

11227
37
2º ej.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

FACULTAD DE MEDICINA

HOSPITAL GENERAL DR. FERNANDO QUIROZ GUTIERREZ

ISSSTE

DETECCION DE ANTICUERPOS PARA EL VIRUS
LINFOTROPO DE CELULAS T DEL HUMANO TIPO
(HTLV-I) EN DONADORES DE SANGRE

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
ESPECIALISTA EN MEDICINA INTERNA
P R E S E N T A :

DRA. MARIA MAGDALENA HERRERA CHAVEZ



ISSSTE

MEXICO, D. F.

1981



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

	Pag
1.- OBJETIVOS.....	1
2.- JUSTIFICACION.....	2
3.- INTRODUCCION.....	3
4.- ANTECEDENTES.....	6
5.- MATERIAL Y METODO.....	24
6.- RESULTADOS.....	28
7.- COMENTARIOS Y CONCLUSIONES.....	32
8.- BIBLIOGRAFIA.....	34

DETECCION DE ANTICUERPOS PARA EL HTLV-I EN DONADORES

OBJETIVOS GENERALES :

- 1.- Detectar anticuerpos para HTLV-I, en la población donadora de sangre, altruistas y familiares que acuden al banco de sangre del Hospital General Dr. Fernando Quiroz Gutierrez, del ISSSTE.
- 2.- Evitar la transfusión de sangre contaminada con HTLV-I
- 3.- Contribuir a evitar la infección por el virus linfotrópico de células T del adulto tipo 1.
- 4.- Conocer las características demográficas de la población donadora del banco de sangre del hospital
- 5.- Despertar el interés y motivar a la población médica para el conocimiento de este retrovirus humano

JUSTIFICACION

Consideramos que un trabajo como éste, nos permitirá conocer la incidencia de seropositividad para el virus linfotrópico de células T del humano tipo 1 (HTLV-I), específicamente en la población de donadores de sangre del Hospital Dr. Fernando Quiroz, sirviendo como un estudio preliminar para posteriormente continuar en forma rutinaria la búsqueda de anticuerpos contra éste retrovirus en toda la sangre que deba ser transfundida, evitando de esa manera las consecuencias de la infección por el HTLV-I, en los receptores de sangre.

INTRODUCCION

La retrovirología humana es un campo relativamente joven, aún cuando la búsqueda de los retrovirus como patógenos humanos data de la primera asociación de este tipo de virus con cánceres animales, en los inicios de este siglo. (1) . En la década de 1950, se aislaron los primeros retrovirus de mamíferos en ratones leucémicos e inicialmente fueron descritos como agentes etiológicos de algunas leucemias y sarcomas de pollos. Desde entonces se han identificado como la causa de muchos otros padecimientos en una amplia variedad de animales. (2,3).

Los retrovirus humanos se caracterizan por poseer tropismo por un sitio de los linfocitos T cooperadores OKT4. Debido a esta especificidad por éstas células blanco, estos virus se denominan virus lintotropicos T humanos (HTLV), destruyendo el sistema inmune del individuo infectado. Dependiendo del subgrupo del virus, pueden inducir proliferación anormal o funcionalidad anormal de los linfocitos T cooperadores, produciendo leucemia o bien depresión del mismo tipo de células blanco causando inmunodepresión. Esta diferencia no esta claramente entendida ya que el virus de la leucemia (HTLV-1) puede causar también inmunodepresión e infecciones oportunistas y es posible que el virus de la inmunodepresión (HTLV-III) pueda causar leucemia una vez que sus propiedades citopáticas sean bloqueadas. (1).

CLASIFICACION Y NOMENCLATURA

Los retrovirus se clasifican en: endógenos y exógenos. Los endógenos se transmiten de padres a hijos a través de las células germinales, no provocan enfermedad alguna y parecen participar en las funciones normales de las células.

Los retrovirus exógenos se transmiten de humano a humano, por contacto sexual o por la sangre y sus componentes celulares. No se conoce su reservorio natural.

Se componen de tres subfamilias:

A) ONCOVIRUS

Oncogénicos o productores de cáncer; que incluyen al HTLV-I y HTLV-II; producen leucemia de células T y un tipo de leucemias de células peludas o reticuloendoteliosis leucémica.

B) LENTIVIRUS

Son responsables de padecimientos neurológicos, músculo esqueléticos, hematológicos y respiratorios en mamíferos, que se manifiestan después de largos períodos de incubación (de ahí su nombre) e incluyen al HTLV-III, también llamado LAV o HIV (HIV-1 y HIV-2), virus que produce el síndrome de inmunodeficiencia adquirida.

C) SPUMAVIRUS: Incluyen algunos virus de bovinos, felinos, simios y humanos que persisten en sus huéspedes sin producir patología alguna.

(3,4)

CRONOLOGIA

En 1978, se logró aislar el primer retrovirus humano responsable de una enfermedad humana: un tipo poco frecuente de leucemia de células T.

Fué reportado por vez primera en 1980, denominándosele virus linfotrópico de células T del humano tipo I (HTLV-1) y es el agente causal de la leucemia de células T de adultos (ATL) común en ciertos lugares del mundo. Posteriormente se aisló en 1982 un virus distinto aunque relacionado al virus HTLV-1, de una persona con otro tipo de

leucemia llamada leucemia de células peludas o retículoendoteliosis leucémica, denominándosele HTLV-II.

El virus de inmunodeficiencia humana (HIV), inicialmente virus linfadenopático (LAV), HTLV-III, fué el tercer tipo de retrovirus aislado en pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida en 1983-4.

Por otra parte en 1985 Essex y Kanki, aislaron en el mono verde africano, en una zona que incluye gran parte del Africa occidental, un virus emparentado con el HIV, denominándolo virus linfotrópico T de simios tipo III (STLV-III). Los monos de los que se aisló no presentaban ninguna patología.

Posteriormente se descubrió otro virus muy relacionado, que producía un cuadro muy parecido al síndrome de inmunodeficiencia adquirida en macacos en cautiverio, denominándosele STLV-III MAC.

En 1986, Kanki y colaboradores aislaron en Africa occidental : el virus linfotrópico de células T humano tipo IV (HTLV-IV); emparentado con el STLV-III, pero en sujetos humanos sanos. En esta misma región africana un grupo francés del Instituto Pasteur, descubrió otro virus muy parecido al HTLV-IV pero que sí producía deficiencia inmunológica, denominándolo LAV-2 (HIV-2).

Por último un grupo de investigadores suecos, en 1987, aisló otro virus productor de inmunodeficiencia humana, también hallado en Africa Occidental, a éste virus se le denominó SBL-6669.

ANTECEDENTES

El retrovirus humano HTLV-I, fué el primer virus de esta familia descubierto en 1978 y reportado por primera vez en 1980, el cual se obtuvo a partir de dos casos esporádicos de cánceres de células T en negros norteamericanos, y los primeros grupos de ésta enfermedad se descubrieron en negros nacidos en el Caribe y en japoneses.

Este virus ahora designado como HTLV-I, es el prototipo de más de cien aislamientos del mismo virus obtenido de muchas partes del mundo.

Próximo al descubrimiento del virus, el logro más importante fué el de ligar al virus como etiología de una enfermedad humana. Este enlace no fué aparente en los estudios epidemiológicos iniciales del suero de pacientes negros norteamericanos, puesto que solo algunas de estas muestras fueron positivas. Sin embargo avances en purificación de proteínas virales, preparaciones de anticuerpos hiperinmunes y monoclonales, así como pruebas de ácidos nucleicos, pronto fueron reportadas.

En 1980 se tuvo conciencia de una enfermedad llamada leucemia de células T del adulto (ATL), primero descubierta en Japón por Takatsuki y colaboradores, encontrándose en distintas partes del sureste de Japón. Examinando sueros provistos por Y. Ito, N. Nakao, T. Aoki y sus colaboradores encontraron que casi el 100% de las muestras séricas de pacientes con leucemia de células T del adulto fueron seropositivas al HTLV-I.

En aquélla ocasión, el "virus japonés" llamado ATLVI, no había sido caracterizado en detalle, pero estudios subsecuentes demostraron que el ATLVI y el HTLV-I éran idénticos y predominantemente asociados con una entidad clínica tipificada como leucemia de células T del adulto.

El primer aislamiento independiente del virus linfotrópico humano de células T tipo I (HTLV-I) fué obtenido por Yoshida y colaboradores.

Otras áreas endémicas pronto fueron descubiertas en muchas partes del mundo, incluyendo las islas del Caribe, el sureste de Estados Unidos, partes de América del Sur como Colombia; Trinidad Tobago y muchas partes de Africa . El virus es también endémico en Europa en poblaciones emigrantes de esas áreas como es la población del Surinam en Holanda, la población del Este de India en Inglaterra y judíos etíopes en Israel.

Un virus designado como virus linfotrópico de células T del simio tipo I (STLV-I) ha sido identificado en algunos cambios del viejo mundo y es particularmente prevalente, en cambios verdes de Africa. El STLV-I, está también asociado con linfomas malignos. Basado sobre éstas y otras observaciones se postuló que el HTLV-I originado en Africa fué llevado a otras áreas del mundo, ahora endémicas de éste virus por el comercio de esclavos en el siglo XVI.

Los resultados epidemiológicos, los hallazgos encontrados en cambios africanos, la transformación *in vitro* de células T primarias y en forma más importante las propiedades moleculares del virus, llevan a la conclusión que el HTLV-I, es causa primaria de un cáncer humano.

Las conclusiones relativas a estudios de biología molecular, apoyan éstas afirmaciones por los siguientes hechos: (1) Todas las células de leucemia de células T contienen el virus HTLV-1 en forma de provirus, mientras que las células normales no lo contienen; (2) el provirus es clonal, indicando que la infección fué antes de la primera transformación y no más tarde como un virus pasajero; (3) los sitios de integración viral aunque el mismo en cada célula tumoral, varía de un paciente a otro. (1,2,3,4,7,8,9,10).

Este retrovirus está cubierto, surge de membranas celulares y contiene una estructura central. El *sine quan non* de todos los retrovirus es la polimerasa DNA, conocida como transcriptasa inversa, que se encuentra en un complejo con el RNA en el núcleo viral y cataliza la transcripción del genoma RNA a una forma de DNA (el provirus).

La forma DNA suele emigrar del citoplasma al núcleo y posteriormente se convierte en una forma circular de doble cadena y se integra al DNA de la célula huésped donde los genes virales podrán permanecer durante toda la vida de la célula,

Como el provirus se duplica con el DNA de la célula durante la fase S del ciclo celular, los genes virales son transmitidos a las células hijas. Por lo tanto la infección de un organismo, por lo general, dura toda la vida.

Cuando el provirus se expresa, el RNA y las proteínas virales se encuentran en el citoplasma de la célula y se ensamblan en la membrana celular, donde forman yemas que liberan virus, completando el ciclo vital del virus.

A veces hay deleciones del provirus y esto puede ir seguido de la adquisición de secuencias celulares del huésped, por elaboración normal o anormal de RNA. En consecuencia, el virus formado con estas secuencias de nucleótidos, recién adquiridos, logran algunas propiedades diferentes de las del virus original.

Las características del genoma retroviral rigen el mecanismo molecular por virtud del cual éstos virus alteran la célula.

De los genes del retrovirus HTLV-I solo cuatro son esenciales para la replicación viral, y son los siguientes:

gag : (Antígenos de nucleocápside grupo específicos).

Codifica las proteínas estructurales internas, que son tres : (p15), p19), (p24) , con pesos moleculares de 15000, 19000 y 24000 daltons respectivamente.

pol : (Polimerasa de DNA).

Codifica la transcriptasa inversa (reversa).

env : (Envoltura).

Codifica la síntesis de las glicoproteínas de la membrana de la envoltura viral. (gp21) y (gp46) con pesos moleculares de 21000 y 46000 daltons.

tat : (Transactivador)

Codifica un transactivador de proteínas de 40000 daltons (px40).

Las propiedades de la cubierta o envoltura del virus influyen de manera importante en el tipo de célula que el virus es capaz de infectar, y la producción de anticuerpos contra la cubierta, es una de las características esenciales que se buscan para la producción de una vacuna.

Los genes virales tienen en cada extremo, secuencias de nucleótidos llamadas repeticiones largas (LTR), donde están los elementos reguladores, que influyen en la expresión de los genes virales y a veces de genes celulares próximos.

Los LTR contienen las señales que establecen la integración proviral en el DNA de la célula huésped y forman las partes terminales de la secuencia proviral integrada.

El virus de la leucemia de células T del adulto, se replica ampliamente en el huésped antes de inducir leucemia. Hay datos que indican que la leucemia se produce por integración del virus a una región específica de un cromosoma, de modo que las repeticiones terminales largas, favorecen la expresión continua de un gen celular, que participa en el crecimiento celular y se considera el primer paso en la inducción de la leucemia, que ocasiona éste virus. (1,2,3,4,5,10).

Una de las propiedades más distintivas de los virus linfotrópicos humanos de células T, es su capacidad para reproducir *in vitro*, algunas de sus propiedades biológicas *in vivo*.

Estas propiedades incluyen immortalización y transformación de los linfocitos T normales por el HTLV-I y HTLV-II y células asesinas por el HTLV-III. Los linfocitos normales obtenidos de cordones sanguíneos, médula ósea o sangre periférica crecen transitoriamente en presencia de interleucina 2 (IL-2), después de la activación con fitohemaglutinina la cual induce la síntesis de receptores de interleucina 2. Sin embargo

éstos linfocitos generalmente entran en un período de "crisis" entre 30 y 40 días, cuando el crecimiento declina o termina.

Cuando los linfocitos T son infectados con el HTLV-I, algunas de las células crecen indefinidamente. Una notable y consistente diferencia entre las células de la leucemia de células T del adulto, positivas al HTLV-I y las células normales OKT4, es la constante expresión de receptores para la interleucina 2 por las células de la leucemia de células T del adulto.

Además los receptores de la interleucina 2 de éstas células leucémicas virales, no pueden ser regulados y suelen ser abundantes. Al igual que las células primarias de la leucemia de células T del adulto, las líneas de células T inmortalizadas *in vitro* por la infección con el HTLV-I son predominantemente OKT4 (aunque ocasionalmente han sido establecidas también líneas celulares de linfocitos OKT8); tienen independencia parcial o completa de interleucina 2 exógena; expresan altos niveles de receptores de interleucina 2, transfiriendo el receptor y frecuentemente muestran núcleos lobulados y células gigantes multinucleadas. La mayoría de las células T infectadas por HTLV-I no llegan a transformarse, pero la infección puede impedir su función inmunológica. Esto puede explicar la observación de que los linfocitos OKT4, de la leucemia de células T del adulto, obtenidas directamente de pacientes, no tienen actividad "ayudadora" y también se pueden explicar el porqué los individuos infectados con HTLV-I están propensos a adquirir infecciones oportunistas.

Además, las células OKT4 infectadas por HTLV-I, puede causar activación policlonal de células B y selectivamente destruir ciertas células T citotóxicas. Todas éstas propiedades del HTLV-I son manifestaciones limitadas de la más profunda inmunosupresión y propiedades citopáticas del HTLV-III

Por lo tanto, se puede decir que el HTLV-I induce la producción de tumores por varios mecanismos, incluyendo alteraciones de los procesos de regulación celular, sobreproducción de receptores para

linfocinas, tipo interleucina 2, estimulación antigénica crónica, o por una combinación de todos estos factores. (1,2,3,4,6,7).

La interacción del virus-célula huésped se puede resumir de la siguiente manera:

- 1) **Reconocimiento:** El virus HTLV-I, reconoce a la célula blanco (linfocitos T) a través de la glicoproteína viral.
- 2) **Adherencia:** El HTLV-1 se adhiere a la membrana de la célula en una unión receptor- ligando .
- 3) **Entrada:** Una vez adherido el virus, penetra por un crecimiento de endocitosis mediada por receptores, al interior de la célula huésped.
- 4) **Activación de la enzima Transcriptasa Inversa:** La enzima se activa y transcribe la información de su RNA en DNA de doble cadena.
- 5) **Integración del DNA viral :** El DNA viral se integra al genoma de la célula huésped, quedando entonces como provirus. Este provirus puede permanecer latente por mucho tiempo.
- 6) **Transcripción y Traducción del DNA viral :** El DNA viral es transcrito por la maquinaria celular formando RNA viral. Este RNA mediante complejos mecanismos de regulación, será procesado para la traducción y síntesis de proteínas virales, o bien para los nuevos viriones.
- 7) **Ensamblaje :** Las proteínas y el RNA viral se ensamblan utilizando la parte interna de la membrana celular.
- 8) **Salida :** La salida de nuevos viriones ocurre por gemación. La membrana celular envuelve a las proteínas y al RNA viral, quedando los viriones libres en el exterior de la célula. (2,6)

ORIGEN Y PREVALENCIA

El origen de los retrovirus humanos y en especial el origen del virus HTLV-I, aún no ha sido del todo aclarado.

La hipótesis que a la fecha sustenta un mayor número de evidencias experimentales y epidemiológicas, plantea como origen de todos los retrovirus al continente africano, a partir del cual el virus se diseminó al resto del mundo por movimientos migratorios (1,3,12).

Esto se ha sospechado por el hecho de que el virus HTLV-I, originalmente fué descubierto en dos casos esporádicos de cánceres de células T en negros americanos, y los primeros grupos de ésta enfermedad se descubrieron en negros nacidos en el Caribe y en japoneses. (1,2,3).

Esta hipótesis se sostiene por las siguientes razones ; 1) tiene una amplia distribución en toda el Africa; 2) en América es endémica en ciertas regiones del sureste de los Estados Unidos, en Panamá, Colombia y algunas áreas del Caribe, reportándose casos de leucemia de celulas T del adulto, además de Colombia, en Europa en poblaciones emigrantes del Surinám establecidos en Holanda, en poblaciones de la India establecidas en Inglaterra; llamando la atención que todo éste tipo de poblaciones son descendientes de africanos, encontrándose en las regiones mencionadas solo en 1% de la población blanca; 3) el virus HTLV-I se ha encontrado también en monos africanos del viejo mundo.

Este virus es también común en dos pequeñas islas del Japón, Kyushu y Shikoku, donde quizás llegó con africanos en el siglo XVI. Este virus es raro en la mayor parte de Asia. (1,2,3,4,5,14,15).

El virus prevalece en las regiones endémicas antes mencionadas, incrementándose su prevalencia con la edad del paciente, variando de 2.7% en los grupos de edades comprendidas entre los 13-19 años, a 26.2% en la séptima década y declina significativamente en la octava década de la vida.

Se han reportado prevalencias tan altas como 15% de la población general en ciertas áreas del Japón. La seropositividad al HTLV-I en pacientes femeninos (10.25%) es estadísticamente más alta que en pacientes masculinos (7.1%). (5,16)

En las islas del Caribe los rangos de prevalencia pueden ser tan altos como del 5% en la población general y del 15% en grupos de edades mayores.

En los Estados Unidos, la infección por HTLV-I ha sido detectada en drogadictos con rangos de seroprevalencia que varían del 7 al 49%, como lo reportan Bartholomew y colaboradores en 1986. (17)

La prevalencia del HTLV-I es rara entre hombres que practican la homosexualidad (0.8 X 1000), concluyéndose que el HTLV-I no ha sido introducido en forma importante entre los homosexuales en los Estados Unidos. Sin embargo esta prevalencia es variable según el origen de la población que se estudie, ya que en áreas endémicas como Trinidad Tobago mostraron una prevalencia seis veces más alta (15%) que la prevalencia registrada en la población general (2.2%). (5,18,19)

La prevalencia en la población general de los Estados Unidos hasta el momento no ha sido estudiada. Sin embargo se han hecho estudios epidemiológicos en donadores de sangre al azar en ocho ciudades de los Estados Unidos (39898 donadores) encontrando que diez de ellos que correspondieron al 0.025%, fueron positivos para el virus HTLV-I. (5,10)

En Europa también es poca la prevalencia del virus HTLV-I reportándose menos del 0.03% en donadores de sangre. (20)

La infección por el virus linfotrópico de células T humano tipo I, se ha encontrado también que es mayor, en pacientes portadores de enfermedades no solo hematológicas sino de tipo infeccioso como la tuberculosis pulmonar y de tipo parasitario como la estrongiloidosis y en la etapa terminal de la insuficiencia renal crónica y en pacientes sometidos a hemodiálisis; teniendo todos ellos en común, el haber recibido transfusiones sanguíneas en cantidades variables. (14,16,20).

Varios estudios sugieren que el virus HTLV-I puede ser transmitido de donadores sanguíneos con seropositividad para éste virus a los receptores de sus productos celulares sanguíneos.

Estudios retrospectivos de donadores y receptores de sangre hechos en Japón, demostraron un rango de seroconversión del 48% al 82% en los receptores de sangre seropositiva al HTLV-I.

Dos estudios cruzados de población receptora han sido llevados a cabo en Nueva York.

Uno de ellos demostró una prevalencia de 2.8% de infección por el virus HTLV-I en pacientes con leucemia los cuales recibieron transfusiones múltiples.

El HTLV-I está altamente asociado a células sanguíneas, por lo que los receptores de plasma libre de células, no demuestran un incremento en la infección por el HTLV-I mas allá del que puede ser atribuido a transfusión de productos celulares sanguíneos.

Debido al desconocimiento de la infección por el HTLV-I en la población general, la infección puede estar presente en forma asintomática, en bajos niveles, en donadores de sangre de los Estados Unidos.

Aunque todos los donadores voluntarios de sangre son específicamente interrogados por medio de la historia clínica, teniendo criterios específicos de exclusión para el síndrome de inmunodeficiencia adquirida, y por pruebas de laboratorio específicas para detectar anticuerpos contra el virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (HIV-1), antígeno de superficie de la hepatitis B, anticuerpos contra el antígeno core, y serología para sífilis; la eficacia de estas mediciones para excluir portadores de HTLV-I es desconocida hasta la actualidad.

Cuando la infección esta presente en el donador de sangre, favorece la introducción del virus en poblaciones de países donde la infección no es endémica, y por lo tanto presenta un riesgo muy importante para los receptores de sangre y sus compañeros sexuales.

La prevalencia de seropositividad para el HTLV-I, es de 0.025% en donadores de sangre estudiados en ocho ciudades de los Estados

Unidos; si se asume que la seropositividad para este virus es igual a la infección por HTLV-I, la eficacia de la transmisión por sangre homóloga es aproximadamente del 60%, de esto se puede predecir que la infección por el HTLV-I ocurrirá anualmente en 2800 receptores de sangre aproximadamente, cifra sumamente alarmante si se toma en cuenta que solo dos terceras partes de éstos receptores de sangre pueden morir por su enfermedad subyacente, dentro del primer año de recibida la transfusión sanguínea y el resto continuará como una fuente de propagación del virus, sobre todo si son personas sexualmente activas. (10,14,21).

MECANISMO DE TRANSMISION

La historia natural de la infección por el HTLV-I no está del todo elucidada, debido a que el tiempo de exposición del virus al tiempo de aparición de las enfermedades que éste puede producir, en muchas ocasiones, puede ser muy largo.

La profundidad de los estudios epidemiológicos hechos por algunos investigadores como Gallo y colaboradores, sugieren que el HTLV-I aunque pobremente, sigue las mismas rutas de transmisión que el HTLV-III (HIV); éste es, por contacto sexual principalmente de hombre a mujer, es más raro que sea de mujer a hombre. Entre personas masculinos y femeninos homosexuales, se ha reportado una incidencia muy baja en ciertas poblaciones de los Estados Unidos.

La transmisión de madre a hijo puede ocurrir durante la etapa prenatal o bien a través de la leche materna. Los niños alimentados al seno materno, de madres seropositivas para el HTLV-I, tienen aproximadamente un 25% de probabilidades de ser infectados.

La transmisión del virus entre personas drogadictas ocurre cada día con mayor frecuencia teniendo como fuente de contagio el uso de jeringas y agujas contaminadas, con sangre que contiene HTLV-I.

En la actualidad el mecanismo más importante de transmisión del HTLV-I lo constituye la transfusión de sangre y sus componentes celulares, contaminada con el virus HTLV-I, obtenida de bancos de sangre, donde acuden donadores voluntarios.

La transfusión de plasma libre de células no se ha reportado como fuente de transmisión del virus, ya que éste está altamente asociado a células.

ENFERMEDADES ASOCIADAS AL HTLV-I

El virus HTLV-I ha sido etiologicamente ligado a varias enfermedades de latencia crónica y actualmente a casos con períodos de incubación subaguda.

Inicialmente el virus HTLV-I, ha sido identificado como causa de leucemia/linfoma de células T del adulto (ATL), sobre bases de aislamiento del virus, de pacientes con leucemia de células T del adulto, así como extensos estudios serológicos que demuestran una asociación de anticuerpos para el HTLV-I en pacientes con ATL, dentro de distintos grupos geográficos localizados en el sureste de Japón, África y ciertas regiones del Caribe.

Este tipo de leucemia, se distribuye por determinadas zonas geográficas y específicamente en las islas del sureste de las Costas de Kyushu en Japón.

Es una enfermedad maligna de los linfocitos T maduros, que se presentan igualmente en mujeres que en hombres, con un pico de prevalencia mayor entre los 40 y 60 años de edad. Se caracteriza por lesiones cutáneas, lesiones pulmonares, linfadenopatía, hepatoesplenomegalía, hipercalcemia, linfocitos anormales circulantes. Sigue un curso subagudo o crónico, con rápida progresión hacia el estadio terminal y tiene gran resistencia a los agentes antileucémicos disponibles en la actualidad.

El amplio espectro de presentación clínica de ésta enfermedad, lleva a confusión. Los primeros dos casos de pacientes de quienes se aisló el HTLV-I, fueron diagnosticados por clínicos norteamericanos como micosis fungoide y síndrome de Sézary, respectivamente, que después fueron identificados como leucemia de células T del adulto. (4,5,6,7,10,16,22,23).

Setenta y cuatro casos de leucemia de células T del adulto, han sido reportados en los Institutos Nacionales de Salud, entre 1980 y 1987. En Estados Unidos no se ha hecho un récord de casos de ATL.

El HTLV-I ha sido asociado con enfermedades neurológicas degenerativas como paraparesia espástica tropical, y HTLV-I asociado a mielopatía (referidas como TSP/HAM respectivamente).

La primera ha sido descrita en las islas del Caribe, en Martinica y Jamaica por Gessain y colaboradores, encontrando seropositividad para el HTLV-I en un 60%.

Mitsuhiro Osame y colaboradores en Japón, utilizando el método Serodia ATLA, encontraron títulos altos de seropositividad en pacientes con paraparesia espástica; como la población que ellos estudiaron no vivían en el trópico pero sí en una zona templada, decidieron llamarle HTLV-I asociado a mielopatía (HAM).

El síndrome está caracterizado por lesiones de la neurona motora de la médula espinal, resultando esta alteración en manifestaciones clínicas como paraparesia, principalmente de los miembros inferiores, impotencia, incontinencia urinaria y anal, y deterioro de la sensibilidad superficial o propioceptiva o ambas.

La mayoría de los casos reportados de éste síndrome han sido de centros en los cuales el HTLV-I es endémico, sin embargo, sí se han reportado aunque pocos, casos en los Estados Unidos.

El síndrome ocurre en todos los grupos de edad, aunque más predominantemente en las edades comprendidas entre los 40 y 49 años. El período de latencia para ésta enfermedad parece ser menor que para la leucemia de células T del adulto y la enfermedad muy probablemente está causada por transfusión de sangre contaminada.

La expectativa de vida para estos pacientes, aunque desconocida, parece ser muy corta. (5,6,8,10,16,24,25,26,27,28)

Recientemente Gout y colaboradores han reportado un caso ejemplo de mielopatía asociada al HTLV-I, de curso subagudo, que ocurrió en un hombre de una área no endémica para este virus (París), 18 semanas después de haber recibido transfusión de productos celulares sanguíneos contaminados, durante un trasplante cardíaco, y cuatro semanas después de la seroconversión desarrolló sintomatología

compatible con HAM indistinguible de las mielopatías reportadas en áreas endémicas, en éste caso no hubo evidencia alguna de leucemia. (20)

Ultimos reportes han relacionado a la infección por HTLV-I, con algunos pacientes de esclerosis múltiple y con portadores de parasitosis como el *strongiloides stercoralis*, ésta última mas frecuentemente en Okinawa, Japón.

Esto enfatiza que la infección por éste retrovirus es un modelo atractivo para el entendimiento de causa de muchas enfermedades crónicas, variando desde enfermedades neurológicas degenerativas, hematológicas malignas, hasta síndromes reumáticos y autoinmunes.. (8,26)

Considerando los mecanismos de transmisión, las enfermedades asociadas al HTLV-I y la prevalencia de estas, tanto en regiones endémicas como Japón, Africa, y el Caribe, y en áreas no endémicas como los Estados Unidos, éste último con prevalencia cada día mayor en drogadictos norteamericanos; el período de latencia variable desde la infección a la presentación de los cuadros clínicos que pueden ser de meses hasta años, y el aparente reservorio de la infección por HTLV-I asintomática en donadores de sangre, ha despertado el interés y la necesidad, en los investigadores de éste retrovirus, de proponer como requisito indispensable para la transfusión sanguínea, pruebas serológicas para la detección de anticuerpos para el HTLV-I, en los donadores de todas las áreas del mundo, excluyendo como presuntos donadores a todos aquéllos seropositivos para el HTLV-I, disminuyendo de ésta manera la transmisión del virus en receptores no infectados y las consecuencias desastrosas a que lleva la infección por el HTLV-I.

Recientemente la Food and Drug Administration (FDA) de los Estados Unidos, ha autorizado pruebas de escrutinio para la detección de anticuerpos para el virus HTLV-I, que deberán practicarse en todos los donadores de sangre..

La FDA, recomienda que la sangre y sus componentes celulares donados para la transfusión, deben ser examinados para detectar anticuerpos contra el HTLV-I, utilizando pruebas de inmunoensayo enzimático (ELISA), que resultan mas prácticas para muestras muy grandes. Las pruebas seropositivas para el HTLV-I deben ser confirmadas por pruebas que sean capaces de identificar anticuerpos contra la nucleocápside (gag) y proteínas de la cubierta (env) del HTLV-I, aconsejando la FDA la prueba confirmatoria del Westernblot y radioinmunoprecipitación ensayo (RIPA).

La prueba confirmatoria Westernblot, parece ser la más sensible y la mas utilizada. Los grupos de salud pública han establecido criterios para considerar como seropositiva una muestra, si ésta presenta inmunoreactividad al producto proteico p24 del gene gag y a un producto del gene de la envoltura (gp46). Los sueros que no cumplan estos criterios pero que tienen inmunoreactividad para p19 solamente o p19 y p28 o p19 y env, son designados como indeterminados. Los especímenes que no muestren inmunoreactividad para cualquier producto de los genes del HTLV-I, son catalogados como negativos. (5,7,26)

La FDA, aconseja que todas las muestras seropositivas para el HTLV-I deben ser destruidas y el donador quedará definitivamente suspendido para donaciones posteriores

Las personas confirmadas como seropositivas para el HTLV-I deben ser notificadas de que son portadores de la infección por este retrovirus y proporcionárseles información acerca de las enfermedades asociadas a esta infección y los posibles mecanismos de transmisión de la misma; deberá advertirse que quedarán excluidos para donaciones posteriores.

La alimentación al seno materno de madres infectadas deberá ser discontinuada; los compañeros sexuales serán avisados de que su compañero sexual es seropositivo al HTLV-I y se le recomendará el uso

de condones para reducir el riesgo potencial de la transmisión por contacto sexual.

El Instituto Nacional de la Salud de los Estados Unidos (NIH), aconseja seguir las recomendaciones mencionadas para disminuir la transmisión de la infección por el HTLV-I en los receptores no infectados.

Las implicaciones de salud de la infección por este retrovirus humano hasta ahora comienzan a ser apreciadas a la vista pública, aunque en menor grado que la infección por el virus del síndrome de la inmunodeficiencia adquirida. (1,5,10)

Los objetivos primordiales de todos los bancos de sangre son los siguientes:

1.- Satisfacer la demanda de sangre y sus componentes en forma oportuna a través de la obtención de sangre donada por donadores voluntarios y familiares.

Actualmente la ley General de Salud, en el artículo 332 publicado en el Diario Oficial de la Federación del 27 de mayo de 1987 señala textualmente que: " La sangre humana solo podrá obtenerse de voluntarios que la proporcionen gratuitamente y en ningún caso podrá ser objeto de comercio"

2.- Llevar a cabo un control de calidad óptimo de la sangre.

Para verificar que la sangre donada tiene la calidad requerida para ser transfundida, los donadores deberán cumplir con los siguientes requisitos establecidos por la ley General de Salud :

a) Determinar el tipo de donador; entendiéndose que hay dos tipos de ellos: el donador altruista es aquél que acude por su propia voluntad y no conoce al paciente que será transfundido con su sangre. El donador familiar acude por petición del paciente y dona su sangre para él.

b) Edad:

La edad aceptada para donación oscila entre 18 y 55 años sin embargo de acuerdo a la condición clínica del donador pueden incluirse donadores hasta de 65 años.

c) Peso:

El peso aceptado es de 50 kilogramos o más. Aquellos que tengan menos peso pueden tener el riesgo de sufrir colapso circulatorio después de extracción de 500 mL.

d) Estados Alérgicos:

Se rechazan las personas alérgicas a medicamentos, en especial a antibióticos, por el riesgo de transmitir su alergia al paciente. Se rechazan también como donadores a aquellos que hayan recibido suero anticotráfico, antitetánico en los últimos 2 años, por la posibilidad de que pudieran transmitir su anafilaxia.

e) Embarazo y Menstruación :

Ninguna mujer embarazada cualquiera que sea su edad de gestación, debe ser aceptada como donador, por el riesgo de depletar su reservas corporales de hierro que la donación le puede producir. No se aceptan mujeres en período menstrual por las mismas razones.

f) No se aceptarán como donadores a aquéllos que presenten fiebre, cualquiera que sea su causa.

g) Solo se aceptarán como donadores a aquéllos normotensos por razones obvias

h) Negatividad para las siguientes pruebas:

HIV

Ag de superficie de hepatitis B

VDRL

Huddleson

Paludismo

i) Hematócrito o hemoglobina de acuerdo a valores establecidos

j) Grupo Sanguíneo y Compatibilidad:

MATERIAL Y METODO

El presente trabajo es un estudio de tipo observacional, transversal, prospectivo y descriptivo, el cual incluyó un solo grupo de estudio.

Se seleccionaron al azar 390 donadores de sangre voluntarios y familiares, que acudieron al banco de sangre del Hospital Dr. Fernando Quiroz, durante un período de 7 meses, del mes de mayo a noviembre de 1990. Se incluyeron en el estudio a aquéllos donadores que cumplieron los requisitos previamente establecidos por la ley General de Salud para la donación de sangre.

Se excluyeron del estudio a aquellos donadores con adicción a drogas intravenosas y a aquellos que realizaron prácticas homosexuales.

A todos los donadores seleccionados, se les aplicó un cuestionario elaborado para este estudio, el cual incluyó nombre, edad, sexo, raza estado civil, ocupación lugar de origen, lugar de residencia, viajes a áreas endémicas para el HTLV-I, antecedentes familiares originarios de zonas endémicas para el retrovirus humano de células T tipo 1, historia de transfusiones sanguíneas previas, enfermedades infectocontagiosas, prácticas homosexuales o bisexuales, adicción a drogas intravenosas y administración de vacunas parenterales en los últimos seis meses.

Se utilizaron los recursos de la propia unidad y los proporcionados por los laboratorios Miles, que nos facilitaron el equipo necesario para la realización de la prueba serológica, para la detección de anticuerpos anti-HTLV-I.

Se obtuvo de los donadores seleccionados una muestra sanguínea, la cual fué analizada por la prueba de hemaglutinación o aglutinación pasiva, para la detección de anticuerpos anti-HTLV-I (Serodia-ATLA).

Para la realización de la prueba serológica, se contó con los siguientes materiales:

- 1). Microplaca Fastec en forma de U rígida.
- 2). Goteros de 25 microgotas, 2 piezas
- 3). Micropipetas de 25 microlitros.
- 4). Dilutores de 25 microlitros.
- 5). Solución reconstituyente.
- 6). Diluyente del suero.
- 7). Partículas sensibilizadas.
- 8). Partículas no sensibilizadas.
- 9). Controles positivo y negativo
- 10). Agitador rotatorio automático.
- 11). Guantes y puntas desechables

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

Se utiliza suero o plasma libre de eritrocitos

- a) Se coloca una gota (25 microlitros) del diluyente del suero en los pozos del 1 al 3
- b) Se toman 25 microlitros del suero problema con el asa del dilutor y se transfiere ésta al pozo número 1 y se mezcla por rotación. Después se mueve el asa del dilutor al pozo número 2 y se mezcla
- c) Se repite éste procedimiento para el pozo número 3, desechando los últimos 25 microlitros de este pozo.
- d) Se agrega una gota de partículas no sensibilizadas en el pozo número 2 y una gota de partículas sensibilizadas en el pozo número 3.
- e) Se mezcla el contenido de los pozos usando el agitador rotatorio automático. Se cubre la placa para evitar la vaporización de los reactivos. Se deja reposar la placa en una superficie plana y a temperatura ambiente durante 3 horas y transcurrido éste tiempo se procede a la lectura de la prueba.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS DE LA PRUEBA SERODIA ATLA

El pozo número 2 de partículas no sensibilizadas, dará los controles negativos y en el pozo número 3 de partículas sensibilizadas se verán las pruebas positivas en caso de haber anticuerpos para el HTLV-I.

Si hay aglutinación en el pozo número 3, la prueba se interpretará como positiva, esto comparado con el control que debe incluirse en cada una de las pruebas.

En caso de resultar positiva la prueba, se repite el mismo procedimiento y de continuar reportando reactividad se deberá enviar a una prueba confirmatoria por la técnica de Westernblot.

Los resultados demográficos de la población donadora fueron analizados por medio de proporciones y promedios.

RESULTADOS

De los 390 donadores estudiados para detección de anticuerpos anti HTLV-I, ninguno presentó seropositividad al mismo, por la prueba de hemaglutinación o aglutinación pasiva, lo cual corresponde al 100%.

En los resultados demográficos de los donadores estudiados, se encontró que 75 correspondieron al sexo femenino con una proporción del 19.23%, y 315 al sexo masculino, que correspondió al 80.76%

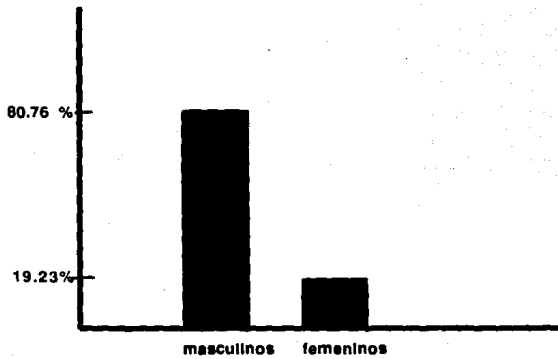
Los grupos de edades que mas prevalecieron fueron de la segunda a tercera década, con 189 donadores que correspondieron al 48.46%, siguiendo los grupos de la tercera a la cuarta década, en la que se encontraron 136 donadores con un 34.87%, de la cuarta a la quinta década únicamente hubieron 65 donadores, que correspondieron al 16.66%.

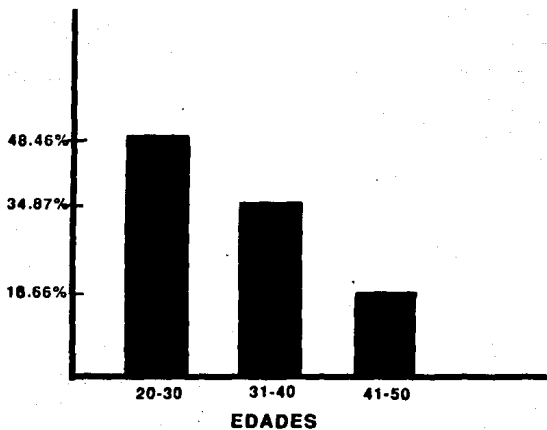
Ninguno de los donadores reportó haber realizado viajes a zonas endémicas para el HTLV-I; no hubo historia de transfusiones previas, uso de drogas intravenosas ni historia de homosexualidad o bisexualidad.

Solo dos pacientes fueron descendientes directos de familiares de Nigeria, que correspondieron al 0.51%.

314 Donadores (80.51%) refirieron ser originarios y residentes del Distrito Federal y 76 fueron originarios de diversas partes de la provincia con una proporción de 19.48

	# Donadores	%
Serodia (-)	390	100
Donadores Mascuinos	315	80.76
Donadores Femeninos	75	19.23
20 a 30 años	189	48.46
31 a 40 años	136	34.87
41 a 50 años	65	16.66
Viajes a areas endémicas	0	0
Raza blanca	390	100
Historia de Transfusiones previas	0	0
Hist homosexualidad o bisexualidad	0	0
Uso de drogas intravenosas	0	0
Ascendencia Africana	2	0.51
Origen D.F.	314	80.51
Provincia	76	19.48

DONADORES DE SANGRE

DONADORES DE SANGRE

COMENTARIOS Y CONCLUSIONES

La prevalencia de seropositividad para el HTLV-I, puede ser hasta del 15%, en la población general, y ésta prevalencia aumenta conforme los grupos de población aumentan en edad, con un franco predominio en mujeres; esto ocurre en áreas endémicas para el retrovirus HTLV-I. Sin embargo en áreas como Estados Unidos, donde hasta la actualidad no se considera como una región francamente endémica para el HTLV-I, se desconoce la prevalencia de seropositividad para éste retrovirus en la población general de ese país.

Los estudios hechos en bancos de sangre de algunas ciudades estadounidenses, para detectar anticuerpos contra el HTLV-I, en 39898 donadores de sangre, mostraron una seropositividad para éste virus en solo 10 casos, con una proporción de 0.025%. Nuestro estudio incluyó solo 390 donadores de sangre, no encontrando seropositividad para el HTLV-I en ninguno de ellos. Hubo predominio del sexo masculino con una proporción de 80.76%, las edades con más alta frecuencia de donadores comprendieron de los 20 a 30 años de edad. Considerando el tamaño de la muestra utilizada en el grupo estadounidense y la prevalencia que ellos encontraron, resulta obvio comprender el resultado de nuestro estudio.

Se excluyeron del estudio a donadores adictos a drogas intravenosas y aquéllos con prácticas homosexuales, que como lo reportan Bartholomew y Guroff son grupos de población de alto riesgo para la infección por el HTLV-I, pero que por si solos se excluyen como presuntos donadores, factor que también influyó en los resultados que obtuvimos.

La literatura científica no reporta a México como una area endémica para el HTLV-I, tampoco hay reportes acerca de la prevalencia de este virus en la población general mexicana, sin embargo, si tomamos en cuenta que en éste país se encuentran residentes emigrantes de

áreas endémicas para el HTLV-I, como son el Caribe, Japón y Africa estos pueden constituir un factor de riesgo para la transmisión del virus en nuestro país.

La consecuencia de la infección por el HTLV-I, varía no solo desde la aparición de leucemia sino hasta mielopatía; la posible asociación que tiene el virus con la esclerosis múltiple y algunos síndromes inmunológicos, con períodos de latencia que varían de algunos meses hasta años, constituyen razones suficientes para incluir como estudio rutinario la detección de anticuerpos anti-HTLV-I en toda la sangre que va a ser transfundida, para conocer la seroprevalencia de seropositividad para HTLV-I, en nuestra población mexicana, por lo que el presente trabajo lo podemos considerar como un estudio preeliminar para continuar en el futuro con el escrutinio de detección de anticuerpos anti-HTLV-I en la población donadora de sangre y evitar en lo posible la transmisión de este retrovirus y las consecuencias del mismo.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Wong-Staal, F. ; Gallo, R. Human T-lymphotropic retroviruses. *Nature* **1985**,317 (3); 395-403
- 2.- Gallo, R. ; Fauci, A. S. Virus linfotrópicos T humanos. Harrison *Principios de Medicina Interna* , 12 ed, eds Interamericana **1990**, 1894-98.
- 3.- Conasida. Características de los Retrovirus. Eds Dirección General de Epidemiología . **1987** , (7); 128-133
- 4.- Conasida. Retrovirus Humanos. Eds Dirección General de Epidemiología **1987**, (9) ; 177-182.
- 5.- Public Health Service Working Group. Licensure of Screening Test for Antibody to Human T-Lymphotropic Virus Type I. *JAMA* **1989**, 261(4); 513-525.
- 6.- Mann, J.L., DeSantis, P. Indirect Role for Retrovirus in Leukemogenesis. *Science* **1987**, 329(29) ; 1103-1106.
- 7.- Blattner, W.A. Human T Lymphotropic Viruses and Diseases of Long Latency *Ann of Internal Medicine* **1989**, 111(1) ; 4-6.
- 8.- Levine, P.H. ; Reeves, W. Human T Cell Leukemia Virus- I and Hematology r Malignancies in Panama. *Cancer* **1989**, 63 ; 2186-2191

- 9.- Guroff, M. R. ; Gallo, R. Natural Antibodies to Human Retrovirus HTLV-I in Cluster of Japanese Patient with Adult T Cell Leukemia. *Science* **1982**, *215*(19) ; 975-78.
- 10.-Williams, A. ; Fang, C.T. Seroprevalence and Epidemiology Correlates of HTLV-I Infection in U.S.A. Blood Donors. *Science* **1988** , *240*, 643-46.
- 11.-Mitsuya, H. Functional Properties of Antigen-Specific T Cell Infected by Human T Cell Leukemia / Lymphoma Virus . *Science* **1984** ,*225* , 1484-87.
- 12.-Gallo, R. Human T-Lymphotropic Retroviruses (HTLV-I, II and III) *The Biological Bases of Adult T Cell Leukemia/ Lymphoma and AIDS*. En: AIDS. Modern Concepts and Therapeutic Challenges. Broder, S. ; ed Marcel Dekker, Inc. N.Y. and Basel, **1987** , 1-21.
- 13.-Mitsuya, H. Transformation and Cytopathogenic Effect in an Immune Human T Cell Clone Infected by HTLV-I. *Science* **1984** , *223* , 1293-96.
- 14.-Minamoto, G. ; Infection with Human T Cell Leukemia Virus Type I in Patients with Leukemia. *New Engl. J. Med.* **1988** , *318*(4) ; 219-22.
- 15.-Saxinger, W. ; Blattner, W. Human T Cell Leukemia Virus (HTLV-I) Antibodies in Africa. *Science* **1984** , *225* ; 1473-76.
- 16.-Haneda, S. ; Uematsu, T. The Prevalence of Human T Cell Leukemia Virus Type I Infection in Patients with Hematology and nonHematology Diseases in an Adult T Cell Leukemia-Endemic Area of Japan. *Cancer* **1989** , *64* ; 1290-95.

- 17.-Guroff, M.R. Prevalence of Antibodies to HTLV-I, II and III in Intravenous Drug Abusers from an AIDS Endemic Region. *JAMA* 1986, 255(22) ; 3133-37.
- 18.-Manns, A. ; Orams, I. Seroprevalence of Human T Cell Lymphotropic Virus Type I among Homosexuals Men in the United States. *New Engl. J. Med.* 1988, 319 (8) ; 516-17.
- 19.-Bartholomew, C. Transmission of HTLV-I and HIV Among Homosexuals Men in Trinidad. *JAMA* 1987 , 257 (19) ; 2604-08.
- 20.-Gout, O. Rapid Development of Myelopathy After HTLV-I Infection Acquired by Transfusion During Cardiac Transplantation. *New Engl. J. Med.* 1990 , 322 (6) ; 383-387 .
- 21.-Saxinger, W. Possible Risk to Recipients of Blood from Donors Carrying Serum Markers of Human T Cell Leukemia Virus. *The Lancet* 1982 , 1074.
- 22.-Gallo, R. HTLV-I The Virus of Adult T Cell Leukemia in Japan and Elsewhere. *The Lancet* 1982, 883.
- 23.-Osame, M. HTLV-I Association Myelopathy a New Clinic Entity. *The Lancet* 1986 , 1031-32.
- 24.-Johnson-Rodgers, P. HTLV-I and HTLV-III Antibodies and Tropical Spastic Paraparesis. *The Lancet* 1985 , 1247-48.
- 25.-Gessain, A. Antibodies to Human T Lymphotropic Virus Type I in Patients with Tropical Spastic Paraparesis. *The Lancet* 1986, 407-

26.-Nakada, K. High Incidence of HTLV-I Antibody in Carriers of Strongyloides stercoralis. *The Lancet* 1985, 633.

27.-Osame, M. Blood Transfusions and HTLV-I Associated Myriopathy. *The Lancet* 1986, 104-105.

HOJA DE RECOLECCION DE DATOS

- 1.- Nombre
- 2.- Edad
- 3.- Sexo
- 4.- Raza
- 5.- Domicilio
- 6.- Estado Civil
- 7.- Ocupación
- 8.- Lugar de Origen
- 9.- Lugar donde ha residido en los últimos 5 años
- 10.- ¿Ha realizado viajes al Africa, Estados Unidos, Islas del Caribe, Japón, en alguna época de su vida?
- 11.- ¿Tiene antecedentes familiares de origen africano, estadounidense, japonés o caribeño?
- 12.- ¿Ha recibido transfusiones sanguíneas previas?
- 13.- ¿Ha padecido enfermedades como hepatitis, sífilis, brucelosis, paludismo, estrongiloidosis?

14.- ¿Realiza prácticas homosexuales o bisexuales?

15.- ¿Es usted adicto a alguna droga intravenosa?

16.- ¿Se le ha practicado algún tatuaje o acupuntura en los últimos seis meses?

17.- ¿Ha recibido alguna vacunación parenteral en los últimos seis meses?

18.- Resultado de la prueba SERODIA ATLA