



## SERONEGATIVE HUMAN T-CELL LYMPHOTROPIC VIRUS 1 CARRIERS IN BLOOD BANKS: A POTENTIAL VIRAL SOURCE FOR SILENT TRANSMISSION?

### KAN BANKALARINDAKİ SERONEGATİF İNSAN T-HÜCRE Sİ LENFOTROPİK VİRUS 1 TAŞIYICILARI: SESSİZ BULAŞ İÇİN POTANSİYEL BİR VİRAL KAYNAK MIDIR?

**ALINTI:** <https://doi.org/10.1111/vox.13329>

**YAZARLAR:** Frutos MC, Blanco S, Balangero M, Carrizo LH, Rocha AS, Barbosa-Stancioli EF, Nates S, Gallego S.

**ÖZETLEYEN:** Dr. Betül Günaydın

#### GİRİŞ

İnsan T-hücresi lenfotropik virus 1 (HTLV-1), yetişkin T hücreli lösemi ve tropikal spastik paraparezi/HTLV-1 ilişkili myelopati (TSP/HAM) için etiyolojik ajandır. Bununla birlikte, bu virüsle enfekte çoğu insanda hastalığa ait bulgu veya semptom gelişmez, eğer oluşursa da bu durum genelde hayatlarının son dönemlerinde oluşur. HTLV-1 enfeksiyonu Brezilya, Kolombiya, Arjantin, Peru, Fransız Guyanası ve Şili dahil hemen hemen tüm Güney Amerika ülkelerinden bildirilmiştir. Dahası, Brezilya'nın kuzeydoğusu ve Arjantin'in kuzeybatısı gibi Güney Amerika'nın bazı bölgelerinde, HTLV-1'in endemik olduğu düşünülmektedir.

Yakın tarihli bir yayında, Arjantin'in yüksek endemik bölgelerinde seronegatif HTLV-1 taşıyıcılarının varlığı ilk kez tanımlanmıştır. Bu çalışmada, olguların %64,5'i HTLV-1 enfeksiyonu için seronegatif olmasına rağmen proviral sekansları taşıyordu. Ayrıca, bu olguların %35,7'sinde HTLV-1'in Tax proteinine karşı antikor vardı ve ticari olarak kullanılan HTLV kitlerinde Tax antijeni bulunmuyordu. Bu durum, "Arjantin'deki HTLV-1 enfeksiyonu prevalansının rutinde kullanılan serolojik testlerle tespit edilenden daha fazla olabilir mi? sorusunu gündeme getirmektedir.

#### GEREÇ-YÖNTEM

Bu çalışmada, Ağustos 2015 ve Ağustos 2016 tarihleri arasında Fundacion Banco Central de Sangre'ye kan bağışında bulunan, transfüzyonla bulaşan enfeksiyonlara karşı risk faktörü

bulunmayan 317 sağlıklı bağışçının kan örneğinde çalışılmıştır. Arjantin veya komşu ülkelerin HTLV-1/2 için endemik bölgelerinde doğan veya büyüyen tüm bağışçılar, Architect rHTLV-I/II testi (Abbott Laboratories Wiesbaden, Almanya) ile tarandığında HTLV-1/2 antikoru seronegatif saptanmıştır.

Seçilmiş 317 kan bağışçısının tam kan örneklerinden DNA ekstrakte edilmiştir. Nested PCR, Vandamme ve ark.'nın tarif ettiği protokole uyularak Tax geninin 219-bp sekansı amplifiye edilerek gerçekleştirilmiştir. Genel nested PCR ile HTLV-1/2 pozitif olan numuneler daha sonra HTLV-1 (100 bp) ve HTLV-2 (151 bp) için Tax bölgesini hedefleyen spesifik nested PCR ile tiplendirilmiştir. Ayrıca, Arjantin'de yaygın olan HTLV-1 suşlarının tespiti için tasarlanmış primerler ile Castro ve ark. tarafından daha önce tarif edilen protokoller izlenerek HTLV-1 Tax geninin 100-bp'si amplifiye edilerek ek bir PCR gerçekleştirilmiştir. Furukawa ve ark.'nın tarif ettiği proviral genomdan elde edilen 1119 bp'lik Tax bölgesinin amplifikasyonu tüm Tax-pozitif numunelerde çalışılmıştır. LTR bölgesine ek olarak env geninden 561 bp ve 672 bp'lik diğer iki sekans da nested PCR kullanılarak amplifiye edilmiştir. HTLV-1'in pol genini tespit eden reaksiyon, Andrade ve ark.'nın geliştirdiği gerçek zamanlı PCR kullanılarak çalışılmıştır. Moleküler testlerle HTLV-1 pozitif sonuçlanan örneklerin HTLV-1/2 antikoru, PA testi (Serodia Fujirebio Inc., Tokyo, Japan) ve in-house İFA yöntemiyle tekrar analiz edilmiştir. Ayrıca moleküler testlerle HTLV-1 pozitif sonuçlanan örneklerin anti Tax IgG'leri ELISA kullanılarak test edilmiştir.

## SONUÇLAR

Çalışılan 317 örneğin 2'si, 100 bp'lik Tax genini hedefleyen iki farklı PCR testinde HTLV-1 için pozitif olarak sonuçlanmıştır. Bu olguların PA ve İFA testlerinde HTLV 1/2 antikoru negatif olarak bulunmuştur (Şekil 1).

Kan örneklerinden birisinde LTR bölgesinden (672 bp) ve pol geninden sekanslar amplifiye edilmiştir. Bu bağışçı Jujuy şehrinde (Arjantin) doğan 48 yaşında bir erkek idi (H94). Diğer Tax pozitif olan bağışçı, Chaco şehrinin (Arjantin) yerlisi olan 28 yaşında bir kadın idi (H256); IgG Tax antikoru kanında da tespit edilmiştir (Şekil 2).



Her iki örnekte (100 bp) tespit edilen HTLV-1 Tax sekansı, prototipik ATK-1 HTLV-1 Tax'ı ile yüksek oranda homologdu ve ayrıca Arjantin'in endemik bölgesinden (>%97) ve komşu ülkelerden gelen suşlardan diğer izolatlarla yüksek homoloji göstermiştir (Tablo 1).

## TARTIŞMA

Bu çalışma, Arjantin'in kan bankalarındaki seronegatif HTLV-1 taşıyıcılarının varlığını ilk kez açıklamıştır. 317 kan bağışçısı arasında, ticari olarak temin edilebilen CE belgeli veya FDA onaylı HTLV-1/2 testleri ile seronegatif bulunmasına rağmen Tax sekanslarını barındıran 2 kan bağışçısı (%0,63) tespit edilmiştir. Daha önce yapılan bir çalışmada sadece Tax gen dizileri tespit edilirken, bu çalışmada farklı olarak bir örnekte Tax genine ilaveten diğer genlerin dizileri de (LTR ve pol) saptanmıştır.

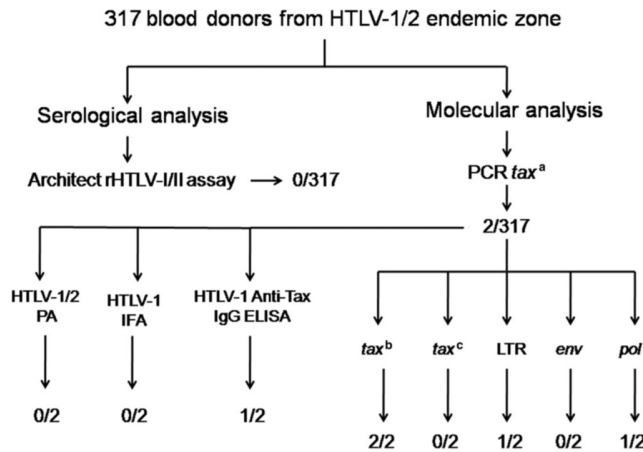
LTR sekanslarının yokluğunun, HTLV-1 antijenlerinin replikasyon ve ekspresyon yetersizliğini ve immün yanıt yokluğunu açıklayabileceği öne sürülmüştür. Bu nedenle yazarlar, TSP/HAM hastalarının kusurlu bir HTLV-1 provirüsü taşıdığını, muhtemelen enfeksiyonun erken safhalarında güçlü bir bağışıklık tepkisinin bir sonucu olarak enfekte olmuş hücreleri başarılı bir şekilde yok ederek geriye yalnızca kusurlu sekanslara sahip olanları bıraktığını öne sürüyorlar. Bu çalışmada tespit edilen üç farklı viral gen sekanslarının (LTR, pol ve Tax) tespit edildiği bağışçının durumuna rağmen, immün yanıt yokluğu karşısında kusurlu bir HTLV-1 provirüs olasılığı göz ardı edilemez. Bu çalışmada iki örnekten alınan Tax dizileri, ATK-1 dizisi ile %97,2-%98,3 oranında ve ayrıca Arjantin'in endemik bölgelerinden gelen diğer izolatlarla yüksek homoloji göstermiştir. Bu nedenle, suşlar arasında bulunan yüksek homoloji, amplifiye edilmiş dizilerin HTLV-1'e karşılık geldiğini doğrulamıştır.

Bazı proviral sekansların silindiği HTLV-1'in seronegatif taşıyıcıları mevcuttur ve bu durumun hastalık ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Son zamanlarda Arjantin'de yalnızca Tax dizilerini barındıran seronegatif semptomatik veya asemptomatik HTLV-1 taşıyıcıları tanımlanmıştır. Silinmiş HTLV-1 sekanslarının çoğunun, Tax sekansını ve/veya onun gen ürünü olan p40tax'ı taşıdığından ve Tax geninin, HTLV-1'in transkripsiyonel işlemcisi olduğu ve sayısız hücresel büyüme faktörünün, sitokinlerin ve onkogenlerin regülasyonunda bir role sahip olduğu düşünüldüğünden, Tax geçişi dikkat gerektiren önemli bir sorundur.

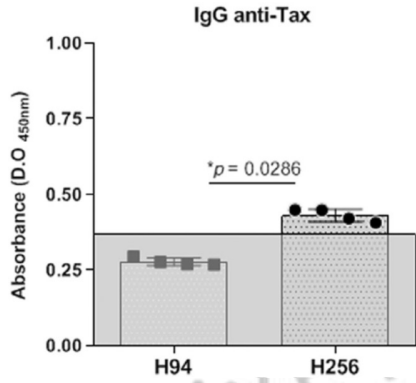
Belirli bir patojen için kan bağışçılarını tarama kararı, bağışçı popülasyonunda bu tür patojenlerin prevalansı, alıcıların duyarlılığı ve her bölgenin rapor edilen transfüzyonla bulaşan vaka sayısına göre belirlenen risk değerlendirmesine dayanmalıdır. Bu nedenle, çalışmamızda ortaya çıkan soru, seronegatif HTLV-1 taşıyıcılarının enfeksiyonu kan transfüzyonu yoluyla bulaştırma yeteneğine sahip olup olmadığı ve sonuç olarak serolojik tarama için başka tekniklerin uygulanmasının veya bu virüse özgü moleküler taramanın dahil edilmesinin gerekli olup olmadığıdır. Anti-HTLV rutin taramalarında, yalnızca viral zarf proteinleri içeren reaktiflerin kullanımı dikkate alındığında, reaktif olmayan sonuçların yanı sıra pozitif testler de meydana gelebilir. Bu hassasiyet, env, gag ve pX HTLV-1/2 bölgelerinden kimerik antijenler kullanılarak artırılabilir.

Bulgular, bazı bağışçı popülasyonlarında uygulanan HTLV-1 tespiti için halihazırda onaylanmış bazı tarama testlerinin potansiyel sınırlamalarını ve kan yoluyla sessiz bulaşma potansiyeline sahip bir HTLV-1 seronegatif taşıyıcı durumu olasılığını ortaya koymaktadır. Bu nedenle, kan bankalarında pozitif kan bağışçılarının ve pozitif kan alıcılarının takibi de dahil olmak üzere sürekli epidemiyolojik sürveyans yapılmalıdır. Bu, esas olarak Arjantin ve bu virüs için endemik bölgeleri olan komşu ülkelerde endişe vericidir. Kan yoluyla bulaş potansiyeli olan ajanların araştırılması ve sürveyans yoluyla epidemiyolojik riskinin değerlendirilmesi, bulaş riskini belirlemek ve güvenli kan tedarikini sağlamak amacıyla yeni müdahaleler uygulamak için kritik öneme sahiptir.

**Şekil-1:** HTLV-1/2 endemik bölgelerinden gelen kan bağışçılarından alınan numunelerin HTLV serolojisi ve PCR analizi. <sup>a</sup>215 bp ve 100 bp (Vandamme ve ark.), <sup>b</sup>100 bp (Castro ve ark.), <sup>c</sup>1100 bp (Furukawa ve ark.)



**Şekil-2:** Seronegatif kan bağışçılarında ELISA ile saptanan HTLV 1 Anti Tax IgG. Gri alan, testin optik dansitesinin cut-off noktasını (OD=0.371) temsil eder.



**Tablo-1:** Kan örneklerinde HTLV-1 Tax gen dizilerinin matris kimliği ve farklı kaynaklardan izolatlarla karşılaştırması

	ATK-1	H94	H256	ArJ03-06	ArJ13-01	HN1	B1033	HAM16	BRSP65679	LC210018	ArJ54-2	ArJ17-2
ATK-1	100											
H94	97.2	100										
H256	98.3	96.6	100									
ArJ03-06	100	97.2	98.3	100								
ArJ13-01	100	97.2	98.3	100	100							
HN1	100	97.2	98.3	100	100	100						
B1033	99.4	96.6	97.7	97.7	99.4	99.4	100					
HAM16	100	97.2	98.3	100	100	100	99.4	100				
BRSP65679	99.4	96.6	97.7	99.4	99.4	99.4	99.4	99.4	100			
TT0021	100	97.2	98.3	100	100	100	99.4	100	99.4	100		
ArJ54-2	100	97.2	98.3	100	100	100	99.4	100	99.4	100	100	
ArJ17-2	100	97.2	98.3	100	100	100	99.4	100	99.4	100	100	100