

# Prevalencia de HTLV-I/HTLV-II en donantes de Sangre de la Cruz Roja Hondureña, determinado por PCR

*Prevalence of HTLV-I and HTLV-II in Honduran Red Cross blood donors, determined by PCR*

Ivette Lorenzana de Rivera\*, Elizabeth Vinelli de Rivera†, Leda Parham Aceituno‡

**RESUMEN. INTRODUCCIÓN.** Se confirma la presencia de los Virus Linfotrópicos de Células T del Humano I y II (HTLV-I y HTLV-II) en donantes de sangre de Cruz Roja Hondureña (CRH) de Tegucigalpa y San Pedro Sula. Es evidente la importancia de la PCR como técnica molecular capaz de detectar y diferenciar infecciones producidas por HTLV-I y HTLV-II, permitiendo incluso la resolución de serologías indeterminadas. **MATERIAL Y MÉTODOS.** 34,484 donantes voluntarios fueron tamizados en CRH durante el período de 2000-2002. De éstos, 41 donantes resultaron repetidamente positivos en el tamizaje, confirmándolos serológicamente por Western Blot (WB) e identificando finalmente la infección por amplificación de secuencias específicas de la región *POL* de ambos virus con una PCR, cuya detección se realizó por sondas de ADN específicas en ensayos de hibridación colorimétricos. **DISCUSIÓN.** de 41 donantes seropositivos en el WB, 17% fueron HTLV-I y 51.2% HTLV-II; 5% indeterminados y 27% no reactivos. En la PCR, 17% resul-

taron HTLV-I positivos; 66% HTLV-II, 17% negativos. Dos muestras indeterminadas y cuatro muestras negativas por WB, resultaron HTLV-II positivas con la PCR-ADN. La sensibilidad y especificidad del WB obtenida en relación a la PCR fue de 87.5% y 100%, respectivamente. La prevalencia global de HTLV-I/II fue de 0.12% (IC95% 0.09%-0.16%) para la ELISA; 0.08% (IC95% 0.06%-0.12%) con el WB y 0.10% (IC95% 0.07%-0.14%) con la PCR. La prevalencia global de infección con ambos virus por PCR es de 0.14% en San Pedro Sula y 0.06% en Tegucigalpa ( $X^2 = 5.75$ ,  $p = 0.01$ ).

**Palabras clave:** *Reacción en Cadena de la Polimerasa. Virus 1 T Linfotrópico. Virus 2 T Linfotrópico.*

**ABSTRACT. INTRODUCTION.** It is confirmed the presence of the Human T Lymphotropic viruses type I and II (HTLV-I and HTLV-II) in blood donors from National Red Cross in Tegucigalpa and San Pedro Sula, once more is evident the importance of the molecular biology technique PCR (Polymerase Chain Reaction) as capable of detecting and differencing infection produced by HTLV-I and HTLV-II, allowing the resolution of undetermined serological reactions. **MATERIAL AND METHODS.** 34,484 voluntary blood donors were screened at the laboratory of the

\* Microbióloga con Maestría en Virología Clínica. Departamento de Microbiología Universidad Nacional Autónoma de Honduras.

† Médica. Medicina Transfusional. Programa Nacional de Sangre, Cruz Roja Hondureña.

‡ Microbióloga. Departamento de Microbiología Universidad Nacional Autónoma de Honduras.

Dirigir correspondencia a: ivette@multivisionhn.net

**National Red Cross during May 2000 to March 2002, from these 41 donors resulted repeatedly positive in the screening for antibodies for HTLV, the serological confirmation was done with the Western Blot (WB), finally identifying the DNA sequences by PCR of the specific viral region *POL* of both viruses, the detection was done using specific DNA probes in a colorimetric hybridization assays. DISCUSSION. from the 41 seropositive blood donors in the WB, 17% were reactive for HTLV-I and 51.2% HTLV-II; 5% undetermined and 27% non reactive. In the PCR test, 17% were HTLV-I positive, 66% HTLV-II, 17% negatives. Two undetermined samples and four negatives by WB, resulted positive for HTLV-II in the PCR. The sensitivity and specificity of the WB obtained by comparing with the PCR, was of 87.5% and 100% respectively. The global prevalence of HTLV I/II was 0.12% by ELISA (CI 95% 0.09-0.16%); 0.08% by WB (CI 95% 0.06-0.12%) and 0.10% by PCR. The global prevalence for both viruses is 0.14% in San Pedro Sula and 0.06% in Tegucigalpa ( $X^2= 5.75$ ,  $p=0.01$ ).**

**Keywords: Polymerase Chain Reaction. T Lymphotropic Virus 1. T Lymphotropic Virus 2.**

## INTRODUCCIÓN

El efecto adverso más serio asociado con la transfusión de sangre es la posibilidad de transmitir agentes infecciosos, dos de ellos, son los Virus Linfotrópicos de Células T del Humano tipo I (HTLV-I) y Tipo II (HTLV-II). HTLV-I es el agente etiológico de la Leucemia/Linfoma de Células T del Adulto (ATLL) y de la Paraparesia Espástica Tropical (PET/HAM).<sup>1</sup> El HTLV-II, que está estrechamente relacionado al HTLV-I fue en un principio aislado de una rara variante de Leucemia de Células Peludas y actualmente se le asocia en forma directa con un trastorno neurológico similar a la PET/HAM.<sup>2</sup> Además de la transfusión sanguínea, en donde han sido reportadas tasas de seroconversión de 44% a 63% en receptores sangre contaminada infectada con HTLV-I en áreas endémicas, ambos virus también son transmitidos por contacto sexual y por intercambio de agujas contaminadas<sup>3</sup> y de madre-hijo principalmente por leche materna,<sup>4</sup> estableciéndose por largos períodos de tiempo, en

forma asintomática.<sup>5</sup> HTLV-I y HTLV-II, se encuentran distribuidos en diferentes partes del mundo, las zonas de más alta prevalencia de HTLV-I son el sur oeste de Japón, África Ecuatorial, Islas del Caribe;<sup>6</sup> en América del Sur está presente con mayor frecuencia en regiones de Chile, Brasil y Colombia y en menor grado en Argentina.<sup>7,8</sup> HTLV-II es endémico en poblaciones indígenas del nuevo mundo en las que se incluyen tribus autóctonas de Panamá, Colombia, Argentina, Bolivia y otros países de América del Sur, también se ha observado con alta frecuencia en personas que utilizan drogas intravenosas en EUA y Europa.<sup>9</sup>

En Honduras, la presencia de HTLV-I fue reportada inicialmente en el año 1995 en estudios realizados durante 1989-1993 encontrándose una alta prevalencia (8%) en la población garífuna.<sup>10</sup> En 1997-1998 el mismo grupo de investigadores, reportan la presencia de ambos virus en poblaciones vulnerables de Tegucigalpa (trabajadoras comerciales de sexo y hombres que tienen sexo con hombres) con una seroprevalencia global de 4.3%, constituyéndose este el primer reporte de infección con el HTLV-II.<sup>11</sup>

Debido a que la transfusión sanguínea es una de las formas más eficientes de infección, recientemente fue establecido solamente a nivel de los bancos de sangre de Cruz Roja Hondureña, el tamizaje serológico de los donantes en un intento por determinar la prevalencia de estos virus y con el fin último de disminuir el riesgo de transmisión por esta vía. La forma rutinaria de detectar la infección es por medio de pruebas serológicas,<sup>12</sup> que generalmente no discriminan entre las infecciones por estos dos virus, siendo necesario hacer uso de pruebas moleculares como la Reacción en Cadena de la Polimerasa o PCR que identifica al ácido nucleico viral, determinando específicamente de esta manera si es HTLV-I o HTLV-II permitiendo así proveer consejería adecuada al donante para prevenir transmisiones futuras y apoyar al control médico correspondiente.<sup>13</sup>

El uso de dichas pruebas moleculares, resultan especialmente necesarias en aquellos casos en que se presenta una serología indeterminada<sup>14</sup> la cual es el mayor problema en el tamizaje de la sangre, por la incertidumbre de estos casos y la manera de proceder con el donante.

Ante la necesidad de implementar técnicas de laboratorio en Honduras que permitan obtener un diagnóstico certero de las infecciones producidas por estos virus, en el presente estudio se propuso la estandarización e implementación de la técnica PCR-ADN que permitiera la identificación específica del agente causal para así poder conocer la prevalencia real de estos virus en la población de estudio, lo cual subsiguientemente serviría para el establecimiento de los lineamientos (algoritmos) de diagnóstico y confirmación de estas infecciones a nivel de los bancos de sangre nacionales.

## POBLACIÓN Y MÉTODOS

**Población estudiada:** de los 34,484 donantes voluntarios tamizados en la CRH de las ciudades de Tegucigalpa y San Pedro Sula en el período de mayo del 2000 a marzo del 2002, resultaron cuarenta y un donantes repetidamente seropositivos.

**Colección de las muestras:** De los donantes voluntarios de la CRH que resultaron repetidamente positivos en la prueba de tamizaje ELISA HTLV-I/II (Murex®-ABBOTT Laboratorios) fue remitida a la sección de virología del Dpto. de Microbiología UNAH, una muestra de 7 ml de sangre total y 5 ml de plasma de las unidades correspondientes. A partir del plasma se realizó la prueba Western Blot (GENELABS®-ABBOTT) y a partir de la sangre total se llevó a cabo la extracción del ADN genómico con un kit comercial (IsoQuick® ORCA Research, Fisher), para su posterior análisis por medio de la PCR-ADN.

**Ensayo serológico:** los anticuerpos contra HTLV-I y HTLV-II en el plasma fueron detectados por medio del ensayo comercial de Western Blot HTLV BLOT 2.4 (GENELABS® DIAGNOSTIC. ABBOTT Laboratorios) el cual incorpora una proteína recombinante específica de la envoltura de HTLV-I: rgp-46-I; una proteína recombinante específica de la envoltura de HTLV-II: rgp-46-II, por medio de las cuales se lleva a cabo la diferenciación de los dos virus y la GD21 un epítipo común recombinante de la proteína de envoltura de ambos virus.

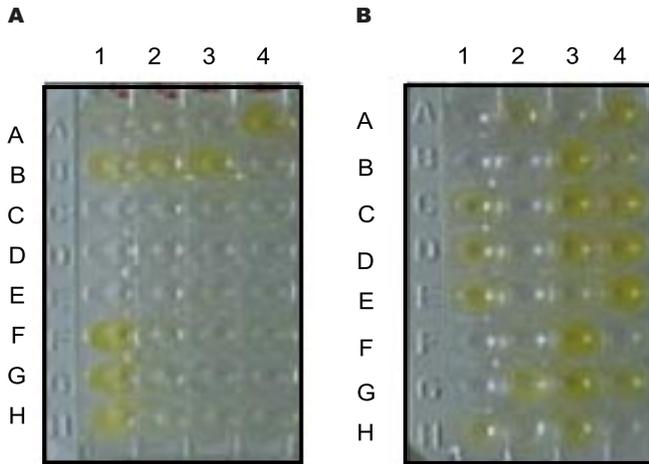
**Amplificación del ADN o PCR:** una vez extraído el ADN genómico a partir de la muestra de sangre total se

procedió a la amplificación de la región *POL*, en el segmento que se encuentra entre los nucleótidos 4825 al 4902 de ambos virus, esto se llevó a cabo en un termociclador automático (MJ Research, Inc.), utilizando los iniciadores o *primers*: SK-110 y SK-111 en una reacción de 35 ciclos que comprenden la desnaturalización del ADN a 94°C por 30 segundos, seguido de la hibridación a 53°C por 30 segundos y extensión a 68°C por 30 segundos, con un paso final de extensión a 72°C por 10 minutos. Además se amplificó el gen de la  $\beta$ -globina humana haciendo uso de los iniciadores específicos Fluo-GH20 y KM-38 con el fin de determinar la integridad del ADN analizado y la eficiencia de la amplificación.<sup>14</sup>

**Análisis de los productos de PCR:** los productos amplificados con los iniciadores específicos para HTLV-I y HTLV-II fueron detectados por medio de dos ensayos de hibridación colorimétricos de ácidos nucleicos en microplaca: GENE-detective HTLV-I *POL* EOA (ZeptoMetrix Corporation, EUA) que detecta en forma específica las de secuencias de ADN de HTLV-I entre los nucleótidos 4825 y 4902 en el genoma de HTLV, por medio de la mezcla del ADN que contiene la región blanco del gen *POL* con la sonda específica SK-112 para esta región marcada con una enzima (Figura No. 1A); y GENE-detective HTLV-II *POL* EOA (Zepto Metrix Corporation, EUA) que detecta las secuencias específicas de HTLV-II entre los nucleótidos 4,848 y 4,898 de la región *POL* en el genoma de HTLV, por medio de la sonda específica SK-188 marcada con una enzima y revelado con un sustrato específico y con la posterior medición de color en el lector de absorbancias (Figura No. 1B). Para la detección de los productos amplificados del gen de la  $\beta$ -globina humana se corrió una electroforesis en gel de agarosa al 1.5%, siendo visualizados con bromuro de etidio los fragmentos de tamaño de 350 pb.

## RESULTADOS

La prevalencia global de infección con HTLV-I/II en el período comprendido entre mayo del año 2000 hasta marzo del año 2002, fue de 0.12% (IC95% 0.09%-0.16%) para la ELISA; con el WB 0.08% (IC95% 0.06%-0.12%) con el WB y con la PCR-ADN 0.10% (IC 95% 0.07%-0.14%) (Cuadro No. 1).



**Figura No. 1.** Microplacas de reacción para análisis de los productos amplificados para HTLV-I (A) y HTLV-II (B) utilizando la prueba Gene-detective HTLV-I (A) y HTLV-II (B). **A.** Los pocitos 1B, 1C corresponden al control positivo y negativo de la PCR; 1D, 1E son los controles negativos y 1F, 1G, 1H son los controles positivos del ensayo EOA; las columnas 2, 3 y 4 corresponden a muestras de donantes. **B.** Los pocitos 1B, 1H corresponden al control negativo y positivo de la PCR; 1C, 1D, 1E son los controles positivos y 1F, 1G son los controles negativos del ensayo EOA; las columnas 2,3,4 corresponden a muestras de donantes analizados.

(Fotografías tomadas el 2 de abril del 2002, en la Sección de Virología del Dpto. de Microbiología, UNAH).

**Cuadro No. 1.** Prevalencia de infección por HTLV-I/II, en donantes de CRH, durante mayo 2000 a marzo 2002, n = 41

Total donantes Tamizados CRH	ELISA	WESTERN BLOT	PCR-ADN
34,484	0.12%	0.08%	0.10%
	I.C.95% (0.09-0.16%)	I.C. 95% (0.06-0.12%)	I.C. 95% (0.07-0.14%)

De los 41 donantes analizados, con el ensayo WB se obtuvo un 17% de reacciones contra HTLV-I y 51.2% HTLV-II; 5% indeterminados y 27% negativos. En la PCR-ADN, 17% resultaron positivos para HTLV-I; 66% HTLV-II y el 17% restante negativos. Dos muestras indeterminadas y cuatro muestras negativas por WB, resultaron positivas para HTLV-II con la PCR-ADN (Cuadro No. 2). La sensibilidad y especificidad del WB obtenida en relación a la PCR-ADN fue de 87.5% y 100% respectivamente.

**Cuadro No. 2.** Prevalencia de HTLV-I/II en donantes seropositivos de CRH durante mayo del 2000 a marzo del 2002, n = 41

DETECCIÓN	WESTERN BLOT		PCR-ADN	
	No.	%	No.	%
HTLV-I	7	17	7	17
HTLV-II	21	51	27	66
INDETERMINADO	2	5	0	0
NEGATIVO	11	27	7	17
TOTAL	41	100	41	100

La prevalencia global de infección en la ciudad de San Pedro Sula fue de 0,14% y en la ciudad de Tegucigalpa 0,06% ( $X^2 = 5.75$ ,  $p = 0,01$ ) (Cuadro No. 3).

La frecuencia de bandas reactivas en los 30 donantes con resultado positivo o indeterminado en el ensayo WB se presentan en el Figura No. 2.

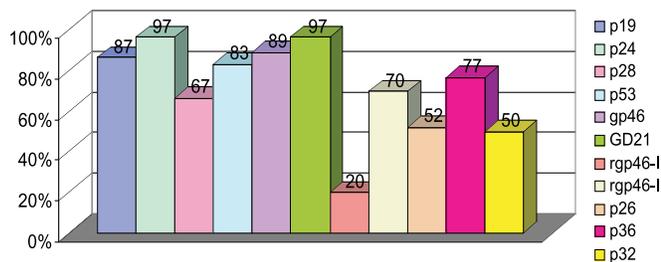
**Cuadro No. 3.** Prevalencia de HTLV-I/II por PCR-ADN en donantes de CRH según el área geográfica<sup>a</sup>

n = 34				
CIUDAD	DONANTES TAMIZADOS	HTLV-I	HTLV-II	PREVALENCIA %
Tegucigalpa	8,661	1	11	0.06
San Pedro Sula	15,823	6	16	0.14
Nacional	34,484	7	27	0.10

$\chi^2 = 5,75$ ,  $p = 0,01$

<sup>a</sup> Prevalencia durante mayo 2000 – marzo 2002

que existe entre ambos virus,<sup>16</sup> siendo necesario utilizar otras pruebas tales como el Western Blot (WB), considerado ensayo confirmatorio y de tipificación, con el inconveniente que proporciona un porcentaje de resultados indeterminados,<sup>17</sup> los cuales representan un gran problema por la incertidumbre en cuanto a que tipo de infección se trata, afectando la correspondiente consejería al donante y su posterior manejo médico, siendo necesaria la confirmación de la misma.

**Figura No. 2.** Perfil de bandas presentes en Western Blot, de muestras positivas<sup>a</sup> e indeterminadas<sup>b</sup> n = 30.

<sup>a</sup> 28 muestras positivas

<sup>b</sup> muestras indeterminadas (sin p24 ni GD21)

En el Cuadro No. 1 se presenta la tasa de prevalencia de infecciones por HTLV-I/II en los donantes estudiados, la que varía dependiendo de la prueba que se emplee para tomar el criterio de positividad: en el caso de la ELISA la prevalencia es de 0.12% debido a que en la detección de anticuerpos algunos de los resultados son falsos positivos (17%); esta disminuye en el WB a 0.08% por presentar un porcentaje de resultados indeterminados y falsos negativos que finalmente logran ser dilucidados por PCR-ADN para una prevalencia real de 0.10%. En general la prevalencia global obtenida es similar a la prevalencia del Virus de Hepatitis C (0.13%) en la misma población para el año 2001 (0.13%) (Ref. 18).

## DISCUSIÓN

Una de las formas más eficientes de transmisión de estos virus es por medio de las transfusiones sanguíneas<sup>15</sup> por lo que se considera prioritario eliminar este mecanismo de infección con medidas de tamizaje de la sangre donada, debido a que el interrogatorio que se realiza de manera rutinaria a los donantes en los bancos de sangre no permite hacer una exclusión en su totalidad, por esta razón recientemente se establece realizar pruebas serológicas de HTLV-I/II en el Programa Nacional de Sangre de Cruz Roja Hondureña con la limitante que estas pruebas de tamizaje no discriminan entre infecciones causadas por cualquiera de ellos, debido a la amplia reacción cruzada

El Cuadro No. 2 contiene los resultados obtenidos en el análisis de las 41 muestras de donantes, en donde el 17% resultaron positivas por HTLV-I y 66% por HTLV-II, por medio de la PCR-ADN, incluso dos muestras que por WB resultaron indeterminadas, con la PCR-ADN fueron dilucidadas a HTLV-II. 17% de resultados falsos positivos en la ELISA fueron definidos a negativos por PCR-ADN. Aún más 4 muestras con resultado negativo en el WB, al analizarlas con la PCR-ADN resultan positivas para HTLV-II. Podemos entonces concluir que el WB a pesar de poseer 100% de especificidad, proporciona resultados indeterminados (5%) y carece de sensibilidad (87.5%) puesto que algunas reacciones positivas en la ELISA, son negativas en WB y al hacer la PCR-ADN resultan en efecto ser positivas.

Se observa en general mayor frecuencia de infecciones por HTLV-II (66%), en los donantes estudiados, este virus todavía no ha sido claramente asociado a enfermedad sin embargo ya se había propuesto su posible asociación con patologías hematológicas y neurológicas, recientemente fue obtenido el primer hallazgo de asociación serológica y molecular del HTLV-II con una neuropatología que presenta síntomas muy similares a la PET/HAM,<sup>19</sup> por lo cual la prevalencia encontrada en los donantes estudiados es relevante. Existe una prevalencia importante de infecciones por HTLV-I (17%) en esta población, tomado en cuenta que es éste el virus que está claramente asociado con serias patologías las cuales tienen un mal pronóstico y que no se dispone de tratamiento antirretroviral eficaz.<sup>20</sup> Ambos virus son potencialmente oncogénicos,<sup>21</sup> y obviamente son de presencia indeseable en las unidades de sangre ha ser transfundidas.

Según la zona geográfica, se observa que en el norte del país se presentan más altas tasas de prevalencia para ambos virus, 0.14% en San Pedro Sula versus 0.06% en Tegucigalpa y por medio de las pruebas estadísticas aplicadas se confirma que existe diferencia significativa ( $X^2 = 5.75$ ,  $p = 0.01$ ) entre las prevalencias encontradas en ambas regiones. Estos resultados son hasta cierto punto esperados por la cercanía a los zonas consideradas endémicas para el HTLV-I reportadas en estudios anteriormente realizados en el país,<sup>10</sup> sin embargo de acuerdo a lo que estamos reportando puede observarse que dicha infección se está extendiendo a otros sitios entre ellos hacia la ciudad capital (Cuadro No. 3).

En cuanto al WB, las bandas de aparición mas frecuentes en las 30 muestras con resultado positivo e indeterminado fueron GD21 y p24 que aparecieron en el 97% de las muestras, 3% restante corresponde a las muestras que no presentaron dichas bandas, por lo que obtuvieron un resultado "indeterminado", las dos proteínas son consideradas sumamente importantes para el establecimiento del criterio de positividad en la prueba, al igual que la proteína p19 que se presentó en la mayoría de las muestras analizadas (87%). La banda correspondiente a la rgp 46-II se presentó en el mayor número de muestras (70%) a diferencia de la rgp 46-I (20%), lo que indica que es

mayor el porcentaje de HTLV-II que el de HTLV-I debido a que estas dos glicoproteínas son las que permiten la diferenciación de los dos virus (Figura No. 2).

Se hace evidente que la prueba molecular, PCR, es mucho más sensible y específica en relación a los ensayos serológicos, por lo que es considerada la prueba óptima de confirmación y diferenciación de la infecciones causadas por HTLV-I y HTLV-II, quedando demostrado en el presente estudio la importancia de la PCR como prueba de detección final de la infección e identificación específica de su agente causal, además se confirma serológica y molecularmente la presencia de HTLV-I y HTLV-II en donantes de la Cruz Roja Hondureña de Tegucigalpa y San Pedro Sula, constituyendo la primera evidencia de la circulación de ambos virus en el grupo poblacional estudiado y del potencial de transmisión de estos por medio de la transfusiones de sangre.

#### REFERENCIAS

1. Gessain A. Origine et diversité génétique des HTLV-I/STLV-I: des singes aux homes. *Virologie* 1999; 3(5): 403-417.
2. Mancall L, ed, HTLV-I-Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis (HAM/TSP). *CONTINUUM Lifelong learning in neurology* 2001; 7(3), Part A:172-189.
3. CDC and the USPHS Working Group. Guidelines for Counseling Persons Infected With Human T-Lymphotropic Virus Type I (HTLV-I) and Type II (HTLV-II). *Ann Intern Med* 1993; 118(6):448-454.
4. Ades A. Human T cell leukaemia/lymphoma virus infection in pregnant women in the United Kingdom: population study. *BMJ* 2000; 320:1497-1501.
5. Hollenberg P, Hafler D. Pathogenesis of Diseases Induced by Human Lymphotropic Virus Type I Infection. *N Engl J Med* 1993; 328(16):1179-1182.
6. Brooks GF, Butel JS, Ornston LN. *Microbiología Médica de Jawetz, Melnick y Adelberg*: 15.a ed. México, DF: El Manual Moderno; 1996. Cap 67.
7. Gallego S, Maturano E, Recalde A, Gastealdello R, Sileoni S, Beeper H, et al. Seroprevalencia de HTLV-I/II y factores de riesgo asociados a la infección en la población de donantes de sangre de Córdoba, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología* 2001;33(3).
8. Medeot S, Nates S, Recalde A, Gallego S, Maturano E, Giordano M, et al. Prevalence of Antibody to Human T Cell Lymphotropic Virus Types 1/2 Among Aboriginal Groups Inhabiting Northern Argentina and the Amazon Region of Peru. *Am J Trop Med Hyg* 1999; 60(4):623-629.

9. Feigebaum F, Fang C, Sandler SG. Human T-Lymphotropic Virus Type II in Panamanian Guaymi. *Tnsfusión* 1994; 34 (2):158-160.
10. Lorenzana de Rivera I, Amador L, Mourra S, Zhiliang L, Rasheed S. Geographical Clustering of Human T-Cell Lymphotropic Virus Type 1 Infection in Honduras. *J Clin Microbiol* 1995;33:2999-3003.
11. Lorenzana de Rivera I, Castro M, Bonilla, E. Frecuencia de Infección con el Virus Linfotrópico Humano Tipo I y II en la Población de Tegucigalpa Honduras. *Ciencia y tecnología* 2001; (7):1-9.
12. Vandamme A-M, Van Laethem K, Liu H-F, Van Brussel M, Delaporte E, de Castro Costa M, *et al.* Use of a Generic Polymerase Chain Reaction Assay Detection 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.
13. Peter JB. Use and Interpretation of tests in Infectious Disease. 4.aed. USA: Specialty Laboratories, 1996. pp.144-151.
14. White TJ, Madej R, Persingt DH. The Polimerase Chain Reaction: Clinical Applications. *Advances in Clinical Chemistry* 1992, 29. pp.162-191.
15. Cortés Buevas A, Beltrán M, Gallego GH, Isaza LM. Estudio prospectivo seroepidemiológico de infección por el virus linfotrópico humano I y II (HTLV-I/II) en donantes de sangre de áreas colombianas endémicas y no endémicas *Colombia Med* 1999, 30:19-25.
16. Leland, DS. *Clinical Virology: 1.aed.* Philadelphia, Pennsylvania: SAUNDERS COMPANY; 1996. pp.169-172.
17. Segurado A, Malaque C, Sumita L, Pannuti C, Lal R. Laboratory characterization of human T cell lymphotropic virus types 1 (HTLV-1) and 2 (HTLV-2) infections in blood donors from Sao Paulo, Brazil *Am J Trop Med Hyg* 1997; 57(2):142-148.
18. Programa Nacional de Sangre-Cruz Roja Hondureña. *Informe Anual de Serología de Donantes; 2001.*
19. Silva E, Otsuki K, Leite B A, Alamy A, Sá-Carvalho D, Vicente P A. HTLV-II Infection Associated with a Chronic neurodegenerative Disease: Clinical and Molecular Analysis. *J. Med.Virol.* 2002; 66:253-257.
20. Benenson AS, ed. *Manual para el control de las enfermedades transmisibles.* 16.aed. Washington, DC: OPS; 1997. (Publicación científica 564). pp.325-333.
21. Levine, AJ. *Viruses.* New York: Scientific American; 1992. pp.131-155.

---

---

EN LA TIERRA, LA VIDA SE INICIA DONDE COMIENZA A  
GERMINAR AQUELLA SEMILLA QUE TENDRÁ SU FIN.  
Y LA VIDA COMIENZA A MORIR CON EL INICIO DE LA VIDA MISMA...

*EL SECRETO DE LA VIDA*  
*DR. TRISTÁN MARTÍNEZ C.*