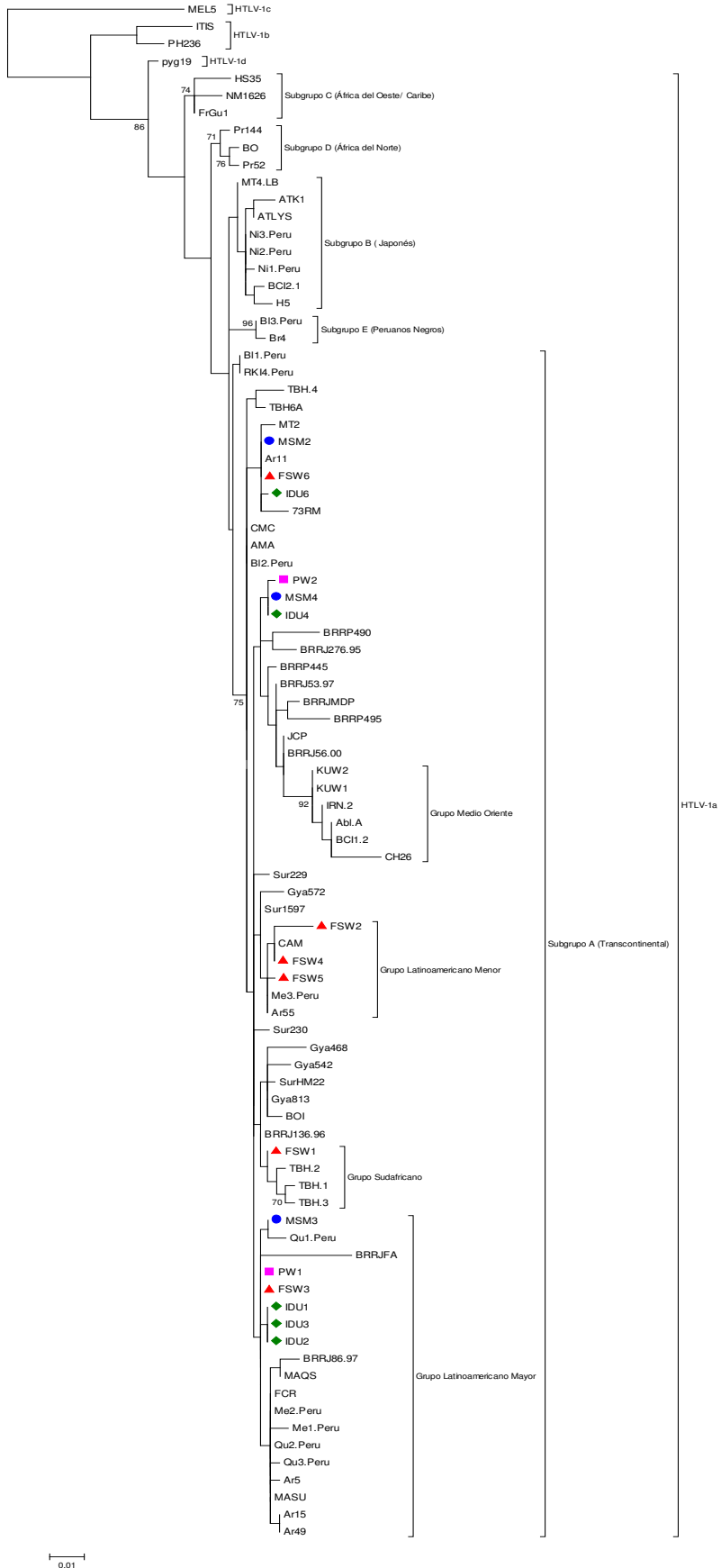
#### ***Análisis filogenético***

Para construir una base de datos comprensible para realizar el análisis filogenético, las secuencias fueron alineadas junto a 75 muestras de referencia de HTLV-1 obtenidas de la base de datos de GenBank, elegidas

preferentemente porque pertenecían a países limítrofes con altas tasas de migración a la Argentina, o bien porque habían sido reportadas en otros países de América del sur. La secuencia de referencia Mel 5, de origen melanésico y subtipo c, fue utilizada como grupo externo. Una vez alineadas y editadas las secuencias, la base de datos consistió en secuencias de 492pb correspondientes a la región 3' LTR.

**Figura 11.** Árbol de Maximum Likelihood (ML) de 89 secuencias de un fragmento de 492pb del LTR del HTLV-1. El análisis de ML se llevó a cabo bajo el modelo de sustitución nucleotídica HKY\_G. Las 16 secuencias correspondientes a las diferentes poblaciones analizadas se muestran de la siguiente manera: ■ mujeres embarazadas, ♦ usuarios de drogas inyectables (UDIs), ▲ trabajadoras sexuales (TS), ● hombres que tienen sexo con hombres (HSH). La secuencia MEL5 se utilizó como outgroup. Los números en las ramas indican el valor de soporte de cada nodo. El origen geográfico de las secuencias de referencia incluidas en el análisis de abajo hacia arriba son los siguientes: Ar49 (Argentina), Ar15 (Argentina), MASU (Brasil), Ar5 (Argentina), Qu3.Peru (Perú), Qu2.Peru (Perú), Me1.Peru (Perú), Me2.Peru (Perú), FCR (Brasil), MAQS (Brasil), BRRJ86.97 (Brasil), BRRJFA (Brasil), Qu1.Peru (Perú), TBH1-3 (Sudáfrica), BRRJ136.96 (Brasil), BOI (Francia), Gya813 (Guyana), SurHM22 (Suriname), Gya542 (Guyana), Gya468 (Guyana), Sur230 (Suriname), Ar55 (Argentina), Me3.Peru (Perú), CAM (Guayana Francesa), Sur1597 (Suriname), Gya572 (Guyana), Sur229 (Suriname), CH26 (Chile), BCI1.2 (Columbia Británica), Abl.A (Sudáfrica), IRN2 (Irán), KUW1-2 (Kuwait), BRRJ56.00 (Brasil), JCP (Brasil), BRRP495 (Brasil), BRRJMDP (Brasil), BRRJ53.97 (Brasil), BRRP445 (Brasil), BRRJ276.95 (Brasil), BRRP490 (Brasil), BI2.Peru (Perú), AMA (Brasil), CMC (Taiwán), 73RM (EEUU), Ar11 (Argentina), MT2 (Japón), TBH6A (Sudáfrica), TBH.4 (Sudáfrica), RKI4.Peru (Perú), BI1.Peru (Perú), Br4 (Brasil), BI3.Peru (Perú), H5 (Japón), BCI2.1 (Columbia Británica), Ni1-3.Peru (Perú), ATLYS (EEUU, Japón), ATK-1 (Japón), MT4.LB (Japón), Pr52 (Marruecos), BO (Algeria), Pr144 (Marruecos), FrGu1 (Guayana Francesa), NM1626 (Guayana Francesa), HS35 (Caribe), pyg19 (África Central), PH236 (Gabón), ITIS (República Democrática del Congo), MEL5 (Islas Salomon).





0.01

El subtipo cosmopolita HTLV-1a se observó separado de los subtipos HTLV-1 b, c, y d (valor de bootstrap: 61% ML). Dentro del subtipo Cosmopolita, se distinguieron cinco subgrupos, como ha sido descrito previamente. Si bien todos ellos han sido consistentemente separados tanto por BIONJ como por ML, solo dos subgrupos, el subgrupo C (África del oeste/ Caribe) (valor de bootstrap: 79% ML) y el subgrupo D (África del norte) (valor de bootstrap: 89% ML), demostraron buen soporte con valores superiores al 75%.

Las 16 muestras de HTLV-1 analizadas, agruparon dentro del subtipo Cosmopolita (valor de bootstrap: 61% ML), subgrupo Transcontinental (valor de bootstrap: 43% ML). De ellas, 6 (37.5%) secuencias agruparon con referencias pertenecientes al grupo latinoamericano mayor y 3 (18.8%) de ellas agruparon en el grupo latinoamericano menor, previamente descrito. La mayoría de las muestras estudiadas agruparon con secuencias de Amerindios que incluían muestras provenientes del noroeste argentino (Ar5, Ar15, Ar49) mientras que tres muestras agruparon fuertemente con cepas provenientes de individuos de Guayana (Gya572) y un Creole de Suriname (Sur1597).

Una secuencia (6.3%) perteneciente a una TS (FSW1) que reportó sexo con argentinos, peruanos y bolivianos agrupó cerca de referencias de Sudáfrica (valor de bootstrap ML >40%).

El análisis filogenético de 6 individuos coinfectados con HTLV-1/HIV-1 mostró 2 grupos: tres de ellas (18.8%) (UDIs1-3) altamente similares agruparon en un clado monofilético dentro del grupo latinoamericano mayor (valores de soporte: 69% BIONJ; 69% ML), y otras tres (ME2, HSH4, UDI4) agruparon juntas sin ninguna secuencia de referencia (valor de bootstrap: 64% ML).

***Análisis filogenético de HTLV-2 a partir de casos seropositivos de las distintas poblaciones estudiadas.***

Se analizaron un total de 26 muestras HTLV-2 positivas de las cuales 7 eran donantes de sangre y 19 eran UDIs. Del total, 9 (34.6%) eran mujeres y 17 (65.4%) hombres. Entre los 7 donantes de sangre, uno provenía de Formosa, otro de Tierra del Fuego y los 5 restantes de Buenos Aires. Los 19 UDIs eran todos HIV-1 positivos y fueron reclutados en la ciudad de Buenos Aires. Las características clínicas y epidemiológicas de todos los individuos se muestran en la tabla 20.

**Tabla 18:** Características epidemiológicas de los individuos estudiados.completar bien las tablas

<b>Población</b>	<b>Muestra</b>	<b>Edad/Sexo</b>	<b>Lugar de residencia</b>	<b>Factor de riesgo</b>
<b>DS</b>	BDAR1	NI/F	Formosa	Nacida en Jujuy
	BDAR2	55/M	Buenos Aires	Sin datos
	BDAR3	47/M	Buenos Aires	Nacido en Tucumán /Transfusión
	BDAR4	45/M	Ushuaia	Nacido en Formosa
	BDAR5	28/M	Buenos Aires	Din datos
	BDAR6	56/F	Buenos Aires	Padres provenientes de Chaco
	BDAR7	53/F	Buenos Aires	Padres provenientes de Chaco
<b>UDIs</b>	HIVAR1	23/F	Buenos Aires	HIV-1+
	HIVAR2	31/M	Buenos Aires	HIV-1+
	HIVAR3	39/M	Buenos Aires	HIV-1+
	HIVAR4	26/M	Buenos Aires	HIV-1+
	HIVAR5	35/M	Buenos Aires	HIV-1+
	HIVAR6	43/F	Buenos Aires	HIV-1+
	HIVAR7	28/M	Buenos Aires	HIV-1+
	HIVAR8	32/M	Buenos Aires	HIV-1+
	HIVAR9	28/F	Buenos Aires	HIV-1+
	HIVAR10	21/F	Buenos Aires	HIV-1+
	HIVAR11	24/M	Buenos Aires	HIV-1+
	HIVAR12	28/M	Buenos Aires	HIV-1+
	HIVAR13	45/F	Buenos Aires	HIV-1+
	HIVAR14	30/M	Buenos Aires	HIV-1+
	HIVAR15	29/M	Buenos Aires	HIV-1+
	HIVAR16	31/M	Buenos Aires	HIV-1+
	HIVAR17	28/M	Buenos Aires	HIV-1+
	HIVAR18	29/M	Buenos Aires	HIV-1+
	HIVAR19	24/F	Buenos Aires	HIV-1+

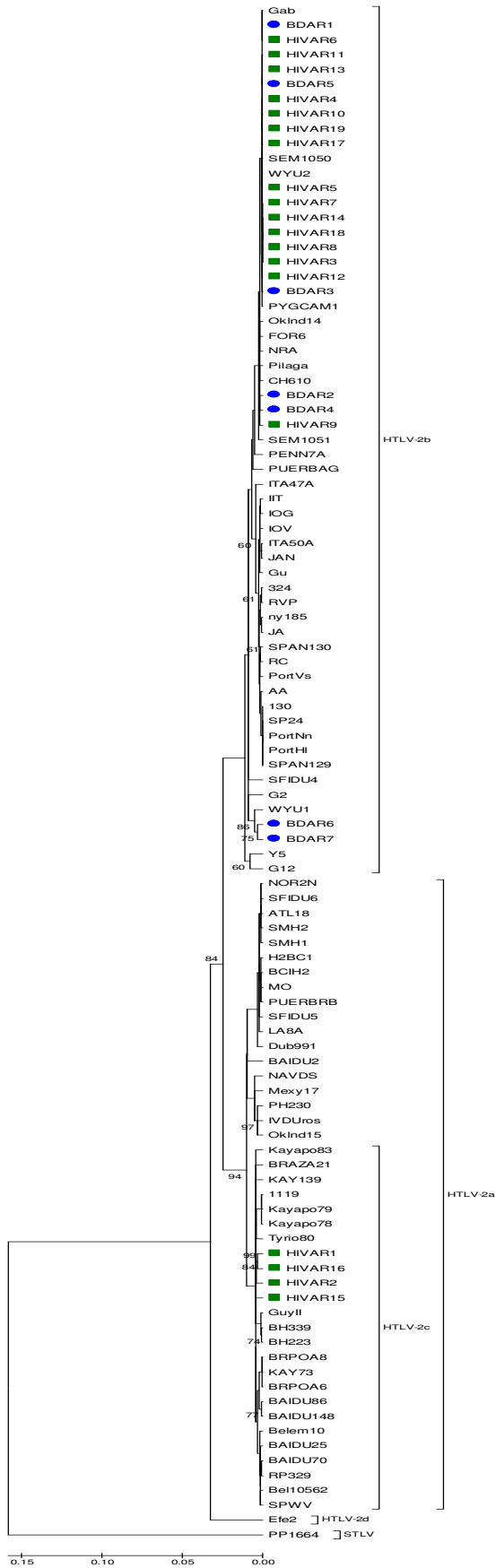
*Nota: DS, donantes de sangre; UDIs, Usuarios de drogas inyectables*

En cuanto al estatus serológico, 23 (88.5%) muestras resultaron HTLV-2 seropositivas por WB mientras que la muestra BDAR6 fue un HTLV (3.8%) y otras 2 (7.7%) presentaron un patrón indeterminado por WB. Las muestras indeterminadas, ambas pertenecientes a UDIs mostraron diferentes patrones de WB: GD21, p24, p28, p32 y p53 (IDU2); y GD21 y p24 (IDU9), respectivamente. La amplificación de los genes *tax* y *pol* confirmaron la infección para la infección por HTLV-2 en estos 3 casos.

#### *Análisis filogenético*

Para llevar a cabo el análisis filogenético, las secuencias estudiadas fueron alineadas junto a 76 referencias de secuencias HTLV-2 obtenidas de la base de datos de GeneBank, escogidas por provenir de países limítrofes con una alta tasa de migración a la Argentina además de secuencias representativas del resto del mundo. Una referencia de HTLV-2 (PP1664) fue utilizada como grupo externo. Una vez alineadas, las secuencias consistieron en 596pb correspondientes a la región 3'LTR. El subtipo HTLV-2d fue separado consistentemente de los subtipos HTLV-2a y HTLV-2b con un valor de soporte del 84%.

De las 25 muestras, 4 UDIs agruparon dentro del subtipo a, cercanas a aislamientos de Brasil previamente descriptos como HTLV-2c. Las 22 secuencias restantes fueron HTLV-2 subtipo b de las cuales 15 eran UDIs y 7 donantes de sangre incluidos los provenientes de Formosa y Ushuaia (Figura 9).



**Figura 12.** Árbol de Maximum Likelihood (ML) de 104 secuencias de un fragmento de 590pb del LTR del HTLV-2. El análisis de ML se llevó a cabo bajo el modelo de sustitución nucleotídica HKY\_G. Las 26 secuencias correspondientes a las diferentes poblaciones analizadas se muestran de la siguiente manera: ● donantes de sangre, ■ usuarios de drogas inyectables (UDIs). La secuencia PP1664 se utilizó como outgroup. Los números en las ramas indican el valor de soporte de cada nodo. El origen geográfico de las secuencias de referencia incluidas en el análisis de abajo hacia arriba son los siguientes: PP1664 (simiana), Efe2 (Congo), SPWV (Brasil), Bel10562 (Brasil), RP329 (Brasil), BAIDU70 (Brasil), BAIDU25 (Brasil), Belem10 (Brasil), BAIDU148 (Brasil), BAIDU86 (Brasil), Kay73 (Brasil), BRPOA6 (Brasil), BH223 (Brasil), BH339 (Brasil), Guy11 (Guayana Francesa), Tyrio80 (Brasil), Kayapo78 (Brasil), Kayapo79 (Brasil), 1119 (EEUU), Kay139 (Brasil), BRAZA21 (Brasil), Kayapo83 (Brasil), OkInd15 (EEUU), IVDUros (Argentina), PH230 (Camerún), Mexy17 (México), NAVDS (EEUU), BAIDU2 (Brasil), Dub991 (Irlanda), LA8A (EEUU), SFIDU5 (EEUU), PUERBRB (EEUU), MO (EEUU), BC1H2 (Colombia), H2BC1 (Europa), SMH1 (Europa), SMH2 (Europa), ATL18 (EEUU), SFIDU6 (EEUU), NOR2N (Europa), G12 (Panamá), Y5 (Venezuela), WYU1 (Colombia), G2 (Venezuela), SFIDU4 (EEUU), SPAN129 (España), PortHI (Portugal), PortNn (Portugal), SP24 (España), 130 (Europa), AA (Europa), PortVs (Portugal), RC (Europa), SPAN130 (España), JA (Europa), ny185 (EEUU), RVP (Europa), 324 (Europa), Gu (Europa), JAN (Europa), ITA50A (Italia), IOV (Europa), IOG (Europa), IIT (Europa), ITA47A (Italia), PUERBAG (EEUU), PENN7A (EEUU), SEM1051 (EEUU), CH610 (Paraguay/Argentina), Pilaga (Argentina), NRA (EEUU), FOR6 (Argentina), OkInd14 (EEUU), PYGCAM (Camerún), WYU2 (Colombia), SEM1050 (EEUU), Gab (Gabón).

Las secuencias HTLV-2a de los individuos (HIVAR1, HIVAR2, HIVAR15, HIVAR16) agruparon con referencias de Brasil (BRPOA6, BRPOA8, BH223, BH339, KAY73, BAIDU148, BAIDU25, Belem10, Kayapo78, KAYapo79) previamente descritas como HTLV-2c y juntas forman un subgrupo claro distintivo dentro del subtipo HTLV-2a (valor de soporte 94%) (Figura 12).

De las 22 muestras estudiadas pertenecientes al subtipo HTLV-2b, 20 estaban relacionadas con aislamientos previos de Amerindios de Argentina, Colombia y Estados Unidos e individuos africanos de Gabón y Camerún (Figure 12). Las 2 muestras restantes HTLV-2b de donantes de sangre hermanas (BDAR6, BDAR7) residentes en Buenos Aires y que no reportaron ningún antecedente de riesgo, agruparon con un valor de soporte de 86% con una secuencia proveniente de un Amerindio de Colombia (WYU1), estando estas tres cercanamente relacionadas además, por ejemplo con secuencias de Amerindios de Venezuela (G2), de UDIs de Estados Unidos (SFIDU, SFIDU4) y Europa (SPAN129).

## DISCUSIÓN

---

## CAPITULO 1

### DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN

La epidemiología del HTLV-1/2 en Argentina presenta características particulares, similar a lo que ocurre en América Latina donde se observa una restricción étnica/ geográfica. Así, por un lado tenemos comunidades originarias del Noroeste argentino infectadas por HTLV-1 (Familia Aymará en Salta y Jujuy) y por otro lado, comunidades Wichis y Tobas infectadas por HTLV-2 en la Región Chaqueña (Familia Mataco-guaycurú de Chaco y Formosa) [184]. Además, ambos retrovirus se encuentran presentes en diferentes poblaciones del país.

Así, la prevalencia de HTLV-1/2 en donantes de sangre de Argentina varía desde un 0.03% en áreas no endémicas como Buenos Aires, hasta un 0.71% en Salta y 0.96% en Jujuy donde se han encontrado, además, focos endémicos de las patologías asociadas al HTLV-1, la HAM/TSP y la ATL [98,172,181].

La detección de HTLV-1/2 en bancos de sangre es obligatoria a partir de Diciembre de 2004 mediante la resolución 58/2005 del Ministerio de Salud [227]. Pero uno de los problemas que ha suscitado, es que muchos servicios de hemoterapia del país, han comenzado a reportar una gran cantidad de resultados falsos positivos con la consecuente pérdida de unidades de sangre, tiempo y esfuerzos de envío de muestras para su confirmación a centros de referencia. Este hecho se debe en parte a que los diferentes equipos comerciales utilizados para el tamizaje difieren en su eficiencia. Debido a la creciente consulta de distintos centros del país en cuanto a ésta situación en



particular, hemos decidido realizar estudios que colaboren en la optimización del diagnóstico en nuestro medio.

Es por ello que en ésta tesis nos hemos propuesto comparar la eficiencia de cuatro equipos comerciales (Fujirebio, BioKit, bioMerieux, Murex) frecuentemente utilizados en unidades de hemoterapia para el diagnóstico de la infección en Sudamérica. Hasta la fecha, de los cuatro equipos evaluados en este estudio, Vironostika es el único aprobado por la FDA y los 4 han sido aprobados para su venta en nuestro país por ANMAT (Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica).

Los equipos analizados en este estudio mostraron una alta sensibilidad para HTLV-1, lo que concuerda con evaluaciones previas por otros investigadores, siendo el kit de Fujirebio el más sensible seguido de Biokit, Murex y finalmente Vironostika [187,228]. Aunque el equipo de aglutinación de partículas de gelatina (AP), desarrollado y utilizado de rutina en unidades de hemoterapia de Japón donde solo el HTLV-1 es endémico, está basado en fragmentos de viriones de HTLV-1 únicamente, fue el que en nuestro trabajo presentó la sensibilidad más alta para HTLV-2. Este es un hecho importante ya que podría ser considerada su utilización en países donde ambos tipos virales son endémicos.

Por otro lado, demostramos que los equipos de Biokit y Vironostika tuvieron una especificidad inferior a la reportada por el fabricante, mientras que para el equipo de Murex, la especificidad informada en el inserto se correspondió con la obtenida en nuestro estudio. De acuerdo con estos resultados, el equipo con el índice de eficiencia más alto ( $\kappa=0.97$ ) para la detección de anticuerpos HTLV-1/2 fue el ELISA de Murex, seguido por Biokit,

Fujirebio ( $\kappa=0.92$ ) y Vironostika ( $\kappa=0.94$ ), el cual reportó el índice mas bajo ( $\kappa=0.86$ ).

Debemos considerar que cuando se utilizan equipos de tamizaje con baja especificidad que brindan resultados falsos positivos, la posterior confirmación por WB suele dar resultados indeterminados, similar a lo que ocurre con las muestras que no son sometidas a un tamizaje inicial y son directamente analizadas por WB [229-231].

Los casos indeterminados por WB en donantes de sangre son frecuentemente hallados cuando se realiza el diagnóstico para la infección por HTLV-1/2, con prevalencias similares a las de infección que varían de acuerdo a la región y a la eficiencia del kit de tamizaje utilizado [232]. En un estudio realizado en 86.238 donantes de sangre de Buenos Aires en al año 2004, del total de muestras reactivas que fueron sometidas a WB, un 61.0% resultó seroindeterminada [197]. En el estudio realizado en nuestro centro en colaboración con el Hospital Fernández, de 28.483 donantes de sangre analizados, un 40.5% de las muestras reactivas resultaron seroindeterminadas observándose diferentes patrones por WB.

Se ha sugerido que la mayoría de las muestras provenientes de individuos de poblaciones de bajo riesgo, inclusive aquellos de áreas endémicas, con un patrón indeterminado HGIP no estarían infectadas por HTLV-1/2 [231], mientras que la presencia de patrones Env o Gag podría representar seroconversión como ha sido previamente demostrado en poblaciones de riesgo, especialmente cuando la banda GD21 está presente [197,233].

Varios estudios han demostrado la presencia de patrones HGIP más frecuentes en donantes de sangre de áreas endémicas de África mientras que en áreas no endémicas como Taiwán y Argentina esta asociación no ha sido establecida previamente [196,197]. En nuestro estudio todos los patrones descritos fueron observados, tanto en donantes de sangre como en grupos de riesgo, y además el patrón HGIP fue hallado más frecuentemente entre donantes de sangre, hallándose diferencias significativas cuando se compara con las poblaciones de riesgo.

Reportes internacionales sugieren fuertemente seguir el algoritmo diagnóstico para la infección por HTLV-1/2 propuesto por el CDC y por la HERN con el fin de eliminar resultados indeterminados por WB [230,234]. Teniendo en consideración esta información, todas las muestras incluídas en este estudio fueron analizadas con dos equipos de tamizaje con alta sensibilidad y especificidad y solo cuando al menos un resultado era reactivo, fueron confirmadas por WB, utilizando la versión más eficiente que se encuentra en el mercado.

De todos modos, aún con equipos de alta eficiencia se obtienen resultados falsos positivos. Entonces, para obtener un diagnóstico final para la infección por HTLV-1/2 ha sido recomendado el uso de técnicas serológicas y moleculares como una nested- PCR para poder determinar el estado real de estas infecciones cuando el WB brinda un resultado HTLV sin tipificar o seroindeterminado y ayudar a los profesionales de la salud en el asesoramiento de los individuos [234]. En nuestro caso, hemos detectado 11 (13.2%) individuos HTLV-1/2 positivos entre 83 casos estudiados con distintos perfiles de WB indeterminados. Por un lado, se detectó el caso de un donante

de sangre de Buenos Aires HTLV-1 positivo que presentó un patrón Gag (p24), por otra parte 10 casos pertenecientes a individuos HTLV-1 y 2 de diferentes grupos de riesgo con patrones Env, Gag, o patrones HGIP. De ellos, cuatro eran UDIs HTLV-1 positivos, dos de los cuales estaban coinfectados con HTLV-2, que exhibían patrones Env; tres fueron HSH infectados con HTLV-1 que presentaron dos patrones Gag y uno Env; y tres eran TS también infectadas con HTLV-1 que exhibían un patrón Env, uno Gag, y uno HGIP. Si bien no hubo diferencia significativa entre el diagnóstico serológico y el molecular, se llegó al diagnóstico final de 11 muestras que de otra manera hubieran quedado con un diagnóstico inconcluso. De todos modos, esta falta de diferencia puede deberse al pequeño número de casos estudiados ya que otros estudios han detectado tanto HTLV-1 como 2 en UDIs seroindeterminados mostrando una prevalencia final superior luego del diagnóstico molecular [194]. Esto se correlaciona con la alta prevalencia de infección por HTLV-1/2 detectada en esta población en todo el mundo.

Por otro lado, se ha sugerido que los patrones indeterminados Env representan a seroconvertidores evolucionando a seropositividad. De esta manera, todos los individuos estudiados con un patrón Env, luego confirmados como HTLV- 1/2 positivos podrían hacer estado cursando una seroconversión.

Aún así, se pudo observar que 72 (86.7%) de los 83 casos indeterminados estudiados, no estaban asociados a infección por HTLV-1/2. La hipótesis más probable para estos resultados podría ser la activación de la respuesta inmune que presenta reacción cruzada con proteínas endógenas u otros patógenos [194].

En África Central, se ha sugerido que el patrón HGIP no era causado por la infección por HTLV-1 sino que estaba asociado a infección por *Plasmodium falciparum*, debido a la existencia de reacción cruzada entre proteínas de *gag* de HTLV-1 y antígenos derivados de la malaria [192].

En Argentina, esta infección no es frecuente, pero si se observan áreas endémicas para *T. cruzi*, el agente causante del mal de Chagas. En este estudio, solo unas pocas muestras resultaron positivas para este parásito y como ha sido previamente sugerido en Brasil, el patrón HGIP no se hallaría asociado con reacción cruzada con proteínas de *T. cruzi* [194]. Sin embargo, estudios realizados en áreas endémicas para HTLV-1/2 en el país deberían llevarse a cabo para verificar si el patrón HGIP es más prevalente o bien para determinar si existen diferencias en la distribución de los patrones de WB en diversas poblaciones, especialmente en algunas áreas en las cuales se superponen las zonas endémicas para los dos agentes infecciosos.

Aún así, si bien se ha demostrado repetidamente que la vasta mayoría de los donantes de sangre con patrones seroindeterminados HGIP son negativos por PCR para la infección por HTLV-1, debemos considerar estudios previos que han reportado la presencia de genoma viral completo, siendo el resultado seroindeterminado por WB atribuido a una carga proviral extremadamente baja [235]. Es por ello, que esta misma situación no debería descartarse para ninguno de los otros patrones seroindeterminados.

En nuestro estudio, el único patrón HGIP que fue asociado a infección en una TS, podría ser considerado una seroconversión o bien presentar una carga proviral extremadamente baja. Además, en este estudio observamos dos casos seroindeterminados en las TS que aún luego de la PCR continuaron

siendo indeterminados ya que se logró amplificar únicamente un fragmento de los genes estudiados (*pol* o *tax*) [197,235]. Estudios previos en donantes de sangre, incluyendo Argentina, y en pacientes con enfermedades neurológicas crónicas progresivas han podido amplificar únicamente secuencias de *tax* por nested- PCR [197,235]. Estos datos sugieren que la reactividad HTLV-1/2 seroindeterminada por WB podría ser el resultado de la presencia de viriones HTLV-1/2 defectivos o bien una real infección por un nuevo retrovirus con homología parcial a HTLV-1/2 y/o una carga proviral extremadamente baja.

Además de este estudio se puede sugerir que aquellos donantes de sangre sanos que presentan un patrón seroindeterminado HGIP podrían ser considerados como potencialmente no infectados, ya que ninguno de los que presentaron ese patrón resultó positivo por nested- PCR confirmando estudios previos, pero aún así la posibilidad de infección no debería descartarse. Además, la presencia de perfiles GAG o ENV podrían indicar infección independientemente de la población en cuestión ya que no solo se detectó provirus en individuos de riesgo sino que también se confirmó infección en donantes de sangre. Estos datos, sugieren que tanto los donantes de sangre como en las poblaciones de riesgo, todos los patrones indeterminados por WB deberían considerarse posiblemente infectados, e idealmente, estos individuos deberían ser analizados mediante herramientas moleculares.

En conclusión, el uso de los equipos para el tamizaje de HTLV-1/2 más eficientes que se encuentren disponibles en el mercado podría reducir considerablemente el tiempo y costos del diagnóstico disminuyendo la cantidad de resultados falsos positivos por tamizaje y disminuyendo la cantidad de unidades de sangre descartadas, con un mayor costo-beneficio en el ámbito de

Salud Pública. Además, aunque al presente no existen estándares de referencia para el diagnóstico de la infección por HTLV-1/2; proponemos el uso de la nested-PCR como una técnica complementaria para confirmar la infección y de ésta manera complementar la interpretación de los resultados HTLV e indeterminados por WB pudiendo diferenciar estos casos entre muestras HTLV-1 y 2 positivas. Así, el acceso a un algoritmo óptimo de tamizaje disminuiría notablemente la cantidad de diagnósticos inconclusos, la pérdida de tiempo y esfuerzos del personal de salud en citar nuevamente a los individuos, enviar las muestras a centros de referencia, la consecuente ansiedad y angustia del paciente durante las largas esperas para la obtención de un resultado, proveyendo de esta manera una apropiada asistencia preventiva y clínica para la infección por HTLV-1/2.

## CAPITULO 2

### ESTUDIOS EPIDEMIOLÓGICOS

En este estudio estimamos la prevalencia de HTLV-1/2 y HIV-1 en donantes de sangre, antes y después de la introducción de la detección obligatoria de HTLV-1/2 en bancos de sangre de Argentina; y las tendencias de estas infecciones en el banco de sangre del hospital Juan A. Fernández de la ciudad de Buenos Aires.

Reportes de estudios conducidos en los años 90 en Buenos Aires, antes de la introducción del tamizaje obligatorio para anticuerpos contra HTLV-1/2, mostraron prevalencias de 0.03% y 0.21%, respectivamente [227,236,237].

En esta tesis se estimó una prevalencia superior a la observada en donantes de la misma ciudad reportada por el Ministerio de Salud ( $p < 0.05$ ), hecho que podría deberse al uso de equipos comerciales que no son los de mayor eficiencia para detectar infección por HTLV-1/2 [238]. Sin embargo, la prevalencia final (0.1%) observada en nuestro estudio luego de la confirmación por WB sigue corroborando que Buenos Aires es un área no endémica para esta infección mas allá de la alta prevalencia de estos retrovirus en poblaciones de alto riesgo y en poblaciones de inmigrantes desde áreas endémicas tanto de Argentina como de países vecinos hacia la capital de nuestro país [172,239,240]. En cuanto a este punto, es interesante destacar que la mitad de los individuos HTLV-1/2 positivos provienen de países limítrofes o cercanos como Perú, donde se sabe que el HTLV-1 es endémico. Así, entre los antecedentes de riesgo reportados en donantes de sangre para HTLV-1 se encontró ser de origen boliviano, tener pareja sexual HTLV-1 positiva, y/o UDI.



En cambio para HTLV-2 se reportó como antecedente de riesgo haber nacido o tener pareja sexual proveniente de regiones endémicas para HTLV-2.

Con respecto al HIV-1, la epidemia en Argentina en la década de los 80, estaba restringida a las poblaciones de HSH y UDIs. Esta infección en la actualidad se ha diseminado a la población heterosexual y afecta especialmente a mujeres activas sexualmente [241]. Estudios previos realizados en donantes de sangre de Buenos Aires en 1993 y 2000 reportaron prevalencias finales de 0.21% y 0.36% respectivamente, y similar a los resultados obtenidos en este estudio [236,237]. En cuanto a las tendencias, la prevalencia de seropositividad de HIV-1 se mantuvo a lo largo de los 6 años estudiados, situación que se observa a nivel país según los últimos datos del Boletín sobre el HIV/ SIDA en la Argentina.

En conclusión, se observó que hubo una disminución de la prevalencia de la infección por HTLV-1/2 entre los años 2003 y 2008, manteniéndose la ciudad de Buenos Aires como un área no endémica para ésta infección. Además, basados en el hecho de que la mayor proporción de donantes de sangre que asisten a los bancos de sangre de nuestro país, son de reposición y una mínima proporción son donantes voluntarios, y que en estos últimos no se detectaron infecciones por HTLV-1/2 ni HIV-1, se debería hacer énfasis en el reclutamiento de este tipo de donantes para lograr disminuir aún más la proporción de individuos infectados por estos retrovirus.

Cuando estudiamos grupos de mujeres embarazadas no se observaron diferencias significativas de la prevalencia de HTLV-1/2 en mujeres embarazadas respecto de la reportada en donantes de sangre de las mismas regiones [242,243]. Por otro lado, la prevalencia final para HIV-1 en la

población de mujeres embarazadas fue de 0.5%, hallándose casos positivos mayoritariamente en la ciudad de Buenos Aires y podemos observar que prácticamente no existe coinfección HIV-1 con HTLV-1/2, a excepción de un caso de una mujer HTLV-1/ HIV-1 de la ciudad de Buenos Aires cuya pareja era UDI/ HTLV-1/ HIV-1/ HCV positiva.

En cuanto a ésta población, observamos que la tasa de prevalencia de HTLV-1/2 en mujeres embarazadas del centro de Argentina (ciudad de Buenos Aires) y el sur (Neuquén y Ushuaia) es similar a las de donantes de sangre de esas mismas regiones consideradas como no endémicas. Esto es diferente de lo observado en Europa donde se hallaron cifras superiores en mujeres embarazadas que en donantes de sangre [244].

Así, vemos que las prevalencias de HTLV-1/2 en mujeres embarazadas difieren en relación a las áreas geográficas siendo un área endémica para HTLV-1 en Jujuy y para HTLV-2 en Formosa a diferencia de áreas no endémicas donde las cifras son bajas, aunque aún así ambos retrovirus se encuentran circulando aún en el extremo sur de nuestro país, tal es el caso de una mujer residente en Ushuaia pero nacida en Jujuy, área endémica para el HTLV-1.

Los resultados obtenidos nos permiten relacionar la presencia del HTLV-1/2 en mujeres embarazadas de distintas regiones del país con el desplazamiento de individuos de áreas endémicas a centros urbanos y el contacto con parejas con antecedentes de riesgo para estas infecciones.

Si bien en nuestro país no se realiza la detección de HTLV-1/2 de manera obligatoria en mujeres embarazadas, según esto datos deberíamos considerar el riesgo de infección en aquellos casos que presenten

antecedentes de riesgo como haber nacido en un área endémica y poseer un familiar con infección o enfermedades relacionadas con el HTLV-1/2.

***Estimación de la prevalencia de HTLV-1/2 en poblaciones de alto riesgo: usuarios de drogas inyectables (UDIs), trabajadoras sexuales (TS), hombres que tienen sexo con hombres (HSH), pacientes con tuberculosis (TB) y pacientes con enfermedades de transmisión sexual (ETS).***

Este estudio provee información sobre la prevalencia de HTLV-1 y 2, además de coinfecciones con agentes de transmisión sexual o parenteral, en varias poblaciones de riesgo de Argentina. Así observamos que la prevalencia final de HTLV-1/2 entre 2055 individuos estudiados fue de 3.4%, siendo de 1.4% para HTLV-1 y de 2.0% para HTLV-2. La infección por estos retrovirus fue significativamente superior en comparación con estudios previos en donantes de sangre sanos de Buenos Aires y de los resultados en donantes de este trabajo [243].

En cuanto al análisis de las prevalencias de la infección por HTLV-1/2 en los cinco grupos estudiados, la prevalencia más alta fue observada en UDIs (19.1%) con diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) comparadas con TB (4.3%), ETS (2.3%), TS (2.0%) y HSH (0.4%).

En las ciudades de Bahía y Rio de Janeiro en Brasil, varios estudios han reportado una predominancia de HTLV-1 en la población de UDIs similarmente a lo observado en otros estudios conducidos en Argentina entre 1989 y 1991 [79,149,245,246]. En este estudio, se puede observar que entre los UDIs de Buenos Aires, la prevalencia de HTLV-2 (15.6%) es significativamente más alta que la de HTLV-1 (4.6%) ( $p = 0.0013$ ). La alta prevalencia de HTLV-1 en UDIs

de Brasil podría ser explicada por el hecho de que esta infección es endémica en nativos brasileros que se encuentran en contacto con la población general de áreas urbanas [79,245]. En contraste, en Argentina los primeros Amerindios que migraron hacia las ciudades como Buenos Aires y Rosario escapando de la pobreza, fueron los Wichis y Tobas del norte del país entre los cuales la infección por HTLV-2 es naturalmente endémica, y quienes entraron en contacto con la población general y el uso de drogas ilegales inyectables [247].

En cuanto a las TS, se observó una prevalencia significativamente superior de HTLV-1 (1.5%) comparada con el HTLV-2 (0.2%) probablemente debido a la inclusión de TS de la ciudad de Salta, un área endémica para la infección HTLV-1 en el noroeste de nuestro país, y las altas tasas de migración interna desde estas áreas endémicas hacia las grandes ciudades [248]. Además, un caso HTLV-2 positivo fue hallado en una TS de la ciudad de Buenos Aires, un área no endémica para este virus quien mantuvo relaciones sexuales con extranjeros, principalmente de Brasil como único factor de riesgo.

Estudios previos llevados a cabo en HSH en áreas no endémicas como Estados Unidos y Europa han reportado prevalencias de HTLV-1/2 menores a 0.4% similar a la de HTLV-1 de nuestra población [86,88,249]. En cambio, estudios realizados en Perú, área endémica para HTLV-1, han reportado prevalencias de 1.8% para HTLV-1 y de 1.1% para HTLV-2 siendo estas cifras significativamente superiores a la encontrada en este estudio ( $p=0.01$ ). Por otro lado, no se detectaron casos de HTLV-2 en nuestra población, probablemente debido al n pequeño de HSH estudiados.

En nuestra población de HSH de éste estudio, solo tres casos de HTLV-1 fueron detectados, mostrando la prevalencia más baja de todas las poblaciones estudiadas (0.4%) pero siendo aún significativamente más alta que en donantes de sangre ( $p < 0.05$ ). Dos de ellos reportaron tener parejas sexuales de áreas endémicas conocidas para el HTLV-1, como Perú y Japón, respectivamente. El otro caso fue de un HSH argentino de la ciudad de Buenos Aires quien no declaró ningún antecedente de riesgo. Ninguno de los tres casos HSH HTLV-1 positivos reportó uso de drogas inyectables ni transfusiones sanguíneas, por lo que sugerimos que la transmisión pudo haber sido de madre a hijo o bien por exposición sexual. La baja prevalencia de HTLV-1/2 hallada en los HSH fue similar a la reportada en un estudio llevado a cabo en Buenos Aires en 1993 (0.5%) sugiriendo que la infección no se ha incrementado en esta población de HSH debido a la concientización respecto de las medidas de prevención para el HIV-1, el alto nivel de educación y el bajo consumo de drogas inyectables que caracterizó a ésta población estudiada [240].

En relación a los pacientes con tuberculosis, desde el año 1980, parte del aumento de la incidencia de esta infección ha sido atribuida al impacto de la epidemia de HIV/SIDA. En Argentina en el año 2002 se reportaron tasas de 30.5 por cada 100.000 habitantes siendo la tasa más alta en el norte del país. En Buenos Aires estudios previos han reportado prevalencias de HIV-1 desde un 3.1% a un 21.0% en pacientes con TB [251]. También ha sido demostrada la presencia de tuberculosis en individuos HTLV-1/2 positivos de Brasil, siendo la prevalencia para esta infección superior a la de la población general [252].

En los pacientes con TB de este estudio se observó una prevalencia de HTLV-1/2 de 2.1% siendo ésta más alta que la reportada en la población general del mismo área, similar a lo que ocurre en Brasil [252]. De los tres casos HTLV-1 positivos, un hombre era originario de Perú, país endémico para la infección por HTLV-1, y dos reportaron ser usuarios de drogas. El uso de drogas ilegales en estos pacientes, especialmente inyectables, se encuentra asociado a la infección por HTLV-1 como ya ha sido descrito en Nigeria y Perú [73,253]. El único paciente HTLV-2 positivo presentó como antecedente de riesgo haber recibido una transfusión de sangre.

En los pacientes con ETS, se observó una prevalencia de HTLV-1 de 1.0%, similar a la observada en ETS del sur de India (1.2%), y Surinam (1.4%) [254,255]. Entre los 400 casos de ETS se han detectado cuatro casos HTLV-1 positivos, todos ellos presentando diferentes coinfecciones con otros patógenos como HIV-1, HCV, HBV y *T. pallidum*. Esta información muestra claramente que el diagnóstico de la infección de HTLV-1/2 debería ser considerada en centros de diagnóstico y tratamiento de enfermedades de transmisión sexual.

Respecto de las coinfecciones, estudios previos reportaron que la evolución clínica al SIDA podría verse afectada por la presencia de HTLV-1, dado que la coinfección HTLV-1/HIV-1 ha sido fuertemente correlacionada con una sobrevida reducida en contraposición al efecto protector en cuanto a la evolución clínica a SIDA ejercida por la coinfección de HIV-1 con HTLV-2 [157,256].

A excepción de las TS, donde solo se detectaron casos de coinfección HTLV-1 y HCV, en todas las demás poblaciones estudiadas se observaron casos de coinfecciones HTLV-1 con HIV-1 y/o HCV. En cambio, no se

detectaron coinfecciones HTLV-2 con HIV-1 excepto en la población de UDIs, donde además se observaron altas tasas de coinfección HTLV-2/HCV, sugiriendo que la vía de transmisión principal en la infección por HTLV-2 en este grupo es mediante el intercambio de material de inyección contaminado.

En cuanto a la tasa de coinfección de HTLV-1 y *T. pallidum* en TS, HSH y ETS fue significativamente superior que para HTLV-2.

En resumen, existe un riesgo real de expansión de la infección por HTLV-1/2 desde los grupos de riesgo, principalmente los UDIs, hacia la población general, aun en áreas no endémicas. El conocimiento de la situación epidemiológica de estos retrovirus en poblaciones de riesgo de diferentes regiones del país podría influir en la toma de decisiones a nivel de salud pública para implementar programas eficientes de prevención y asistencia médica.

## CAPITULO 3

### ANÁLISIS FILOGENÉTICO

El HTLV-1 Cosmopolita subtipo Transcontinental ha sido detectado en comunidades aborígenes de áreas endémicas del noroeste de Argentina [184]. Este subgrupo y el Japonés B han sido recientemente reportados en 5 individuos incluyendo donantes de sangre de áreas no endémicas del centro del país [257]. Si bien la ciudad de Buenos Aires es considerada como no endémica, ha habido una alta migración desde áreas endémicas para la infección por HTLV-1 hacia esta ciudad en los últimos años.

En este trabajo se analizaron las características filogenéticas y moleculares de las cepas HTLV-1 de residentes de Buenos Aires que pertenecían a diferentes grupos de riesgo para la infección por HTLV-1/2.

El análisis de la región LTR 3' demostró que las 16 cepas estudiadas pertenecían al subtipo Cosmopolita, y que si bien la mayoría fueron clasificadas como subgrupo A Transcontinental, se hallaron posicionadas en diferentes grupos, sugiriendo un grado variable de divergencia molecular. La mayoría de las secuencias agruparon dentro del grupo mayoritario Latinoamericano junto a algunas cepas de Amerindios incluidos algunos del noroeste de nuestro país: (Ar5, Ar15, Ar49).

En este trabajo se identificó una cepa (FSW1) de una TS nacida en Perú, quien reportó haber mantenido relaciones sexuales con hombres provenientes de Perú, Bolivia y Argentina, que agrupó junto a referencias de individuos de Sudáfrica, de Brasileños negros, de Guayana de origen mixto y de un Creole de Surinam. Este dato reporta la presencia de una cepa africana de



HTLV-1 circulando en Argentina, lo cual podría explicarse geográficamente como consecuencia de la alta tasa de migración desde países sudamericanos incluyendo aquellos con un alto componente africano como Brasil, hacia la ciudad de Buenos Aires. Si consideramos que la mayoría de los individuos infectados de este estudio no poseían un origen negro, podríamos sustentar la hipótesis de la introducción en la era precolombina debido a las migraciones mongoloides a través del estrecho de Bering, y en consecuencia a través de las comunidades originarias, en contraposición la introducción de este subtipo en diferentes eventos producidos en la era post-colombina mayoritariamente mediante el comercio de esclavos desde África [124].

Considerando otros subgrupos del subtipo Cosmopolita de HTLV-1, los grupos E y B han sido reportados infectando a individuos Peruanos y Nikkei de origen negro, respectivamente [124]. Además, el subgrupo B también ha sido descrito en Brasil entre descendientes de japoneses. En este estudio, si bien se analizaron individuos HTLV-1 infectados descendientes de peruanos y japoneses residentes de Buenos Aires, no se hallaron cepas del subgrupo B ni E.

Además, este estudio describe por primera vez las características filogenéticas de cepas de HTLV-2 que circulan en un área no endémica de Argentina como la ciudad de Buenos Aires. Considerando la distribución mundial, mientras que el subtipo HTLV-2a se encuentra presente predominantemente en UDIs de Brasil, EEUU, norte de Europa (Gran Bretaña, Irlanda y Suecia) y el sudeste asiático (Vietnam) y Amerindios como los Navajo y Pueblo en EEUU y Kayapo en Brasil [135,258-263]. El HTLV-2b se haya presente en pigmeos Bakola de Camerún, habitantes de Zaire y Gabón

además de poblaciones Amerindias como los Navajo, Pueblo y Seminole de EEUU, los Guaymi en Panamá, los Guahibo en Venezuela, los Wayu y Tunebo en Colombia y los Tiryos en Brasil [135,136,263-266].

En relación a Argentina, estudios previos han reportado la presencia del subtipo b del HTLV-2 en Tobas y Wichis de Argentina [171]. Mientras, que por otro lado, en 1996 se detectó la presencia de un HTLV-2a en un UDI con SIDA de Rosario (IVDUros), lo cual sugirió que este subtipo sería posiblemente el predominante en esta población como había sido observado entre UDIS de otros países [267,268]. Esta cepa IVDUros HTLV-2a previamente descrita, se halla cercanamente relacionada con aislamientos de aborígenes de Brasil antes llamado HTLV-2 subtipo c, sugiriendo la introducción de estas cepas desde éste país vecino.

Por otro lado, nuestros resultados muestran que el 84.6% (22/25) de las cepas HTLV-2 circulando en la población Caucásica de un área no endémica de Argentina corresponde al subtipo b. En este estudio, de las 26 muestras estudiadas provenientes de 7 donantes y 19 UDIs con HIV-1, 4 muestras analizadas (HIVAR1, HIVAR2, HIVAR15, HIVAR16) agruparon con un alto valor de soporte dentro del subtipo a y 22 en el HTLV-2b. De las 22 secuencias HTLV-2b, 14 pertenecían a individuos HIV-1 positivos y UDIs demostrando a este subtipo como el mayoritario en ésta población de Argentina. La mayoría de estas secuencias (20) que agrupaban en el subtipo b, clasificaron dentro del grupo filogenético que es característico de Amerindios, incluyendo Pilagas y Wichis de la Región Chaqueña de Argentina, y dos pertenecientes a donantes de sangre, agruparon dentro del grupo con referencias de aborígenes de Colombia y Venezuela, sugiriendo cierto grado de divergencia molecular. El

hallazgo del grupo filogenético HTLV-2b en habitantes no aborígenes del país, sostiene la teoría de que habría habido interacción entre estas comunidades originarias y la población general.

De las muestras analizadas que agruparon dentro del subtipo 2b, 7 pertenecían a donantes de sangre y 15 a UDIs. De los 7 donantes de sangre, 5 provenían de áreas no endémicas como Buenos Aires, uno de Formosa y uno de Ushuaia. Estos individuos no reportaron ningún factor de riesgo excepto el paciente BDAR3 quien reportó haber recibido una transfusión de sangre. El único antecedente asociado con infección por HTLV-2 en este estudio es el área étnico/ geográfica ya que 4 donantes de sangre tenían relación con áreas endémicas, ya sea habitando o teniendo parientes procedentes de éstas áreas de Argentina.

Estos datos se correlacionan con la creciente migración desde estas comunidades hacia las grandes ciudades y la posterior introducción de drogas en esta población. Si bien Buenos Aires es considerada como un área no endémica, en los últimos años ha habido una gran afluencia de individuos provenientes de Chaco y Formosa, donde el subtipo HTLV-2b ha sido previamente descrito como el endémico en estas poblaciones. Además, la creciente tasa de turismo desde y hacia la Argentina, especialmente del sur de Europa, Estados Unidos y Brasil podría haber contribuido a la introducción del HTLV-2b en nuestro país.

En conclusión, únicamente el subtipo b del HTLV-2 fue detectado en donantes de sangre y contrariamente a lo sugerido en un estudio previo, sería el subtipo b predominante en UDIs, sugiriendo que este subtipo es el mayoritario no solo en Amerindios de la Región Chaqueña sino también en

otras poblaciones de áreas no endémicas y que ha sido introducido en nuestra población debido al aumento de la interacción con comunidades originarias y el turismo especialmente del sur de Europa, Estados Unidos y Brasil.

## CONCLUSIONES

---

Basado en toda la información recopilada en este trabajo de tesis y con el objetivo de obtener un panorama más detallado de la epidemiología de la infección de HTLV-1/2 y brindar un diagnóstico adecuado de la infección por HTLV-1/2 en Argentina se hace imprescindible la implementación de un algoritmo diagnóstico óptimo para la infección por HTLV-1/2, lo cual implicaría tanto la provisión a los centros de salud de los equipos de tamizaje más eficientes disponibles en el mercado, como la posibilidad de ofrecer la realización de una nested- PCR anidada para la confirmación de los casos HTLV sin tipificar o seroindeterminados por WB.

En ésta tesis se estimó la prevalencia de HTLV-1/2 en distintas poblaciones, y hemos demostrado que si bien en donantes de sangre de la ciudad de Buenos Aires y en poblaciones de mujeres embarazadas de áreas no endémicas para HTLV-1/2 las cifras son bajas, ambos virus están circulando en poblaciones de bajo riesgo de la mayor parte del país.

Con respecto a los donantes de sangre hemos observado que el reclutamiento de donantes voluntarios contribuiría significativamente a reducir aún más la prevalencia de HTLV-1/2 en esta población y habría que considerar el riesgo de infección en aquellos casos que presenten antecedentes de riesgo como, por ejemplo, haber nacido o ser descendientes o haber tenido pareja sexual de individuos provenientes de áreas endémicas o infectados o con enfermedades relacionadas con el HTLV-1/2.

En el caso de las poblaciones de riesgo (UDIs, TS, HSH, TB y ETS) hemos visto que las cifras de prevalencia son significativamente superiores, por lo que existe un riesgo real de expansión de la infección por HTLV-1/2 desde estos grupos poblacionales hacia la población general.

Teniendo en cuenta la filogenia del HTLV-1, todas las cepas circulantes en nuestro país resultaron subtipo Cosmopolita subgrupo Transcontinental mientras que para el HTLV-2 el subtipo b fue el mayoritario en comunidades no aborígenes de Buenos Aires, sugiriendo que este subtipo ha sido introducido en esta población debido al aumento de la interacción con comunidades originarias y turismo especialmente del Sur de Europa, Estados Unidos y Brasil.

El conocimiento de la situación epidemiológica de estos retrovirus en todas estas poblaciones podría influir en la toma de decisiones a nivel de salud pública para implementar programas eficientes de prevención, diagnóstico y asistencia médica del individuo infectado por HTLV-1/2.

## REFERENCIAS

---



1. Baltimore D: RNA-dependent DNA polymerase in virions of RNA tumour viruses. *Nature* 1970;226:1209-1211.
2. Poiesz BJ, Ruscetti FW, Gazdar AF, Bunn PA, Minna JD, Gallo RC: 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* 1980;77:7415-7419.
3. Morgan DA, Ruscetti FW, Gallo R: Selective in vitro growth of T lymphocytes from normal human bone marrows. *Science* 1976;193:1007-1008.
4. Kalyanaraman VS, Sarngadharan MG, Robert-Guroff M, Miyoshi I, Golde D, Gallo RC: A new subtype of human T-cell leukemia virus (HTLV-II) associated with a T-cell variant of hairy cell leukemia. *Science* 1982;218:571-573.
5. Coffin JM, Essex M, Gallo R, Graf TM, Hinuma Y, Hunter E, Jaenisch R, Nusse R, Oroszlan S, Svoboda J, Teich N, Toyoshima K, Varmus H: Family Retroviridae. In *Virus Taxonomy. Sixth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses* 1995; :193-204.
6. Mahieux R, Gessain A: The human HTLV-3 and HTLV-4 retroviruses: new members of the HTLV family. *Pathol Biol (Paris)* 2009;57:161-166.
7. Wolfe ND, Heneine W, Carr JK, Garcia AD, Shanmugam V, Tamoufe U, Torimiro JN, Prosser AT, Lebreton M, Mpoudi-Ngole E, McCutchan FE, Birx DL, Folks TM, Burke DS, Switzer WM: Emergence of unique primate T-lymphotropic viruses among central African bushmeat hunters. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:7994-7999.
8. Switzer WM, Qari SH, Wolfe ND, Burke DS, Folks TM, Heneine W: Ancient origin and molecular features of the novel human T-lymphotropic virus type 3 revealed by complete genome analysis. *J Virol* 2006;80:7427-7438.
9. Coffin JM: Retroviridae: The viruses and their replication. In *Fields Virology. Third edition* edited by B.N. Fields DM, Knipe PM, Howley, et al. Raven Publishers, Philadelphia 1996;Chapter 51: 1437-500.
10. Felber BK, Paskalis H, Kleinman-Ewing C, Wong-Staal F, Pavlakis GN: The pX protein of HTLV-I is a transcriptional activator of its long terminal repeats. *Science* 1985;229:675-679.
11. Switzer WM, Salemi M, Qari SH, Jia H, Gray RR, Katzourakis A, Marriott SJ, Pryor KN, Wolfe ND, Burke DS, Folks TM, Heneine W: Ancient, independent evolution and distinct molecular features of the novel human T-lymphotropic virus type 4. *Retrovirology* 2009;6:9.
12. Rho HM, Poiesz B, Ruscetti FW, Gallo RC: Characterization of the reverse transcriptase from a new retrovirus (HTLV) produced by a human cutaneous T-cell lymphoma cell line. *Virology* 1981;112:355-360.
13. Buckle GJ, Hafler DA, Hollsberg P: HTLV-I-induced T-cell activation. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1996;13 Suppl 1:S107-113.
14. Suzuki T, Kitao S, Matsushime H, Yoshida M: HTLV-1 Tax protein interacts with cyclin-dependent kinase inhibitor p16INK4A and counteracts its inhibitory activity towards CDK4. *Embo J* 1996;15:1607-1614.
15. Clemens KE, Piras G, Radonovich MF, Choi KS, Duvall JF, DeJong J, Roeder R, Brady JN: Interaction of the human T-cell lymphotropic virus

- type 1 tax transactivator with transcription factor IIA. *Mol Cell Biol* 1996;16:4656-4664.
16. Grone M, Koch C, Grassmann R: The HTLV-1 Rex protein induces nuclear accumulation of unspliced viral RNA by avoiding intron excision and degradation. *Virology* 1996;218:316-325.
  17. Hollsberg P: Mechanisms of T-cell activation by human T-cell lymphotropic virus type I. *Microbiol Mol Biol Rev* 1999;63:308-333.
  18. Kinet S, Swainson L, Lavanya M, Mongellaz C, Montel-Hagen A, Craveiro M, Manel N, Battini JL, Sitbon M, Taylor N: Isolated receptor binding domains of HTLV-1 and HTLV-2 envelopes bind Glut-1 on activated CD4+ and CD8+ T cells. *Retrovirology* 2007;4:31.
  19. Kohtz DS, Altman A, Kohtz JD, Puszkin S: Immunological and structural homology between human T-cell leukemia virus type I envelope glycoprotein and a region of human interleukin-2 implicated in binding the beta receptor. *J Virol* 1988;62:659-662.
  20. Manel N, Kinet S, Kim FJ, Taylor N, Sitbon M, Battini JL: [GLUT-1 is the receptor of retrovirus HTLV]. *Med Sci (Paris)* 2004;20:277-279.
  21. Yasunaga J, Matsuoka M: Leukemogenesis of adult T-cell leukemia. *Int J Hematol* 2003;78:312-320.
  22. Lambert S, Bouttier M, Vassy R, Seigneuret M, Petrow-Sadowski C, Janvier S, Heveker N, Ruscetti FW, Perret G, Jones KS, Pique C: HTLV-1 uses HSPG and neuropilin-1 for entry by molecular mimicry of VEGF165. *Blood* 2009;113:5176-5185.
  23. Seiki M, Watanabe T, Komuro A, Miyoshi I, Hayami M, Yoshida M: Characterization of simian retrovirus genome related to human T-cell leukemia virus type I. *Princess Takamatsu Symp* 1984;15:241-249.
  24. Wattel E, Cavois M, Gessain A, Wain-Hobson S: Clonal expansion of infected cells: a way of life for HTLV-I. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1996;13 Suppl 1:S92-99.
  25. Zaninovic V, Galindo J, Blank A: Enfermedades asociadas con el virus HTLV-1. *Fundación Mar, Cali, Colombia* 1992.
  26. Van Dooren S, Shanmugam V, Bhullar V, Parekh B, Vandamme AM, Heneine W, Switzer WM: Identification in gelada baboons (*Theropithecus gelada*) of a distinct simian T-cell lymphotropic virus type 3 with a broad range of Western blot reactivity. *J Gen Virol* 2004;85:507-519.
  27. Weber T, Hunsmann G, Stevens W, Fleming AF: Human retroviruses. *Baillieres Clin Haematol* 1992;5:273-314.
  28. Lal RB, Gongora-Biachi RA, Pardi D, Switzer WM, Goldman I, Lal AF: Evidence for mother-to-child transmission of human T lymphotropic virus type II. *J Infect Dis* 1993;168:586-591.
  29. Hino S, Yamaguchi K, Katamine S, Sugiyama H, Amagasaki T, Kinoshita K, Yoshida Y, Doi H, Tsuji Y, Miyamoto T: Mother-to-child transmission of human T-cell leukemia virus type-I. *Jpn J Cancer Res* 1985;76:474-480.
  30. Ishak R, Vallinoto AC, Azevedo VN, Lewis M, Hall WW, Guimaraes Ishak MO: Molecular evidence of mother-to-child transmission of HTLV-IIc in the Kararao Village (Kayapo) in the Amazon region of Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2001;34:519-525.
  31. Tuppin P, Gessain A, Kazanji M, Mahieux R, Cosnefroy JY, Tekaiia F, Georges-Courbot MC, Georges A, de The G: Evidence in Gabon for an

- intrafamilial clustering with mother-to-child and sexual transmission of a new molecular variant of human T-lymphotropic virus type-II subtype B. *J Med Virol* 1996;48:22-32.
32. Iwahara Y, Sawada T, Taguchi H, Hoshino H, Umemoto M, Take H, Fong S, Miyoshi I: Neutralizing antibody to vesicular stomatitis virus (HTLV-I) pseudotype in infants born to seropositive mothers. *Jpn J Cancer Res* 1993;84:114-116.
  33. Tajima K, Cartier L: Epidemiological features of HTLV-I and adult T cell leukemia. *Intervirology* 1995;38:238-246.
  34. Take H, Umemoto M, Kusahara K, Kuraya K: Transmission routes of HTLV-I: an analysis of 66 families. *Jpn J Cancer Res* 1993;84:1265-1267.
  35. Stuver SO, Tachibana N, Okayama A, Shioiri S, Tsunetoshi Y, Tsuda K, Mueller NE: Heterosexual transmission of human T cell leukemia/lymphoma virus type I among married couples in southwestern Japan: an initial report from the Miyazaki Cohort Study. *J Infect Dis* 1993;167:57-65.
  36. Chen YM, Okayama A, Lee TH, Tachibana N, Mueller N, Essex M: Sexual transmission of human T-cell leukemia virus type I associated with the presence of anti-Tax antibody. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991;88:1182-1186.
  37. Murphy EL, Figueroa JP, Gibbs WN, Brathwaite A, Holding-Cobham M, Waters D, Cranston B, Hanchard B, Blattner WA: Sexual transmission of human T-lymphotropic virus type I (HTLV-I). *Ann Intern Med* 1989;111:555-560.
  38. Nakashima K, Kashiwagi S, Noguchi A, Hirata M, Hayashi J, Kawasaki T, Uezono K, Itoh K, Acharya GP, Ogata M: Human T-lymphotropic virus type-I, and hepatitis A, B and C viruses in Nepal: a serological survey. *J Trop Med Hyg* 1995;98:347-350.
  39. Kaplan JE, Khabbaz RF, Murphy EL, Hermansen S, Roberts C, Lal R, Heneine W, Wright D, Matijas L, Thomson R, Rudolph D, Switzer WM, Kleinman S, Busch M, Schreiber GB: Male-to-female transmission of human T-cell lymphotropic virus types I and II: association with viral load. The Retrovirus Epidemiology Donor Study Group. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1996;12:193-201.
  40. Moriuchi M, Moriuchi H: Seminal fluid enhances replication of human T-cell leukemia virus type 1: implications for sexual transmission. *J Virol* 2004;78:12709-12711.
  41. Osame M: Review of WHO Kagoshima meeting and diagnostic guidelines for HAM/TSP. In: Blattner W (ed) *Human retrovirology: HTLV*. Raven, New York. 1990:191-197.
  42. Okochi K, Sato H: Transmission of ATL (HTLV-I) through blood transfusion. *Princess Takamatsu Symp* 1984;15:129-135.
  43. Hjelle B, Mills R, Mertz G, Swenson S: Transmission of HTLV-II via blood transfusion. *Vox Sang* 1990;59:119-122.
  44. Nakatsuji Y, Sugai F, Watanabe S, Kaido M, Koguchi K, Abe K, Sakoda S: HTLV-I-associated myelopathy manifested after renal transplantation. *J Neurol Sci* 2000;177:154-156.
  45. Soyama A, Eguchi S, Takatsuki M, Ichikawa T, Moriuchi M, Moriuchi H, Nakamura T, Tajima Y, Kanematsu T: Human T-cell leukemia virus type

- I-associated myelopathy following living-donor liver transplantation. *Liver Transpl* 2008;14:647-650.
46. Tamaki H, Taniguchi Y, Kikuchi A, Yamagami T, Soma T, Matsuoka M: Development of adult T-cell leukemia in donor-derived human T-cell leukemia virus type I-infected T cells after allogeneic bone marrow transplantation. *Leukemia* 2007;21:1594-1596.
  47. Villafruela Mateos A AEA, Martín Bazaco J, Azurmendi Arin I, Zabala Egurrola JA, Pertusa Peña C.: HTLV infection after renal transplant. . *Arch Esp Urol* 2005;58:1064-1068.
  48. Yoshida M, Miyoshi I, Hinuma Y: Isolation and characterization of retrovirus from cell lines of human adult T-cell leukemia and its implication in the disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1982;79:2031-2035.
  49. Popovic M, Reitz Jr MS, Sarngadharan MG, Robert-Guroff M, Kalyanaraman VS, Nakao Y, Miyoshi I, Minowada J, Yoshida M, Ito Y, Gallo RC: The virus of Japanese adult T-cell leukaemia is a member of the human T-cell leukaemia virus group. . *Nature* 1992;300:63-66.
  50. Seiki M, Hattori S, Hirayama Y, Yoshida M: Human adult T-cell leukemia virus: complete nucleotide sequence of the provirus genome integrated in leukemia cell DNA. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1983;80:3618-3622.
  51. Mueller N, Tachibana N, Stuver SO, Okayama A, Ishizaki J, Shishime E, Murai K, Shioiri S, Tsuda K: Epidemiological Perspectives of HTLV-1. *Human Retrovirology: HTLV* 1990:281- 293.
  52. Cartier L, Araya F, Castillo JL, Zaninovic V, Hayami M, Miura T, Imai J, Sonoda S, Shiraki H, Miyamoto K, et al.: Southernmost carriers of HTLV-I/II in the world. *Jpn J Cancer Res* 1993;84:1-3.
  53. Gabbai AA, Bordin JO, Vieira-Filho JP, Kuroda A, Oliveira AS, Cruz MV, Ribeiro AA, Delaney SR, Herrard DR, Rosario J, et al.: Selectivity of human T lymphotropic virus type-1 (HTLV-1) and HTLV-2 infection among different populations in Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 1993;49:664-671.
  54. Reeves WC: The epidemiology of human T- lymphotropic virus type I in Panama. In: Blattner WA (ed.) *Human Retrovirology: HTLV,*. New York: Raven Press Ltd. 1990:385-390.
  55. Zaninovic V, Sanzon F, Lopez F, Velandia G, Blank A, Blank M, Fujiyama C, Yashiki S, Matsumoto D, Katahira Y, Miyashita H, Fujiyoshi T, Chan L, Sawada T, Miura T, Hayami M, Tajima K, Sonoda S: Geographic independence of HTLV-I and HTLV-II foci in the Andes Highland, the Atlantic Coast, and the Orinoco of Colombia. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1993;10:97-101.
  56. Chiyoda S, Kinoshita K, Egawa S, Inoue J, Watanabe K, Ifuku M: Decline in the positive rate of human T-lymphotropic virus type-1 (HTLV-1) antibodies among blood donors in Nagasaki. *Intern Med* 2001;40:14-17.
  57. Daisley H, Charles W, Landeau P, Jackman L, Batson M, Gomez-Adams K: Screening for HTLV-1 in healthy blood donors in Trinidad and Tobago, West Indies. *Trop Med Parasitol* 1991;42:404-406.
  58. de The G, Gessain A: [Seroepidemiologic data on viral infections (HTLV-I and LAV/HTLV-III) in the Caribbean region and intertropical Africa]. *Ann Pathol* 1986;6:261-264.
  59. Chiavetta JA, Escobar M, Newman A, He Y, Driezen P, Deeks S, Hone DE, O'Brien SF, Sher G: Incidence and estimated rates of residual risk

- for HIV, hepatitis C, hepatitis B and human T-cell lymphotropic viruses in blood donors in Canada, 1990-2000. *Cmaj* 2003;169:767-773.
60. Courouce AM, Pilonel J, Lemaire JM: HTLV-I and HTLV-II infections in French blood donors. *Vox Sang* 1993;65:334.
  61. Murphy EL, Figueroa JP, Gibbs WN, Holding-Cobham M, Cranston B, Malley K, Bodner AJ, Alexander SS, Blattner WA: Human T-lymphotropic virus type I (HTLV-I) seroprevalence in Jamaica. I. Demographic determinants. *Am J Epidemiol* 1991;133:1114-1124.
  62. Stigum H, Magnus P, Samdal HH, Nord E: Human T-cell lymphotropic virus testing of blood donors in Norway: a cost-effect model. *Int J Epidemiol* 2000;29:1076-1084.
  63. Tseliou PM, Spanakis N, Spiliotakara A, Politis C, Legakis NJ, Tsakris A: HTLV-I and -II in southwestern Greece. *Transfusion* 2003;43:1641-1642.
  64. Williams AE, Fang CT, Slamon DJ, Poiesz BJ, Sandler SG, Darr WF, 2nd, Shulman G, McGowan EI, Douglas DK, Bowman RJ, et al.: Seroprevalence and epidemiological correlates of HTLV-I infection in U.S. blood donors. *Science* 1988;240:643-646.
  65. Galvao-Castro B, Loures L, Rodrigues LG, Sereno A, Ferreira Junior OC, Franco LG, Muller M, Sampaio DA, Santana A, Passos LM, Proietti F: Distribution of human T-lymphotropic virus type I among blood donors: a nationwide Brazilian study. *Transfusion* 1997;37:242-243.
  66. Gastaldello R, Hall WW, Gallego S: Seroepidemiology of HTLV-I/II in Argentina: an overview. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2004;35:301-308.
  67. Kazanji M, Gessain A: Human T-cell Lymphotropic Virus types I and II (HTLV-I/II) in French Guiana: clinical and molecular epidemiology. *Cad Saude Publica* 2003;19:1227-1240.
  68. Leon G, Quiros AM, Lopez JL, Hung M, Diaz AM, Goncalves J, Da Costa O, Hernandez T, Chirinos M, Gomez R: [Seropositivity for human T-lymphotropic virus types I and II among donors at the Municipal Blood Bank of Caracas and associated risk factors]. *Rev Panam Salud Publica* 2003;13:117-123.
  69. Sanchez-Palacios C, Gotuzzo E, Vandamme AM, Maldonado Y: Seroprevalence and risk factors for human T-cell lymphotropic virus (HTLV-I) infection among ethnically and geographically diverse Peruvian women. *Int J Infect Dis* 2003;7:132-137.
  70. Kamiura S, Ohashi K, Azuma C, Saji F, Tanizawa O: [Seroprevalence rate of HTLV-I in pregnant women in Osaka Prefecture]. *Nippon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi* 1989;41:1855-1858.
  71. Hino S, Katamine S, Miyata H, Tsuji Y, Yamabe T, Miyamoto T: Primary prevention of HTLV-I in Japan. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1996;13 Suppl 1:S199-203.
  72. Mansuy JM, Schlegel L, Villeneuve L, Mengelle C, Magnaval JF: Seroprevalence of retroviral infections among pregnant women in Martinique (French West Indies). *Am J Trop Med Hyg* 1999;61:598-599.
  73. Zurita S, Costa C, Watts D, Indacochea S, Campos P, Sanchez J, Gotuzzo E: Prevalence of human retroviral infection in Quillabamba and Cuzco, Peru: a new endemic area for human T cell lymphotropic virus type 1. *Am J Trop Med Hyg* 1997;56:561-565.
  74. Bittencourt AL, Dourado I, Filho PB, Santos M, Valadao E, Alcantara LC, Galvao-Castro B: Human T-cell lymphotropic virus type 1 infection

- among pregnant women in northeastern Brazil. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2001;26:490-494.
75. Taylor GP, Bodeus M, Courtois F, Pauli G, Del Mistro A, Machuca A, Padua E, Andersson S, Goubau P, Chieco-Bianchi L, Soriano V, Coste J, Ades AE, Weber JN: The seroepidemiology of human T-lymphotropic viruses: types I and II in Europe: a prospective study of pregnant women. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005;38:104-109.
  76. Robert-Guroff M, Weiss SH, Giron JA, Jennings AM, Ginzburg HM, Margolis IB, Blattner WA, Gallo RC: Prevalence of antibodies to HTLV-I, -II, and -III in intravenous drug abusers from an AIDS endemic region. *Jama* 1986;255:3133-3137.
  77. de la Fuente L, Toro C, Soriano V, Brugal MT, Vallejo F, Barrio G, Jimenez V, Silva T: HTLV infection among young injection and non-injection heroin users in Spain: prevalence and correlates. *J Clin Virol* 2006;35:244-249.
  78. Desgranges C, Fillon S, Audoly G, Neisson-Vernant C, Bera O, Ouka M, Cesaire R, Buzelay L, Barin F: Presence of HIV-1 subtypes B and F and HTLV-I in HIV/HTLV coinfecting individuals of Martinique. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1996;13:468-470.
  79. Guimaraes ML, Bastos FI, Telles PR, Galvao-Castro B, Diaz RS, Bongertz V, Morgado MG: Retrovirus infections in a sample of injecting drug users in Rio de Janeiro City, Brazil: prevalence of HIV-1 subtypes, and co-infection with HTLV-I/II. *J Clin Virol* 2001;21:143-151.
  80. Zunt JR, La Rosa AM, Peinado J, Lama JR, Suarez L, Pun M, Cabezas C, Sanchez J: Risk factors for HTLV-II infection in Peruvian men who have sex with men. *Am J Trop Med Hyg* 2006;74:922-925.
  81. Bellei NC, Granato CF, Tomyiama H, Castelo A, Ferreira O: HTLV infection in a group of prostitutes and their male sexual clients in Brazil: seroprevalence and risk factors. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1996;90:122-125.
  82. Belza MJ: Prevalence of HIV, HTLV-I and HTLV-II among female sex workers in Spain, 2000-2001. *Eur J Epidemiol* 2004;19:279-282.
  83. Delaporte E, Buve A, Nzila N, Goeman J, Dazza MC, Henzel D, Heyward W, St-Louis M, Piot P, Laga M: HTLV-I infection among prostitutes and pregnant women in Kinshasa, Zaire: how important is high-risk sexual behavior? *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1995;8:511-515.
  84. Sng EH, Thirumoorthy T, Levin A, Alexander S, Sng I, Blattner W: Evidence of HTLV-I infection in Singapore prostitutes. *Int J STD AIDS* 1991;2:172-175.
  85. Trujillo L, Munoz D, Gotuzzo E, Yi A, Watts DM: Sexual practices and prevalence of HIV, HTLV-I/II, and *Treponema pallidum* among clandestine female sex workers in Lima, Peru. *Sex Transm Dis* 1999;26:115-118.
  86. Aboulafia DM, Mitsuyasu RT, Slamon DJ: Human T-cell leukemia virus infection in non-intravenous drug using HIV seropositive men in Los Angeles. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1991;7:333-336.
  87. La Rosa AM, Zunt JR, Peinado J, Lama JR, Ton TG, Suarez L, Pun M, Cabezas C, Sanchez J: Retroviral infection in Peruvian men who have sex with men. *Clin Infect Dis* 2009;49:112-117.

88. Ward H, Day S, Weber J: Risky business: health and safety in the sex industry over a 9 year period. *Sex Transm Infect* 1999;75:340-343.
89. Blattner WA, Saxinger C, Riedel D, Hull B, Taylor G, Cleghorn F, Gallo R, Blumberg B, Bartholomew C: A study of HTLV-I and its associated risk factors in Trinidad and Tobago. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1990;3:1102-1108.
90. Gessain A, Barin F, Vernant JC, Gout O, Maurs L, Calender A, de The G: Antibodies to human T-lymphotropic virus type-I in patients with tropical spastic paraparesis. *Lancet* 1985;2:407-410.
91. Poiesz BJ, Ruscetti FW, Mier JW, Woods AM, Gallo RC: T-cell lines established from human T-lymphocytic neoplasias by direct response to T-cell growth factor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1980;77:6815-6819.
92. Uchiyama T, Yodoi J, Sagawa K, Takatsuki K, Uchino H: Adult T-cell leukemia: clinical and hematologic features of 16 cases. *Blood* 1977;50:481-492.
93. Yamaguchi K, Kumagai T, Asou N, Lee SY, Kiyokawa T, Yoshioka R, Takatsuki K: [Smoldering adult T-cell leukemia--HTLV-I has also an etiologic role in the diseases other than ATL]. *Rinsho Ketsueki* 1986;27:670-676.
94. Furukawa Y, Yamashita M, Usuku K, Izumo S, Nakagawa M, Osame M: Phylogenetic subgroups of human T cell lymphotropic virus (HTLV) type I in the tax gene and their association with different risks for HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *J Infect Dis* 2000;182:1343-1349.
95. Kruschewsky R, Bittencourt A, Andrade A, Castro B: Case report: HTLV-1 associated myelopathy (HAM)/Tropical Spastic Paraparesis (TSP) with Amyotrophic Lateral Sclerosis-like associated with Adult T- cell Leukemia/Lymphoma (ATL). 14th International Conference on Human Retrovirology, Salvador, Bahia, Brazil. 2009;Poster 012.
96. Verdonck K, Gonzalez E, Van Dooren S, Vandamme AM, Vanham G, Gotuzzo E: Human T-lymphotropic virus 1: recent knowledge about an ancient infection. *Lancet Infect Dis* 2007;7:266-281.
97. Barmak K, Harhaj E, Grant C, Alefantis T, Wigdahl B: Human T cell leukemia virus type I-induced disease: pathways to cancer and neurodegeneration. *Virology* 2003;308:1-12.
98. Marin O, Hasui K, Remondegui C, Sato E, Aye MM, Takenouchi N, Izumo S, Tajima K: Adult T-cell leukemia/lymphoma in Jujuy, north-west Argentina. *Pathol Int* 2002;52:348-357.
99. Cordoliani F, Gessain A, Vignon-Pennamen MD, Mouly F, Moulounguet I, Flageul B, Laglenne S, Akerman C, Morel P: [Adult T-cell lymphoma associated with HTLV-1: a familial form]. *Ann Dermatol Venereol* 1998;125:708-710.
100. Mahieux R, Gessain A: [New human retroviruses: HTLV-3 and HTLV-4]. *Med Trop (Mars)* 2005;65:525-528.
101. Mahieux R, Gessain A: HTLV-1 and associated adult T-cell leukemia/lymphoma. *Rev Clin Exp Hematol* 2003;7:336-361.
102. Matsuoka M, Hattori T, Chosa T, Tsuda H, Kuwata S, Yoshida M, Uchiyama T, Takatsuki K: T3 surface molecules on adult T cell leukemia cells are modulated in vivo. *Blood* 1986;67:1070-1076.

103. Gessain A, Saal F, Gout O, Daniel MT, Flandrin G, de The G, Peries J, Sigaux F: High human T-cell lymphotropic virus type I proviral DNA load with polyclonal integration in peripheral blood mononuclear cells of French West Indian, Guianese, and African patients with tropical spastic paraparesis. *Blood* 1990;75:428-433.
104. Bazarbachi A, Hermine O: Treatment of adult T-cell leukaemia/lymphoma: current strategy and future perspectives. *Virus Res* 2001;78:79-92.
105. Scott HH: Investigation into an acute outbreak of "central neuritis". *Ann Trop Med Parasitol* 1988;12:109.
106. Osame M, Izumo S, Igata A, Matsumoto M, Matsumoto T, Sonoda S, Tara M, Shibata Y: Blood transfusion and HTLV-I associated myelopathy. *Lancet* 1986;2:104-105.
107. Roman GC, Osame M: Identity of HTLV-I-associated tropical spastic paraparesis and HTLV-I-associated myelopathy. *Lancet* 1988;1:651.
108. Cartier-Roviroso L, Mora C, Araya F, Castillo J, Verdugo R, Miller MA, Gajdusek DC, Gibbs CJ, Jr.: HTLV-I positive spastic paraparesis in a temperate zone. *Lancet* 1989;1:556-557.
109. Castro LH, Chaves CJ, Callegaro D, Nobrega JP, Scaff M: HTLV-I associated myelopathy in Brazil: a preliminary report. *Arq Neuropsiquiatr* 1989;47:501-502.
110. Gout O, Baulac M, Gessain A, Semah F, Saal F, Peries J, Cabrol C, Foucault-Fretz C, Laplane D, Sigaux F, et al.: Rapid development of myelopathy after HTLV-I infection acquired by transfusion during cardiac transplantation. *N Engl J Med* 1990;322:383-388.
111. Blattner WA: Human T-lymphotrophic viruses and diseases of long latency. *Ann Intern Med* 1989;111:4-6.
112. Goncalves DU, Proietti FA, Barbosa-Stancioli EF, Martins ML, Ribas JG, Martins-Filho OA, Teixeira-Carvalho A, Peruhype-Magalhaes V, Carneiro-Proietti AB: HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) inflammatory network. *Inflamm Allergy Drug Targets* 2008;7:98-107.
113. Jacobson S, Gupta A, Mattson D, Mingioli E, McFarlin DE: Immunological studies in tropical spastic paraparesis. *Ann Neurol* 1990;27:149-156.
114. Li Q, Sugimoto M, Imamura F, Matsushita T, Araki S: Immunological abnormalities in HTLV-I-associated myelopathy: spontaneous release of interleukin-2 and interleukin-2 receptor by peripheral blood lymphocytes. *Jpn J Med* 1990;29:487-492.
115. Yao J, Wigdahl B: Human T cell lymphotropic virus type I genomic expression and impact on intracellular signaling pathways during neurodegenerative disease and leukemia. *Front Biosci* 2000;5:D138-168.
116. Taylor GP: Pathogenesis and treatment of HTLV-I associated myelopathy. *Sex Transm Infect* 1998;74:316-322.
117. Croda MG, de Oliveira AC, Vergara MP, Bonasser F, Smid J, Duarte AJ, Casseb J: Corticosteroid therapy in TSP/HAM patients: the results from a 10 years open cohort. *J Neurol Sci* 2008;269:133-137.
118. Harrington WJ, Jr., Sheremata WA, Snodgrass SR, Emerson S, Phillips S, Berger JR: Tropical spastic paraparesis/HTLV-1-associated



- myelopathy (TSP/HAM): treatment with an anabolic steroid danazol. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1991;7:1031-1034.
119. Oh U, Yamano Y, Mora CA, Ohayon J, Bagnato F, Butman JA, Dambrosia J, Leist TP, McFarland H, Jacobson S: Interferon-beta1a therapy in human T-lymphotropic virus type I-associated neurologic disease. *Ann Neurol* 2005;57:526-534.
  120. Gessain A, Louie A, Gout O, Gallo RC, Franchini G: Human T-cell leukemia-lymphoma virus type I (HTLV-I) expression in fresh peripheral blood mononuclear cells from patients with tropical spastic paraparesis/HTLV-I-associated myelopathy. *J Virol* 1991;65:1628-1633.
  121. Komurian F, Pelloquin F, de The G: In vivo genomic variability of human T-cell leukemia virus type I depends more upon geography than upon pathologies. *J Virol* 1991;65:3770-3778.
  122. Gessain A, Boeri E, Yanagihara R, Gallo RC, Franchini G: Complete nucleotide sequence of a highly divergent human T-cell leukemia (lymphotropic) virus type I (HTLV-I) variant from melanesia: genetic and phylogenetic relationship to HTLV-I strains from other geographical regions. *J Virol* 1993;67:1015-1023.
  123. Proietti FA, Carneiro-Proietti AB, Catalan-Soares BC, Murphy EL: Global epidemiology of HTLV-I infection and associated diseases. *Oncogene* 2005;24:6058-6068.
  124. Van Dooren S GE, Salemi M, et al. : Evidence for a post-Columbian introduction of human T-cell lymphotropic virus type I in Latin America. *J Gen Virol* 1998;79:2695-2708.
  125. Van Dooren S, Gotuzzo E, Salemi M, Watts D, Audenaert E, Duwe S, Ellerbrok H, Grassmann R, Hagelberg E, Desmyter J, Vandamme AM: Evidence for a post-Columbian introduction of human T-cell lymphotropic virus type I in Latin America. *J Gen Virol* 1998;79:2695-2708.
  126. Kashima S, Alcantara LC, Takayanagui OM, Cunha MA, Castro BG, Pombo-de-Oliveira MS, Zago MA, Covas DT: Distribution of human T cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) subtypes in Brazil: genetic characterization of LTR and tax region. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2006;22:953-959.
  127. Shimotohno K, Takashi Y, Shimizu N, Gojobori T, Golde DW, Chen ISY, Miwa M, Sugimura T: Complete nucleotide sequence of an infectious clone of human T cell leukemia virus type II: an open reading frame for the protease gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;82:3101-3105.
  128. Rosenblatt JD, Golde DW, Wachsmann W, Giorgi JV, Jacobs A, Schmidt GM, Quan S, Gasson JC, Chen IS: A second isolate of HTLV-II associated with atypical hairy-cell leukemia. *N Engl J Med* 1986;315:372-377.
  129. Lairmore MD, Jacobson S, Gracia F, De BK, Castillo L, Larreategui M, Roberts BD, Levine PH, Blattner WA, Kaplan JE: Isolation of human T-cell lymphotropic virus type 2 from Guaymi Indians in Panama. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990;87:8840-8844.
  130. Zella D, Cavicchini A, Salemi M, Casoli C, Lori F, Achilli G, Cattaneo E, Landini V, Bertazzoni U: Molecular characterization of two isolates of human T cell leukaemia virus type II from Italian drug abusers and comparison of genome structure with other isolates. *J Gen Virol* 1993;74 ( Pt 3):437-444.

131. Kalyanaraman VS NR, Feorino P, Ramsey RB, Palmer EL, Chorba T, Mc Lee H, Idler KB, Swanson P, Aparicio JJ, Chen KK, Lax JP, Nguysin M, Mann T, Leckie G, Zanetti A, Marinucci G, Chen ISY, Rosenblatt JD: Complete nucleotide sequence of HTLV-II Isolate NRA: Comparison of Envelope sequence Variation of HTLV-II Isolates from U.S. Blood Donors and U.S. and Italian IV drug users. *Virology* 1993;196:57-69.
132. Pardi D, Switzer WM, Hadlock KG, Kaplan JE, Lal RB, Folks TM: Complete nucleotide sequence of an Amerindian human T-cell lymphotropic virus type II (HTLV-II) isolate: identification of a variant HTLV-II subtype b from a Guaymi Indian. *J Virol* 1993;67:4659-4664.
133. Kaplan JE, Khabbaz RF: The epidemiology of human T-lymphotropic virus types I and II. *Reviews of Medical Virology* 1995;3.
134. Heneine W, Kaplan JE, Gracia F, Lal R, Roberts B, Levine PH, Reeves WC: HTLV-II endemicity among Guaymi Indians in Panama. *N Engl J Med* 1991;324:565.
135. Hjelle B, Wilson C, Cyrus S, Bradshaw P, Lo J, Schammel C, Wiltbank T, Alexander S: Human T-cell leukemia virus type II infection frequently goes undetected in contemporary US blood donors. *Blood* 1993;81:1641-1644.
136. Levine PH, Jacobson S, Elliott R, Cavallero A, Colclough G, Dorry C, Stephenson C, Knigge RM, Drummond J, Nishimura M, et al.: HTLV-II infection in Florida Indians. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1993;9:123-127.
137. Maloney EM, Biggar RJ, Neel JV, Taylor ME, Hahn BH, Shaw GM, Blattner WA: Endemic human T cell lymphotropic virus type II infection among isolated Brazilian Amerindians. *J Infect Dis* 1992;166:100-107.
138. Moreira ED, Jr., Ribeiro TT, Swanson P, Sampaio Filho C, Melo A, Brites C, Badaro R, Toedter G, Lee H, Harrington W, Jr.: Seroepidemiology of human T-cell lymphotropic virus type I/II in northeastern Brazil. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1993;6:959-963.
139. Fujiyama C, Fujiyoshi T, Miura T, Yashiki S, Matsumoto D, Zaninovic V, Blanco O, Harrington W, Jr., Byrnes JJ, Hayami M, et al.: A new endemic focus of human T lymphotropic virus type II carriers among Orinoco natives in Colombia. *J Infect Dis* 1993;168:1075-1077.
140. Echeverria de Perez G, Leon-Ponte M, Noya O, Botto C, Gallo D, Bianco N: First description of endemic HTLV-II infection among Venezuelan Amerindians. *J of Acquir Immune Defic Syndr* 1993;6:1368-1372.
141. Cabral MB VM, Samudio M, Cabello A, Zapiola Y, Bouzas MB, Muchnik G: HTLV-I/II antibodies among three different Indian groups from Paraguay. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1995;10:199.
142. Murphy EL, Watanabe K, Nass CC, Ownby H, Williams A, Nemo G: 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* 1999;180:1777-1783.
143. Roucoux DF, Murphy EL: The epidemiology and disease outcomes of human T-lymphotropic virus type II. *AIDS Rev* 2004;6:144-154.
144. Diop S, Calattini S, Abah-Dakou J, Thiam D, Diakhate L, Gessain A: Seroprevalence and molecular epidemiology of human T-Cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) and HTLV-2 in blood donors from Dakar, Senegal. *J Clin Microbiol* 2006;44:1550-1554.

145. Gudo ES, Abreu CM, Mussa T, Augusto Ado R, Otsuki K, Chambo E, Amade N, Tanuri A, Ferreira OC, Jr., Jani IV: Serologic and molecular typing of human T-lymphotropic virus among blood donors in Maputo City, Mozambique. *Transfusion* 2009;49:1146-1150.
146. Colin DD, Alcantara Junior LC, Santos FL, Uchoa R, Tavares-Neto J: [Seroprevalence of human T cell lymphotropic virus infection and associated factors of risk in blood donors of Rio Branco city, AC, Brazil (1998-2001)]. *Rev Soc Bras Med Trop* 2003;36:677-683.
147. Quispe NC, Feria EB, Santos-Fortuna Ede L, Caterino-de-Araujo A: Confirming the presence of HTLV-1 infection and the absence of HTLV-2 in blood donors from Arequipa, Peru. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2009;51:25-29.
148. Ehrlich GD, Glaser JB, LaVigne K, Quan D, Mildvan D, Sninsky JJ, Kwok S, Papsidero L, Poiesz BJ: Prevalence of human T-cell leukemia/lymphoma virus (HTLV) type II infection among high-risk individuals: type-specific identification of HTLVs by polymerase chain reaction. *Blood* 1989;74:1658-1664.
149. Lombardi V, Carrillo MG, Alimandi M, Boxaca M, Rossi P, Libonatti O: Overt and latent HIV 1 and HTLV-I infection in cohorts of at high risk individuals in Argentina. *Mol Cell Probes* 1991;5:409-417.
150. Zella D, Mori L, Sala M, Ferrante P, Casoli C, Magnani G, Achilli G, Cattaneo E, Lori F, Bertazzoni U: HTLV-II infection in Italian drug abusers. *Lancet* 1990;336:575-576.
151. Froment A, Delaporte E, Dazza MC, Larouze B: HTLV-II among pygmies from Cameroon. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1993;9:707.
152. Gessain A, Fretz C, Koulibaly M, Boudret ML, Bah A, Raphael M, de The G, Fournel JJ: Evidence of HTLV-II infection in Guinea, West Africa. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1993;6:324-325.
153. Goubau P, Desmyter J, Swanson P, Reynders M, Shih J, Surmont I, Kazadi K, Lee H: Detection of HTLV-I and HTLV-II infection in Africans using type-specific envelope peptides. *J Med Virol* 1993;39:28-32.
154. Fouchard N, Flageul B, Bagot M, Avril MF, Hermine O, Sigaux F, Merle-Beral H, Troussard X, Delfraissy JF, de The G, et al.: Lack of evidence of HTLV-I/II infection in T CD8 malignant or reactive lymphoproliferative disorders in France: a serological and/or molecular study of 169 cases. *Leukemia* 1995;9:2087-2092.
155. Murphy EL, Ownby HE, Smith JW, Garratty G, Hutching ST, Wu Y, Ameti DI: Pulmonary function testing in HTLV-I and HTLV-II infected humans: a cohort study. *BMC Pulm Med* 2003;3:1.
156. Zucker-Franklin D, Hooper WC, Evatt BL: Human lymphotropic retroviruses associated with mycosis fungoides: evidence that human T-cell lymphotropic virus type II (HTLV-II) as well as HTLV-I may play a role in the disease. *Blood* 1992;80:1537-1545.
157. Casoli C, Pilotti E, Bertazzoni U: Molecular and cellular interactions of HIV-1/HTLV coinfection and impact on AIDS progression. *AIDS Rev* 2007;9:140-149.
158. Hall WW, Kaplan MH, Salahuddin SZ, Oyaisu N, Gurgo C, Coronese M, Nagashima K, Gallo RC: Concomitant infections with human T-cell leukemia viruses (HTLVs) and human immunodeficiency virus (HIV) identification of HTLV. Infection in intravenous drug abusers (IVDAs). In

- Human Retrovirology: HTLV. WA Blattner (Ed). New York: Raven Press 1990:125-127.
159. Ferrer JF, Del Pino N, Esteban E, Sherman MP, Dube S, Dube DK, Basombrio MA, Pimentel E, Segovia A, Quirulas S, et al.: High rate of infection with the human T-cell leukemia retrovirus type II in four Indian populations of Argentina. *Virology* 1993;197:576-584.
  160. Hall WW, Takahashi H, Liu C, Kaplan MH, Scheewind O, Ijichi S, Nagashima K, Gallo RC: Multiple isolates and characteristics of human T-cell leukemia virus type II. *J Virol* 1992;66:2456-2463.
  161. Hall WW, Ishak R, Zhu SW, Novoa P, Eiraku N, Takahashi H, Ferreira Mda C, Azevedo V, Ishak MO, Ferreira Oda C, Monken C, Kurata T: Human T lymphotropic virus type II (HTLV-II): epidemiology, molecular properties, and clinical features of infection. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1996;13 Suppl 1:S204-214.
  162. Goubau P: HTLV-II in Africa. VIII International Conference on Human Retrovirology: HTLV. Rio de Janeiro, Brasil, June 9-13 1997.
  163. Lewis M, Novoa P, Hall W: Isolation, characterization and complete nucleotide sequence of a distinct Brazilian subtype of human t-cell lymphotropic virus type II. (Abstract) VIII International Conference on Human Retrovirology: HTLV. Rio de Janeiro, Brasil, June 9-13 1997.
  164. Calattini S, Chevalier SA, Duprez R, Bassot S, Froment A, Mahieux R, Gessain A: Discovery of a new human T-cell lymphotropic virus (HTLV-3) in Central Africa. *Retrovirology* 2005;2:30.
  165. Chevalier SA, Meertens L, Pise-Masison C, Calattini S, Park H, Alhaj AA, Zhou M, Gessain A, Kashanchi F, Brady JN, Mahieux R: The tax protein from the primate T-cell lymphotropic virus type 3 is expressed in vivo and is functionally related to HTLV-1 Tax rather than HTLV-2 Tax. *Oncogene* 2006;25:4470-4482.
  166. Liegeois F, Lafay B, Switzer WM, Locatelli S, Mpoudi-Ngole E, Loul S, Heneine W, Delaporte E, Peeters M: Identification and molecular characterization of new STLV-1 and STLV-3 strains in wild-caught nonhuman primates in Cameroon. *Virology* 2008;371:405-417.
  167. Courgnaud V, Van Dooren S, Liegeois F, Pourrut X, Abela B, Loul S, Mpoudi-Ngole E, Vandamme A, Delaporte E, Peeters M: Simian T-cell leukemia virus (STLV) infection in wild primate populations in Cameroon: evidence for dual STLV type 1 and type 3 infection in agile mangabeys (*Cercocebus agilis*). *J Virol* 2004;78:4700-4709.
  168. Meertens L, Mahieux R, Mauciere P, Lewis J, Gessain A: Complete sequence of a novel highly divergent simian T-cell lymphotropic virus from wild-caught red-capped mangabeys (*Cercocebus torquatus*) from Cameroon: a new primate T-lymphotropic virus type 3 subtype. *J Virol* 2002;76:259-268.
  169. Biglione M, Gessain A, Quiruelas S, Fay O, Taborda MA, Fernandez E, Lupo S, Panzita A, de The G: Endemic HTLV-II infection among Tobas and Matacos Amerindians from north Argentina. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1993;6:631-633.
  170. Yamashita M, Ido E, Miura T, Hayami M: Molecular epidemiology of HTLV-I in the world. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1996;13 Suppl 1:S124-131.

171. Ferrer JF, Esteban E, Dube S, Basombrio MA, Segovia A, Peralta-Ramos M, Dube DK, Sayre K, Aguayo N, Hengst J, Poiesz BJ: Endemic infection with human T cell leukemia/lymphoma virus type IIB in Argentinean and Paraguayan Indians: epidemiology and molecular characterization. *J Infect Dis* 1996;174:944-953.
172. Biglione MM, Astarloa L, Salomon HE: High prevalence of HTLV-I and HTLV-II among blood donors in Argentina: a South American health concern. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2005;21:1-4.
173. Blejer JL, Saguier MC, Salamone HJ, Carreras LA: [Determination of anti-HTLV-I/II antibodies: Experience in 28,897 blood donations in Buenos Aires]. *Sangre (Barc)* 1995;40:447-451.
174. Del Pino N, Martínez Peralta L, Pampuro S, Pimentel E, Libonatti O: HTLV-I/II seroprevalence and coinfection with other pathogens in Blood Donors in Buenos Aires. *J of Acquir Immune Defic Syndr* 1994;7:206-207.
175. Gutfraind Z, Blejer JL, Saguier MC, Gomez Carretero ML, Pirola DA, Carreras Vescio LA: Seroprevalence of HTLV-I/HTLV-II in blood donors in Buenos Aires (Argentina). *Vox Sang* 1994;67:408-409.
176. Trenchi A, Gastaldello R, Balangero M, Irizar M, Cudola A, Gallego S: Retrospective study of the prevalence of human T-cell lymphotropic virus-type 1/2, HIV, and HBV in pregnant women in Argentina. *J Med Virol* 2007;79:1974-1978.
177. De Vito C PS, Del Pino N, Martínez Peralta L, Libonatti O: HTLV-I/II survey on hemodialysis patients in Buenos Aires. *J of Acquir Immune Defic Syndr and Hum Retrovirol* 1996;12:525-526.
178. Remesar MC, del Pozo AE, Pittis MG, Mangano AM, Sen L, Briones L: Transmission of HTLV-I by kidney transplant. *Transfusion* 2000;40:1421-1422.
179. Bouzas MB, Zapiola I, Quiruelas S, Gorvein D, Panzita A, Rey J, Carnese FP, Corral R, Perez C, Zala C, et al.: HTLV type I and HTLV type II infection among Indians and natives from Argentina. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1994;10:1567-1571.
180. Biglione MM, Pizarro M, Puca A, Salomon HE, Berria MI: A cluster of human T-cell lymphotropic virus type I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis in Jujuy, Argentina. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2003;32:441-445.
181. Gonzalez LA, Villa AM, Kohler G, Garcea O, Kremenchutzky M, Caceres F, Sanz OP, Sica RE: Further studies on HTLV-I associated myelopathy in Argentina. *Medicina (B Aires)* 1998;58:411-414.
182. Remondegui C: Paraparesia espástica tropical por HTLV-I en la provincia de Jujuy. *Boletín sobre el SIDA en la Argentina* 1998;14:20-28.
183. Zala C, Zapiola I, Bouzas MB, Benetucci J, Lopez L, Gallo D, Hanson C, Muchnik GR: Human T-cell lymphotropic virus type I disease in Argentine intravenous drug users with human immunodeficiency virus type 1 infection. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1994;7:870-871.
184. Fujiyoshi T, Li HC, Lou H, Yashiki S, Karino S, Zaninovic V, Oneeglo SG, Camacho M, Andrade R, Hurtado LV, Gomez LH, Damiani E, Cartier L, Dipierri JE, Hayami M, Sonoda S, Tajima K: Characteristic distribution of HTLV type I and HTLV type II carriers among native ethnic groups in South America. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1999;15:1235-1239.

185. Wiktor SZ, Jacobson S, Weiss SH, Shaw GM, Reuben JS, Shorty VJ, McFarlin DE, Blattner WA: Spontaneous lymphocyte proliferation in HTLV-II infection. *Lancet* 1991;337:327-328.
186. Lipka JJ, Miyoshi I, Hadlock KG, Reyes GR, Chow TP, Blattner WA, Shaw GM, Hanson CV, Gallo D, Chan L, et al.: Segregation of human T cell lymphotropic virus type I and II infections by antibody reactivity to unique viral epitopes. *J Infect Dis* 1992;165:268-272.
187. Thorstensson R, Albert J, Andersson S: Strategies for diagnosis of HTLV-I and -II. *Transfusion* 2002;42:780-791.
188. Leads from the MMWR. Update: serologic testing for antibody to human immunodeficiency virus. *Jama* 1988;259:653, 656, 662-654.
189. Lal RB, Brodine S, Kazura J, Mbidde-Katonga E, Yanagihara R, Roberts C: Sensitivity and specificity of a recombinant transmembrane glycoprotein (rgp21)-spiked western immunoblot for serological confirmation of human T-cell lymphotropic virus type I and type II infections. *J Clin Microbiol* 1992;30:296-299.
190. Vandamme AM, Van Laethem K, Liu HF, Van Brussel M, Delaporte E, de Castro Costa CM, Fleischer C, Taylor G, Bertazzoni U, Desmyter J, Goubau P: 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* 1997;52:1-7.
191. Kwok S, Gallo D, Hanson C, McKinney N, Poiesz B, Sninsky JJ: High prevalence of HTLV-II among intravenous drug abusers: PCR confirmation and typing. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1990;6:561-565.
192. Mahieux R, Horal P, Mauclere P, Mercereau-Puijalon O, Guillotte M, Meertens L, Murphy E, Gessain A: Human T-cell lymphotropic virus type 1 gag indeterminate western blot patterns in Central Africa: relationship to *Plasmodium falciparum* infection. *J Clin Microbiol* 2000;38:4049-4057.
193. Lal RB, Rudolph DL, Nerurkar VR, Yanagihara R: Humoral responses to the immunodominant gag and env epitopes of human T-lymphotropic virus type I among Melanesians. *Viral Immunol* 1992;5:265-272.
194. Santos Tde J, Costa CM, Goubau P, Vandamme AM, Desmyter J, Van Doren S, Mota RM, de Castro Costa FB, Oliveira AC, Barreto V, Gomes AF, Carneiro-Proietti AB, de Bruin VM, de Sousa FC, Oria RB: Western blot seroindeterminate individuals for human T-lymphotropic virus I/II (HTLV-I/II) in Fortaleza (Brazil): a serological and molecular diagnostic and epidemiological approach. *Braz J Infect Dis* 2003;7:202-209.
195. Sato A, Isaka Y, Morita F, Ishii A, Goto Y, Imai J, Igarashi H, Yoshie O, Hinuma Y: Human sera from varicella-zoster virus (VZV) infections cross-react with human T cell leukaemia virus type 1 (HTLV-1): common epitopes in VZV gene 22 protein and HTLV-1 p19 gag protein. *J Gen Virol* 1992;73 ( Pt 11):2969-2973.
196. Lu SC, Chen BH: Seroindeterminate HTLV-1 prevalence and characteristics in blood donors in Taiwan. *Int J Hematol* 2003;77:412-413.
197. Mangano AM, Remesar M, del Pozo A, Sen L: Human T lymphotropic virus types I and II proviral sequences in Argentinian blood donors with indeterminate Western blot patterns. *J Med Virol* 2004;74:323-327.

198. Barre-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, Nugeyre MT, Chamaret S, Gruest J, Dauguet C, Axler-Blin C, Vezinet-Brun F, Rouzioux C, Rozenbaum W, Montagnier L: Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science* 1983;220:868-871.
199. Gallo RC, Sliski A, Wong-Staal F: Origin of human T-cell leukaemia-lymphoma virus. *Lancet* 1983;2:962-963.
200. Ministerio de Salud y Ambiente de la Nación. Boletín sobre VIH/SIDA en la Argentina. 2009;Año XII, Número 26.
201. Blumberg BS, H, Visnich S.: A new antigen in leukemia sera. *JAMA* 1965;191:541.
202. Gust ID, Burrell CJ, Coulepis AG, Robinson WS, Zuckerman AJ: Taxonomic classification of human hepatitis B virus. *Intervirology* 1986;25:14-29.
203. Gust ID: Towards the control of hepatitis B: an historical review. *Aust Paediatr J* 1986;22:273-276.
204. Lavanchy D: Hepatitis B virus epidemiology, disease burden, treatment, and current and emerging prevention and control measures. *J Viral Hepat* 2004;11:97-107.
205. Lee WM: Hepatitis B virus infection. *N Engl J Med* 1997;337:1733-1745.
206. Kaito M, Watanabe S, Tsukiyama-Kohara K, Yamaguchi K, Kobayashi Y, Konishi M, Yokoi M, Ishida S, Suzuki S, Kohara M: Hepatitis C virus particle detected by immunoelectron microscopic study. *J Gen Virol* 1994;75 ( Pt 7):1755-1760.
207. Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M: Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989;244:359-362.
208. Memon MI, Memon MA: Hepatitis C: an epidemiological review. *J Viral Hepat* 2002;9:84-100.
209. Poynard T, Yuen MF, Ratziu V, Lai CL: Viral hepatitis C. *Lancet* 2003;362:2095-2100.
210. Cuthbert JA: Hepatitis C: progress and problems. *Clin Microbiol Rev* 1994;7:505-532.
211. Feucht HH, Polywka S, Zollner B, Laufs R: Greater amount of HCV-RNA in tears compared to blood. *Microbiol Immunol* 1994;38:157-158.
212. Bonacini M, Puoti M: Hepatitis C in patients with human immunodeficiency virus infection: diagnosis, natural history, meta-analysis of sexual and vertical transmission, and therapeutic issues. *Arch Intern Med* 2000;160:3365-3373.
213. Ockenga J, Tillmann HL, Trautwein C, Stoll M, Manns MP, Schmidt RE: Hepatitis B and C in HIV-infected patients. Prevalence and prognostic value. *J Hepatol* 1997;27:18-24.
214. [www.fac.org.ar/fec/chagas/fatala](http://www.fac.org.ar/fec/chagas/fatala). Último Acceso 29-01-2010. Instituto Nacional de Parasitología "Dr. Mario Fatala Chabén".
215. Basualdo JA CC, De Torres RA: Microbiología Biomédica. Editorial Atlante SRL, Buenos Aires 1996.
216. Mandell GL DG, Bennett JE: Enfermedades Infecciosas. Principios y Práctica. Editorial Médica Panamericana. 3ra Edición 1990.

217. Singh AE, Romanowski B: Syphilis: review with emphasis on clinical, epidemiologic, and some biologic features. *Clin Microbiol Rev* 1999;187-209.
218. Pando MA, Berini C, Bibini M, Fernandez M, Reinaga E, Maulen S, Marone R, Biglione M, Montano SM, Bautista CT, Weissenbacher M, Sanchez JL, Avila MM: Prevalence of HIV and other sexually transmitted infections among female commercial sex workers in Argentina. *Am J Trop Med Hyg* 2006;74:233-238.
219. Pando MA AM, De Salvo C, Feola M, Lado I, Hoffman M, Schvachsa N, Sánchez JL and Weissenbacher M.: Blood borne and Sexually-Transmitted Infections (STI) in Patients Infected with Mycobacterium tuberculosis (Tb) in Argentina. XV International AIDS Conference. Bangkok, Thailand. 2004;p150.
220. Pando Mde L, Maulen S, Weissenbacher M, Marone R, Duranti R, Peralta LM, Salomon H, Russell K, Negrete M, Estani SS, Montano S, Sanchez JL, Avila MM: High human immunodeficiency virus type 1 seroprevalence in men who have sex with men in Buenos Aires, Argentina: risk factors for infection. *Int J Epidemiol* 2003;32:735-740.
221. Weissenbacher M, Rossi D, Radulich G, Sosa-Estani S, Vila M, Vivas E, Avila MM, Cuchi P, Rey J, Peralta LM: High seroprevalence of bloodborne viruses among street-recruited injection drug users from Buenos Aires, Argentina. *Clin Infect Dis* 2003;37 Suppl 5:S348-352.
222. Tuke PW, Luton P, Garson JA: Differential diagnosis of HTLV-I and HTLV-II infections by restriction enzyme analysis of 'nested' PCR products. *J Virol Methods* 1992;40:163-173.
223. Hall TA: BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp. Ser.* 1999;41:95-98.
224. Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ: CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res* 1994;22:4673-4680.
225. Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S: MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol Biol Evol* 2007;24:1596-1599.
226. Guindon S, Gascuel O: A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Syst Biol* 2003;52:696-704.
227. B.O. 31/01/05 Salud Pública. Resolución 58/2005. Ministerio de Salud y Ambiente de la Nación. Normas técnicas y administrativas de la especialidad de hemoterapia. Accesible en [www.femeba.org.ar/fundacion](http://www.femeba.org.ar/fundacion). Último acceso 05-22-2010.
228. Stramer SL, Foster GA, Dodd RY: Effectiveness of human T-lymphotropic virus (HTLV) recipient tracing (lookback) and the current HTLV-I and -II confirmatory algorithm, 1999 to 2004. *Transfusion* 2006;46:703-707.
229. Cesaire R, Bera O, Maier H, Lezin A, Martial J, Ouka M, Kerob-Bauchet B, Ould Amar AK, Vernant JC: Seroindefinite patterns and seroconversions to human T-lymphotropic virus type I positivity in blood



- donors from Martinique, French West Indies. *Transfusion* 1999;39:1145-1149.
230. Prince HE, Gross M: Impact of initial screening for human T-cell lymphotropic virus (HTLV) antibodies on efficiency of HTLV Western blotting. *Clin Diagn Lab Immunol* 2001;8:467.
  231. Rouet F, Meertens L, Courouble G, Herrmann-Storck C, Pabingui R, Chancerel B, Abid A, Strobel M, Mauclere P, Gessain A: Serological, epidemiological, and molecular differences between human T-cell lymphotropic virus Type 1 (HTLV-1)-seropositive healthy carriers and persons with HTLV-I Gag indeterminate Western blot patterns from the Caribbean. *J Clin Microbiol* 2001;39:1247-1253.
  232. Kwok S, Lipka JJ, McKinney N, Kellogg DE, Poiesz B, Fong SK, Sninsky JJ: Low incidence of HTLV infections in random blood donors with indeterminate western blot patterns. *Transfusion* 1990;30:491-494.
  233. Medrano FJ, Soriano V, Calderon EJ, Rey C, Gutierrez M, Bravo R, Leal M, Gonzalez-Lahoz J, Lissen E: Significance of indeterminate reactivity to human T-cell lymphotropic virus in western blot analysis of individuals at risk. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1997;16:249-252.
  234. Licensure of screening tests for antibody to human T-lymphotropic virus type I. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1988;37:736-740,745-737.
  235. Waziri A, Soldan SS, Graf MD, Nagle J, Jacobson S: Characterization and sequencing of prototypic human T-lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) from an HTLV-1/2 seroindeterminate patient. *J Virol* 2000;74:2178-2185.
  236. Perez Bianco R, Santarelli MT: [Analysis of a national serological survey for diseases transmitted by blood transfusion]. *Medicina (B Aires)* 1993;53:491-496.
  237. Schmunis GA, Zicker F, Segura EL, del Pozo AE: Transfusion-transmitted infectious diseases in Argentina, 1995 through 1997. *Transfusion* 2000;40:1048-1053.
  238. Informe del control de Sangre a Transfundir. 2007. Accesible en [www.anlis.gov.ar](http://www.anlis.gov.ar). Último acceso 05-02-2010.
  239. Lu SC, Kao CL, Chin LT, Chen JW, Yang CM, Chang JH, Hsu SC, Chang AC, Chen BH: Seroprevalence and demographic characteristics of HTLV-I among blood donors in Taiwan: 1996-1999. *Int J Hematol* 2001;74:333-337.
  240. Pampuro SE, Rabinovich RD, Martinez Peralta L, Gallo D, Hanson C, Libonatti O: Presence of human T-cell lymphotropic virus types I and II and coinfection with human immunodeficiency virus in different groups at risk in Argentina. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1993;6:851-852.
  241. Boletín sobre VIH/SIDA en la Argentina. Ministerio de Salud y Ambiente de la Nación. Año XI, Número 25  
2008:7.
  242. Chaki S BM, Paterniti A, Rocca H, Salomón H: HTLV-I/II: Estudio de seroprevalencia en donantes de sangre de la provincia de Neuquén. VII Congreso Argentino de Virología. Buenos Aires, Argentina. Septiembre 23-25 2002:Libro de resúmenes p 60 (55).
  243. Remesar M, Mangano A, Sen L, del Pozo A: Profile of human T-cell lymphocytotropic virus-I/II infections in an Argentinean blood bank population. *Vox Sang* 2002;83:364-365.

244. Taylor G: The epidemiology and clinical impact of HTLV infections in Europe. *AIDS Rev* 1999;1:195-204.
245. 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 Hum Retrovirol* 1998;19:426-429.
246. Libonatti O, Lombardi V, Boxaca M, Gertiser R, Muzzio E, Naveira R, Rossi P, Wigzell H, Weissenbacher M: [Prevalence of anti-HTLV-I antibodies in intravenous drug addicts in Argentina]. *Medicina (B Aires)* 1989;49:546-547.
247. Biglione M, Pizarro M, Crespo O, Severich I, Martinez Peralta L, Libonatti O, Mercedes Avila M, Astarloa L: High prevalence of HTLV-I infection in Argentinian blood donors: a new HTLV-I-endemic area? *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1999;20:101-102.
248. Dipierri JE, Tajima K, Cartier Robirosa L, Sonoda S: A seroepidemiological survey of HTLV-I/II carriers in the Puna Jujena. *Medicina (B Aires)* 1999;59:717-720.
249. Madden DL, Tzan NR, Roman GC, Detels R, Mundon FK, Fuccillo DA, Sever JL: HIV and HTLV-I antibody studies: pregnant women in the 1960s, patients with AIDS, homosexuals, and individuals with tropical spastic paraparesis. *Yale J Biol Med* 1987;60:569-574.
250. Mueller N: The epidemiology of HTLV-I infection. *Cancer Causes Control* 1991;2:37-52.
251. Tuberculosis LACI: Situación de la Tuberculosis. Republica Argentina. Accesible en <http://www.lalat.org.ar>. Último acceso 05-02-2010. 2002.
252. Menna-Barreto M, Machado DC: Tuberculous meningoencephalomyelitis and coinfection with HTLV-I + HTLV-II: case report. *Arq Neuropsiquiatr* 2006;64:125-127.
253. Olaleye DO, Bernstein L, Sheng Z, Ekweozor CC, Li XY, Sullivan-Halley J, Rasheed S: Type-specific immune response to human T cell lymphotropic virus (HTLV) type I and type II infections in Nigeria. *Am J Trop Med Hyg* 1994;50:479-486.
254. Alberga H, Goubau P, Desmyter J, Carton H: [Prevalence of human T-lymphotropic virus, Type 1 and 2 in blood donors and patients with sexually transmissible diseases in Surinam]. *Ned Tijdschr Geneeskd* 1996;140:1689-1692.
255. Babu PG, Ishida T, Nesadoss J, John TJ: Prevalence of HTLV-I/II antibodies in HIV seropositive and HIV seronegative STD patients in Vellore region in southern India. *Scand J Infect Dis* 1995;27:105-108.
256. Sobesky M, Couppie P, Pradinaud R, Godard MC, Alvarez F, Benoit B, Carne B, Lebeux P: [Coinfection with HIV and HTLV-I infection and survival in AIDS stage. French Guiana Study. GECVIG (Clinical HIV Study Group in Guiana)]. *Presse Med* 2000;29:413-416.
257. Gastaldello R, Iniguez AM, Otsuki K, Lamas G, Balangero M, Barbas MG, Mangano A, Sen L, Maturano E, Remondegui C, Vicente AC, Gallego S: HTLV type 1 genetic types among native descendants in Argentina. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2008;24:1139-1146.
258. The HTLV European Research Network. Seroepidemiology of the human T-cell leukaemia/lymphoma viruses in Europe. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1996;13:68-77.

259. Alcantara LC, Shindo N, Van Dooren S, Salemi M, Costa MC, Kashima S, Covas DT, Vandamme AM, Galvao-Castro B: Brazilian HTLV type 2a strains from intravenous drug users (IDUs) appear to have originated from two sources: Brazilian Amerindians and European/North American IDUs. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2003;19:519-523.
260. Murphy EL, Mahieux R, de The G, Tekai F, Ameti D, Horton J, Gessain A: Molecular epidemiology of HTLV-II among United States blood donors and intravenous drug users: an age-cohort effect for HTLV-II RFLP type aO. *Virology* 1998;242:425-434.
261. Salemi M, Van Dooren S, Audenaert E, Delaporte E, Goubau P, Desmyter J, Vandamme AM: Two new human T-lymphotropic virus type I phylogenetic subtypes in seroindeterminates, a Mbuti pygmy and a Gabonese, have closest relatives among African STLV-I strains. *Virology* 1998;246:277-287.
262. Switzer WM, Black FL, Pieniazek D, Biggar RJ, Lal RB, Heneine W: Endemicity and phylogeny of the human T cell lymphotropic virus type II subtype A from the Kayapo Indians of Brazil: evidence for limited regional dissemination. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1996;12:635-640.
263. Switzer WM, Pieniazek D, Swanson P, Samdal HH, Soriano V, Khabbaz RF, Kaplan JE, Lal RB, Heneine W: Phylogenetic relationship and geographic distribution of multiple human T-cell lymphotropic virus type II subtypes. *J Virol* 1995;69:621-632.
264. Dube S, Love JL, Dube DK, Leon-Ponte M, de Perez GE, Baroja ML, Bianco N, Poiesz BJ: The complete genomic sequence of an HTLV-II isolate from a Guahibo Indian from Venezuela. *Virology* 1999;253:181-192.
265. Duenas-Barajas E, Bernal JE, Vaught DR, Briceno I, Duran C, Yanagihara R, Gajdusek DC: Coexistence of human T-lymphotropic virus types I and II among the Wayuu Indians from the Guajira Region of Colombia. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1992;8:1851-1855.
266. Shindo N, Alcantara LC, Van Dooren S, Salemi M, Costa MC, Kashima S, Covas DT, Teva A, Pellegrini M, Brito I, Vandamme AM, Galvao-Castro B: Human retroviruses (HIV and HTLV) in Brazilian Indians: seroepidemiological study and molecular epidemiology of HTLV type 2 isolates. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2002;18:71-77.
267. Biglione M, Avila MM, Biglione J, Weisburd G, Libonatti O, Gessain A: [Molecular characterization of HTLV-II from an intravenous drug addict with AIDS in Argentina]. *Rev Argent Microbiol* 1996;28:139-142.
268. Vallejo A, Ferrante P, Soriano V, Calabro ML, Mancuso R, Heredia A, Mannella E, Favero A, Garcia-Saiz A, Chieco-Bianchi L, Gonzalez-Lahoz J, Hewlett IK: Nucleotide sequence and restriction fragment-length polymorphism analysis of human T-cell lymphotropic virus type II (HTLV-II) in southern Europe: evidence for the HTLV-IIa and HTLV-IIb subtypes. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1996;13:384-391.

## **PUBLICACIONES**

---

Parte de los resultados del trabajo desarrollado en esta tesis han sido publicados en los siguientes artículos:

- ✚ **Berini C**, Eirin ME, Pando MA, Biglione MM. *Human-T Lymphotropic Virus Types I and II (HTLV-I and II) infectiovn among seroindeterminate cases in different populations in Argentina. **Journal of Medical Virology**. 2007; 79(1):69-73. IF: 2.23. ISSN: 0146-6615.*
- ✚ **Berini CA**, Pando MA, Bautista CT, Eirin ME, Peralta LM, Weissenbacher M, Avila MM, Biglione MM. *HTLV-1/2 among high-risk groups in Argentina: Molecular diagnosis and prevalence of different sexual transmitted infections. **Journal of Medical Virology**. 2007;79(12):1914-20. IF: 2.23. ISSN: 0146-6615.*
- ✚ **Berini C**, Pascuccio S, Bautista C, Gendler S, Eirin ME, Rodriguez C, Pando MA, Salomon H, Biglione MM. *Comparison of four commercial screening assays for the diagnosis of Human T-cell Lymphotropic virus types 1 and 2. **Journal of Virological Methods**. 2008;147(2):322-7. IF: 2.097. ISSN: 0166-0934.*
- ✚ **Berini C**, Gendler S, Pascuccio S, Eirin ME, McFarland W, Page K, Carnevali L, Murphy E, Biglione M. *Decreasing trends in HTLV-1/2 but stable HIV-1 infection among replacement donors in Argentina. **Journal of Medical Virology**. En prensa. ISSN: 0146-6615.*