

HERPESVIRUS

Elena Cánepa

GENERALIDADES

I.- INTRODUCCION

Los Herpesvirus constituyen un grupo grande y heterogéneo de virus con genoma DNA. Generalmente se reconocen tres subfamilias: alphaherpesvirinae, betaherpesvirinae y gammaherpesvirinae. Esta clasificación se basa en parte en aspectos moleculares (por ejemplo: la organización del genoma y la secuencia de nucleótidos y de aminoácidos) y en parte en propiedades biológicas (por ejemplo: tropismo celular durante la replicación activa o durante la latencia, variabilidad de huéspedes y potencial patógeno).

Alphaherpesvirinae

Presentan las siguientes características:

- Variabilidad de huéspedes.
- Ciclo de replicación relativamente corto.
- Difusión rápida a nivel de los cultivos celulares.
- Destrucción efectiva de la célula infectada.
- Capacidad de establecer una latencia primaria, aunque no exclusiva, a nivel de los ganglios sensitivos.

Como ejemplo dentro de esta subfamilia podemos citar al virus Herpes simplex tipo 1 y 2 (HSV1 y HSV2) y el virus de la Varicela Zoster (VZV).

Betaherpesvirinae

- Poseen una morfología típica.
- El genoma de DNA es grande.
- Poseen la capacidad de establecer infecciones virales persistentes y latentes.
- Son especie específicos.
- Crecen muy lentamente en cultivos celulares.

Como ejemplo dentro de esta subfamilia podemos citar al Citomegalovirus (CMV) y a los Herpesvirus humanos 6 y 7 (HHV6 y 7).

Gammaherpesvirinae

- Se replican y permanecen en forma latente en los linfocitos.
- Pueden causar linfomas, leucemias y trastornos linfoproliferativos en animales de experimentación.

Como ejemplo dentro de esta subfamilia podemos citar al virus de Epstein-Barr (EBV).

Los Herpesvirus comparten algunos caracteres comunes:

- Codifican la síntesis de enzimas que están involucradas en el metabolismo del ácido nucleico.
- La síntesis de DNA y el ensamblaje con la cápside se

produce en el núcleo (las cápsides adquieren su envoltura cuando emergen a través de la membrana nuclear).

-La producción de las nuevas progenies virales se acompaña invariablemente de muerte celular.

-Los virus permanecen en sus huéspedes naturales y son responsables de infecciones latentes y de reactivaciones a menudo asintomáticas.

-Son virus frágiles y se transmiten por contacto directo entre los individuos.

-Son mucho más frecuentes y se asocian a signos clínicos cuando hay déficits de la inmunidad de tipo celular, particularmente en los transplantados y en los sujetos afectados de SIDA y de enfermedades hematológicas malignas.

II.- ESTRUCTURA

La partícula viral comprende:

-Un core que contiene ADN viral. Este ADN es bicatenario y lineal, de peso molecular superior a 80 x 10⁶ Daltons y está enrollado alrededor de una bobina proteica.

-Una cápside icosaédrica de 100 nm de diámetro constituida de 162 capsómeros.

-Un tegumento constituido por proteínas virales, de estructura fibrilar, que asegura la unión entre la cápside y la envoltura.

-Una envoltura que determina el tamaño definitivo del virus (150 a 200 nm). Esta envoltura está constituida de una doble capa lipídica derivada de las membranas celulares. Las proteínas y las glicoproteínas virales insertadas en la envoltura forman las espículas, de las cuales algunas son responsables de la fijación del virus a las células. La integridad de la envoltura es necesaria para la infectividad viral. Su naturaleza lipídica le da la posibilidad de ser degradables por los agentes físico químicos y ello confiere a los Herpesvirus de una gran fragilidad al medio exterior.

III.- MULTIPLICACION VIRAL

a.1.- Ciclo de Multiplicación

Adsorción, Penetración y Decapsidación

Por intermedio de las proteínas de la envoltura viral los virus se unen a los receptores de la membrana citoplásmica de la célula. Luego de la fusión entre las envolturas virales y las membranas citoplásmicas, la nucleocápside se libera en el citoplasma, la cápside migra a través del mismo y es degradada por las enzimas lisosomales, dando lugar por último a la penetración del

ácido nucleico en el núcleo.

Replicación viral

Los Herpesvirus codifican un número importante de proteínas implicadas en la síntesis del ADN viral y en la formación de viriones. Su síntesis es regulada en el tiempo y aparecen 3 tipos sucesivos de proteínas en las células:

- Proteínas muy precoces (immediate early antigens {IEA}),
- Proteínas precoces (early antigens {EA}),
- Proteínas tardías (late antigens {LA}).

Las proteínas precoces son en su mayoría enzimas, mientras que las tardías son proteínas de estructura. Las copias de ADN viral replicadas se unen a las proteínas de estructura que migran hacia el núcleo, donde se ensamblan.

Envoltura y liberación de viriones

Las nucleocápsidas completas salen de los núcleos y se envuelven con membranas nucleares o intracitoplásmicas. Los viriones atraviesan el citoplasma celular por el retículo endoplásmico y finalmente la célula termina siendo destruida.

a.2.- Multiplicación viral dentro del organismo

Los Herpesvirus son ubicuos e infectan una gran variedad de animales, incluyendo al hombre. Dado que comparten muchas características biológicas, la disponibilidad de cepas no humanas ha permitido la realización de estudios experimentales, que estarían restringidos en caso de existir sólo cepas de origen humano. Entre los virus de origen no humano podemos citar algunos, como por ejemplo: Citomegalovirus murino, Citomegalovirus de las ratas, CMV de cobayo, equino y simiano, Herpesvirus del chimpancé, Herpesvirus bovinos, etc.

La puerta de entrada más frecuente de los Herpesvirus humanos es la faringe (HSV, VZV, CMV, EBV), a veces pueden penetrar por vía genital (HSV, CMV) o parenteral (CMV, EBV). Ciertas células son destruidas

pero en otras la información viral persiste bajo forma de ADN y su expresión es reprimida en parte (infección latente). Las células donde persisten latentes estos virus, pueden ser nerviosas (HSV, VZV) o sanguíneas (CMV, EBV). Bajo la influencia de ciertos factores desencadenantes, el genoma se expresa de nuevo en su totalidad (reactivación del virus). Estas reactivaciones son mucho más frecuentes cuando hay déficits de la inmunidad celular, particularmente en los sujetos transplantados, afectados de SIDA o de enfermedades malignas hematológicas. Fig. 1.

IV.- EPIDEMIOLOGIA

Las infecciones por los distintos Herpesvirus son de distribución mundial y muy frecuentes.

En cuanto a las infecciones por Herpes simplex tipo 1 (HSV1), un tercio de los individuos en los países en vías de desarrollo y pertenecientes a los estratos socioeconómicos más bajos seroconvierten para el HSV1 a los cinco años de edad y la frecuencia aumenta a 70 a 90% en la adolescencia temprana. En los países desarrollados la seroprevalencia es del 60% en la tercera década de vida.

La prevalencia de infecciones genitales por Herpes simplex tipo 2 (HSV2) determinada por screening citopatológicos e aislamiento viral varía entre 0.09 y 0.24% en mujeres normales y entre 0.002 y 7.0% en mujeres que concurren a clínicas de enfermedades de transmisión sexual. La frecuencia de infección por HSV 2 durante el embarazo es de aproximadamente del 1%.

El HSV 1 se relaciona con el 95% de los casos de encefalitis, mientras que al HSV 2 se le adjudica el 0.5 al 3% de los casos.

En cuanto a la infección por Citomegalovirus (CMV) alrededor del 10 al 60% de los individuos se infectan en forma perinatal o durante los primeros 6 meses de vida dependiendo de los riesgos a la exposición. Muy pocos de estos individuos desarrollan la enfermedad, aunque sí excretan virus por períodos prolongados de tiempo. Desde la pubertad hasta los 30 años el aumento de la actividad sexual se correlaciona con un aumento en la prevalencia del CMV.

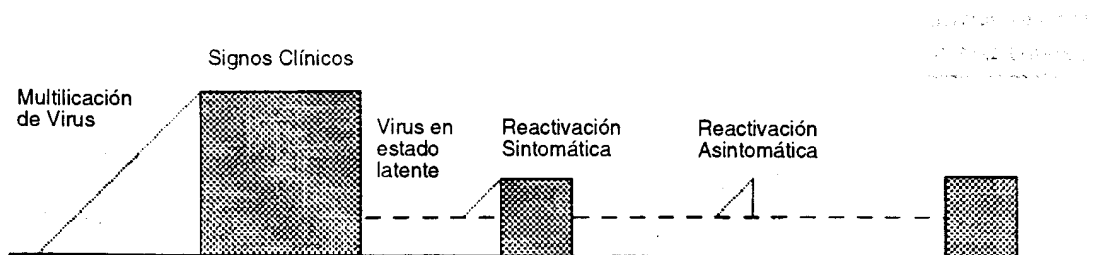


Fig.1.- Luego de una primoinfección, acompañada o no de signos clínicos, la producción viral se detiene, pero el virus no es eliminado del organismo y va a persistir en estado latente en ciertas células del huésped). A partir de ese estado latente, puede haber en forma periódica reactivaciones endógenas con producción de virus y aparición de signos clínicos a veces. (Tomado de *Virologie Médicale*, A. Mammette, Edition C. et R., 14a edición, 1992).

Si nos referimos al virus de Epstein-Barr (EBV), más del 95% de los adultos ya están infectados por el virus. La infección en la infancia es generalmente asintomática, pero cuando se adquiere en la adolescencia o en la edad adulta temprana, puede manifestarse clínicamente como una Mononucleosis infecciosa, un trastorno linfoproliferativo autolimitado y, generalmente, benigno.

Los Herpesvirus a causa de su envoltura son virus frágiles. La transmisión de la infección se realiza:

- a través del contacto directo y a veces íntimo entre los individuos, por contaminación con saliva;
- por vía genital: contactos sexuales, parto;
- por trasplante de órganos, o
- por transfusiones sanguíneas.

Aunque son virus frágiles, pueden resistir cierto tiempo en el medio exterior y la infección puede ser vehiculizada por las manos o por objetos contaminados por saliva, lesiones o secreciones infectadas.

La primoinfección por Herpesvirus, acompañada o no de signos clínicos, se observa a menudo en el lactante y más frecuentemente en medios socioeconómicos desfavorables o cuando los jóvenes viven agrupados en colectividades.

En la infección latente, los virus herpéticos son excretados de forma intermitente sin signos clínicos asociados, lo que explica su gran difusión a nivel de la población. Los factores que desencadenan la reactivación son muy variables y poco conocidos: estímulos nerviosos (HSV), estímulos alógenos en trasplantes o estímulos durante el embarazo (HSV, CMV).

Muchos de estos virus inducen a la transformación maligna de cultivos celulares *in vitro* y el EBV está asociado a dos tipos de cáncer en el hombre: carcinoma rinofaríngeo y linfoma de Burkitt.

La persistencia de estos virus a nivel del organismo, su posible reactivación y su oncogenicidad potencial incitan a una gran prudencia, fundamentalmente en lo que concierne a las vacunas a virus vivos.

HERPES SIMPLEX VIRUS

I.- INTRODUCCION

Existen dos serotipos de virus Herpes Simplex: Virus Herpes Simplex tipo 1 (HSV1) y virus herpes simplex tipo 2 (HSV2). Su morfología, así como la forma de organización de sus genomas son idénticas. De todas maneras ellos no poseen más que un 50% de homología y se distinguen por su poder patógeno, su epidemiología y la localización de las manifestaciones clínicas cutáneo mucosas habituales.

II.- CARACTERISTICAS DEL VIRUS

a.- Estructura físico química

Poseen:

- Una cápside icosaédrica de 162 capsómeros.
- El ADN viral bicatenario lineal constituido por alrededor de 150.000 pares de bases.
- La envoltura constituida por membranas lipídicas que son adquiridas por el virus en el momento de salir por brotación de las células infectadas. La envoltura contiene espículas de alrededor de 8 nm de largo formadas por glicoproteínas. Es la envoltura la que les confiere fragilidad a estos virus. Son poco resistentes en el medio extracelular.

-Entre la envoltura y la cápside se encuentra el tegumento, un material amorfo denso a los electrones que está formado por proteínas virales cuyas propiedades y funciones aún se desconocen. El grosor del tegumento es variable, afectando por tanto el tamaño del virión, que llega a medir entre 150 y 200nm.

b.- Multiplicación

El ciclo de replicación se puede dividir en tres fases principales, en el curso de las cuales las regiones precisas serán transcritas de manera secuencial. Es así que es posible distinguir:

-Las proteínas precoces (divididas en "immediate early y early") que aparecen al inicio del ciclo de replicación y que van a participar en la síntesis del ADN viral. Se destacan entre ellas la timidinquinasa viral y la ADN polimerasa viral. La existencia de estas enzimas virales ha permitido el desarrollo de una quimioterapia antiviral específica.

- Luego de la síntesis de las proteínas precoces, el ADN viral se multiplica (replicación propiamente dicha). Los ADN virales son transcritos en el núcleo de la célula huésped.

-En el curso de la fase tardía, las proteínas de estructura son traducidas y se produce la encapsidación en el núcleo celular.

-La etapa final de maduración celular se realiza a nivel de la membrana nuclear, lugar donde las cápsides adquieren su envoltura constituida por la doble hoja fosfolipídica de origen celular en la cual son incluidas las glicoproteínas virales. Entre estas últimas hay algunas que son específicas de HSV1 y HSV2.

Las partículas infecciosas (envueltas) dejan el núcleo y se vehiculizan por los canalículos del retículo endoplásmico. La célula huésped libera así numerosas partículas infecciosas. Durante el curso del ciclo de replicación, las proteínas virales bloquean la síntesis de la célula huésped y provocan su muerte. Cuando se instalan las defensas inmunológicas, la célula infectada

puede ser destruida más rápidamente por los linfocitos T citotóxicos gracias a la expresión de proteínas virales a nivel de las membranas plasmáticas.

III.- EPIDEMIOLOGIA

Las infecciones por herpes son de distribución mundial y ocurren durante todo el año.

El hombre es el único reservorio de los Herpesvirus humanos. Las partículas virales infecciosas presentes a nivel de las lesiones cutáneo-mucosas o en las mucosas sanas son inoculadas por contacto directo.

La primoinfección por HSV1 sobreviene a una edad más precoz cuando las condiciones socioeconómicas son más desfavorables. Ella afecta habitualmente la orofaringe pudiendo dar gingivostomatitis o puede pasar inadvertida.

La primoinfección por HSV2 predomina a partir de la pubertad. Este serotipo es transmitido por contacto sexual y afecta frecuentemente la esfera genital. Hay factores predisponentes que favorecen la infección con HSV2. Ellos son:

- Sexo: Es más frecuente entre las mujeres que entre los hombres.
- Raza: Más frecuente en la raza negra que en la blanca.
- Estado civil: Más frecuente en las divorciadas que en las solteras o casadas.
- Lugar de residencia: Más frecuente en las grandes ciudades que en las pequeñas.
- Número de compañeros sexuales: A mayor número mayor riesgo de infección.

La transmisión neonatal se realiza con frecuencia a partir de las mucosas genitales de la madre en el momento de la expulsión del feto por el canal del parto. Más raramente el feto es infectado por vía transplacentaria o amniótica. La frecuencia de la infección por HSV2 durante el embarazo es de aproximadamente un 1%.

Luego de la curación el virus persiste durante toda la vida del sujeto a nivel de los ganglios sensitivos anexados a las raíces nerviosas del territorio infectado (ganglio de Gasser para el HSV1 y ganglios lumbosacros para el HSV2). Durante las reactivaciones el virus se distribuirá por vía nerviosa a nivel de los mismos territorios.

IV.-INFECCION HUMANA

a.- Fisiopatología

La primoinfección corresponde a la multiplicación inicial del virus a nivel de la puerta de entrada en el organismo, la mayor parte de las veces faríngea o genital. Luego de la primoinfección, como todos los Herpesviridae, la información genética persiste en forma permanente. La fase de latencia durante la cual los virus permanecen en

los ganglios sensitivos comprende períodos de reactivación que pueden traducirse por diferentes manifestaciones clínicas: recurrencias; pero pueden ser igualmente asintomáticas y contribuir muy particularmente y de manera insidiosa a la propagación del virus.

b.- Características clínicas

b.1.- Formas clínicas menores

Primoinfección

La primoinfección por HSV1 es frecuentemente inaparente. Puede manifestarse como faringitis o como una gingivostomatitis con o sin aparición de vesículas. Estas manifestaciones se acompañan habitualmente de adenopatías cervicales dolorosas.

La primoinfección por HSV2 es también inaparente la mayor parte de las veces, pero puede manifestarse bajo forma de vesículas y/o ulceraciones.

Recurrencias

En un mismo sujeto, el herpes recurrente se manifiesta prácticamente siempre en la misma zona. Luego de un corto período prodrómico (sensaciones localizadas de ardor, disestesias) las lesiones cutáneo-mucosas van a formar ramilletes de vesículas yuxtapuestas, de contorno policíclico característico, que luego pueden ulcerarse. Las reactivaciones se producen la mayor parte de las veces luego de acontecimientos precisos: exposición a rayos ultravioletas, infecciones bacterianas (neumopatías a neumococo), modificaciones hormonales (herpes catamenial), stress.

Ciertos sujetos presentan recidivas frecuentes. Estas situaciones son bastante mal soportadas y requieren de un tratamiento específico.

b.2.- Formas clínicas graves

Herpes ocular:

Se trata esencialmente de recidivas, a menudo unilaterales, que se manifiestan bajo forma de queratoconjuntivitis. Las lesiones son la resultante de la acción propia del virus y los fenómenos inflamatorios acompañantes pueden afectar la vascularización de la cornea y producir fibrosis de la misma con pérdida de la visión como consecuencia. La administración intempestiva de corticoides locales aumenta considerablemente los daños tisulares.

Encefalitis herpética:

Se trata de una manifestación de reactivación, más frecuente a nivel del adulto. Los dos serotipos de Herpes Simplex pueden estar implicados. Los primeros signos son: pérdida de la atención, somnolencia, y luego desorientación.

El diagnóstico precoz se basa en el electroencefalograma que muestra ciclos de ondas lentas focales. Los más

frecuentes son de región temporal y unilateral. El líquido cefalorraquídeo (LCR) muestra una linfocitosis moderada con proteinorraquia variable y una síntesis precoz de interferón alfa. La precocidad del tratamiento, capaz de detener la evolución de las lesiones necrotizantes condicionará el pronóstico vital y funcional.

Herpes neonatal:

La transmisión del virus se realiza en el período perinatal. La vía transplacentaria podría ser una de las responsables, pero la mayor parte de las veces el virus presente en el tracto genital de la madre se transmite al feto durante el trabajo de parto. Es poco frecuente, pero más severa para la descendencia la primoinfección materna, dada la falta de anticuerpos anti HSV en el feto. De todas formas la mayoría de las infecciones neonatales son asintomáticas, aunque se pueden ver en el recién nacido formas clínicas graves correspondientes a una diseminación del virus. Estas formas graves asocian una erupción generalizada, hepatitis y encefalitis y son por lo tanto mortales.

Se ha informado de un severo retardo del crecimiento fetal intrauterino en mujeres con primoinfección por HSV durante el embarazo. La infección materna primaria antes de las 20 semanas de la gestación se asoció con aborto espontáneo en alrededor del 25% de las mujeres infectadas. La infección fetal generalmente se debe a la diseminación del virus en el momento del parto. Los recién nacidos son los que tienen la más alta frecuencia de compromiso visceral y del sistema nervioso central. Las lesiones de piel son los rasgos más comúnmente reconocidos de la enfermedad. Sin embargo, por lo menos el 70% de los recién nacidos no tratados hacen una enfermedad generalizada. La infección del recién nacido puede prevenirse evitando el parto y realizando una cesárea en el momento del nacimiento.

Herpes en sujetos inmunodeprimidos

Se observan reactivaciones del HSV en todas las circunstancias de déficits inmunitarios (tratamientos inmunosupresores en pacientes que van a ser sometidos a transplante de órganos o en pacientes neoplásicos) y en particular en los casos de SIDA.

Las manifestaciones principales son lesiones cutáneomucosas extensas capaces de poner en juego el pronóstico vital, pero también pueden darse: neumopatías, hepatitis, encefalitis, etc.

El diagnóstico de un toque visceral real no siempre es fácil. Debido a que se trata de una infección latente, con reactivaciones periódicas, la simple presencia del virus a nivel de algunos tejidos no siempre es significativa ella misma de la implicancia del virus en la patología observada, debiendo asociar el hallazgo de laboratorio con la clínica y con la posterior respuesta al tratamiento específico antiviral instituido. El recurso de la biopsia

debería ser obligatorio para establecer el diagnóstico con certeza, objetivando así las lesiones histológicas específicas.

Herpes y cáncer de cuello uterino

Estudios seroepidemiológicos han mostrado una relación significativa entre cáncer de cuello uterino y elevación del título de anticuerpos anti-HSV2. En los epitelomas de cuello de útero se han detectado marcadores de HSV (antígenos precoces o ADN viral). Estos resultados han sido inconstantes según las publicaciones. Trabajos más recientes sobre el rol de los Papillomavirus parecen dar mejores indicios de la implicancia de estos virus en esta patología. El HSV2 sería considerado más como un carcinógeno eventual junto con el Papillomavirus.

V.- DIAGNOSTICO DE LABORATORIO

Diagnóstico directo

Es la puesta en evidencia del virus o de sus constituyentes.

a.- Citología

El examen citológico luego de una valoración simple puede permitir la observación de imágenes que hagan pensar en una infección herpética, tales como el hinchamiento celular en particular, y la marginación de la cromatina, aunque esto no es específico de HSV.

b.- Búsqueda de antígenos virales

-La detección de antígenos virales en las células infectadas puede realizarse en algunas horas. Las células son recolectadas:

- *por raspaje de las lesiones y puesta en suspensión en una solución isotónica;
- *por centrifugación de líquidos biológicos;
- *por aspiración bronquial;
- *por biopsia.

La presencia de antígenos se reconoce con anticuerpos monoclonales (anti-HSV1 y anti-HSV2) conjugados a un fluorocromo o a una enzima que permite visualizar la presencia de aquéllos al microscopio.

-La utilización de los mismos anticuerpos en una técnica inmunoenzimática permite la detección de antígenos solubles extracelulares. Estas técnicas no tienen la sensibilidad del cultivo del virus propiamente dicho, que ofrece la ventaja además de poder testar a continuación la sensibilidad de las cepas aisladas respecto a los antivirales.

c.- Aislamiento en cultivos celulares

- Numerosas líneas celulares son sensibles a los HSV:

En la práctica se pueden utilizar células embrionarias humanas y líneas continuas de riñón de mono. Los HSV son fáciles de aislar; pero además debe disponerse de una muestra correcta: los productos de raspaje de lesiones recientes o los líquidos de aspiración deben ser

enviados rápidamente al laboratorio.

Deben utilizarse medios de transporte adecuados para asegurarse una buena conservación del título infeccioso. La demora en la positivización de los cultivos (de 36 horas a varios días) varía en función de la concentración de partículas infecciosas de la muestra.

- *El efecto citopático (ECP)* produce un hinchamiento celular y el desprendimiento celular progresivo del soporte (botella, microplaca, tubo). Ciertas cepas provocan la formación de sincicios limitados sin embargo, a 5 o 6 núcleos. Se puede esperar la producción del ECP y luego identificar el virus por técnicas de inmunofluorescencia, marcando con anticuerpos monoclonales específicos o se puede utilizar la técnica de cultivo rápido por el método de shell-vial, aumentando la velocidad de adsorción viral por centrifugación y revelando luego sobre el cultivo con anticuerpos monoclonales específicos.

d.- Interpretación de los resultados

-El diagnóstico biológico de una infección por HSV radica antes que nada en la puesta en evidencia del virus (partículas virales infecciosas, antígenos específicos, ácidos nucleicos). Cuando se trata de lesiones cutáneo-mucosas la muestra no presenta dificultad. Es, sin embargo, indispensable obtener muestras de lesiones recientes. Ante una sospecha de toque visceral, deberá considerarse la biopsia, no sólo para poner en evidencia el virus, sino igualmente para demostrar la relación de las lesiones histológicas con la replicación del virus.

-La biopsia cerebral no se realiza actualmente más para el diagnóstico de encefalitis herpética, debido a la aparición de técnicas más recientes como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) que pueden detectar el genoma viral en el LCR. Como existe un tratamiento eficaz y no tóxico, se recomienda comenzar lo más precozmente posible el tratamiento, ante cualquier sospecha (signos electroencefalográficos). El líquido cefalorraquídeo es habitualmente negativo en los cultivos celulares, estando indicada en estas circunstancias el diagnóstico por PCR, como se dijo anteriormente.

La PCR permite detectar también la presencia de HSV en el tracto genital de mujeres que hacen una infección asintomática. La aplicación de la PCR a la detección de secuencias virales en las muestras genitales se presenta como más sensible que el cultivo celular. La PCR se positiviza más tempranamente y se mantiene así por más tiempo, negativizándose durante la reepitelización de las lesiones.

Diagnóstico indirecto

a.- Métodos

Se utilizan numerosas técnicas; las más comunes son las inmunoenzimáticas (ELISA), inmunofluorescencia (IF).

El ELISA y la IF son las más utilizadas y permiten la caracterización de clases de anticuerpos.

b.- Interpretación de resultados

-La cinética de los anticuerpos establecida en base a dos muestras de suero obtenidas una al inicio de la enfermedad y la segunda luego de 5 a 6 días (técnica de ELISA ó IF) pueden permitir objetivar o no la modificación significativa del título (un aumento de 4 veces o más el título entre el suero agudo y el convaleciente).

Esta modificación significativa del título de anticuerpos puede igualmente ser objetivada en el LCR durante el curso de una encefalitis herpética, pero es más tardía que la síntesis de interferón alfa.

-Aparte de esta situación particular, el título de anticuerpos anti-HSV no es interpretable más que en caso de seroconversión, y se dice que es bastante raro poder detectar las manifestaciones de la primoinfección. El herpes recurrente cutáneo-mucoso se acompaña raramente de variaciones en el título de anticuerpos. Contrariamente las variaciones del título (en particular en los inmunodeprimidos) pueden observarse sin traducción clínica.

VI.- TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN

a.- Antivirales

Existen muchas moléculas capaces de inhibir *in vivo* e *in vitro* la replicación del HSV.

-La **5 iodo-deoxyuridina** es incorporada por las ADN polimerasas virales y celulares (poder citotóxico) en lugar de la timidina. Los errores de lectura provocados por esta sustitución explican su actividad. Es posible su utilización local. Es muy activa en forma de colirio en los casos de herpes ocular.

- La acycloguanosina (Aciclovir o Zovirax) posee propiedades remarcables: actúa como inhibidor competitivo de las ADN polimerasas, pero sólo en las células en las que está en curso de replicación el HSV. De hecho, como todos los nucleósidos y sus análogos, esta molécula penetra en las células bajo forma no fosforilada. Sólo las formas trifosfato pueden ser incorporadas por las ADN polimerasas y sólo la timidinkinasa del HSV es capaz de fosforilar eficazmente esta molécula. Serán pues, únicamente las células en las que el HSV se está replicando (en las cuales la timidinkinasa viral es expresada) las que serán afectadas por la acción de este inhibidor. La replicación del ADN viral será detenida. La afinidad de la acycloguanosina es de alrededor de 1000 veces mayor para la timidinkinasa viral que para la timidinkinasa celular, por lo cual se pueden administrar dosis

terapéuticas no tóxicas. Esta propiedad permite igualmente una prescripción considerable en caso de simple sospecha.

Las mutantes HSV resistentes al Aciclovir son mutantes timidinaquinasa negativas (una simple mutación puntual es suficiente). Estas cepas deficientes no son responsables de manifestaciones graves, excepto en las situaciones de toque inmunitario. Es por ello posible utilizar otras moléculas tales como el fosfonoformato (Foscarnet, que actúa desplazando el equilibrio de la reacción de polimerización del ADN).

El Aciclovir intravenoso es el medicamento de elección para el tratamiento de las infecciones graves debidas al virus del Herpes Simplex o de la Varicela Zóster (VZV). El Aciclovir oral es eficaz para tratar las infecciones primarias por HSV; es menos eficaz para tratar las recidivas. Una formulación tópica es mucho menos eficaz que el fármaco oral. La profilaxis a largo plazo con Aciclovir oral puede reducir de forma importante la frecuencia de las recidivas del herpes genital.

El Aciclovir oral puede utilizarse para tratar el Herpes Zóster localizado u oftálmico si se instaura en un plazo de 24 horas desde la aparición de la erupción, reduciendo la gravedad de la varicela en los niños y los adultos. También se ha utilizado profilácticamente para prevenir las infecciones por HSV y Citomegalovirus en los receptores de transplantes.

Efectos adversos: El Aciclovir generalmente se tolera bien. Durante el tratamiento con este fármaco pueden presentarse alteraciones gastrointestinales, cefaleas y erupciones cutáneas. Administrado en forma intravenosa, el fármaco puede producir flebitis e inflamación en zonas de extravasación.

b.- Prevención

-Las formas cutáneo-mucosas multirecidivantes pueden ser consideradas por algunos como graves y beneficiarse de esta forma de una prescripción preventiva a largo plazo. Esta práctica no ha provocado, como podría esperarse, la aparición de mutantes resistentes en los sujetos donde el sistema inmune es competente. Por el contrario, mutantes timidinaquinasa negativas se aislaron en sujetos inmunodeficientes.

-La transmisión posible de un HSV genital de la madre a un recién nacido ha conducido a los obstetras a adoptar diferentes protocolos de vigilancia en el curso del embarazo.

Con la experiencia, la profilaxis actual consiste en preconizar la cesárea cuando hay lesiones de herpes genital en el término del embarazo y la administración sistemática de Aciclovir al recién nacido cuando se observa cualquier elemento sospechoso de infección.

VIRUS DE LA VARICELA Y EL ZOSTER

Los agentes virales etiológicos de la varicela y el zoster fueron cultivados por primera vez por Weller en 1952, quien demostró que según criterios morfológicos, serológicos y de acción citopática estos virus son idénticos. El virus de la varicela zoster (VZV) es un miembro de la familia Herpesviridae, subfamilia Alphaherpesvirinae, junto con los virus Herpes simplex tipo 1 y 2. Dentro de la familia Herpesviridae el virus de la varicela zoster es uno de los más característicos. Más del 95% de las infecciones con el VZV dan como resultado una infección sintomática conocida con el nombre de varicela y más del 90% de las personas que viven en países de clima templado ya están infectadas con el mencionado virus antes de los 15 años. El zoster se debe a la reactivación del VZV en pacientes que ya tuvieron la varicela anteriormente. Alrededor del 10 a 20% de los individuos desarrollan Herpes zoster, ocurriendo la mayoría de los casos en personas añosas. Los pacientes con el sistema inmune comprometido, tales como los pacientes con SIDA tienen una incidencia particularmente alta de infecciones por Herpes zoster. La recurrencia del zoster es poco frecuente, menos de un 4% de los pacientes experimentan un segundo episodio.

Es así que estas enfermedades habitualmente benignas han adquirido gravedad con el desarrollo de las terapéuticas antineoplásicas e inmunosupresoras. Paralelamente se han desarrollado técnicas de laboratorio útiles para el diagnóstico rápido y el examen médico preventivo de sujetos de riesgo.

I.- CARACTERISTICAS DEL VIRUS

I.1. Estructura físico química

-En el plano estructural el VZV no puede ser distinguido de los otros Herpesvirus, su morfología es idéntica al microscopio electrónico. El genoma es un ADN lineal bicatenario de 125 kilobases. Las proteínas incluyen por lo menos 30 polipéptidos de los cuales 5 ó 6 son glicosilados.

-Es un virus frágil, muy lábil a las temperaturas habituales y rápidamente inactivado fuera de las células. El aislamiento del virus necesita de la inoculación sin demora en cultivos de tejido luego de un transporte rápido de la muestra al laboratorio.

I.2. Propiedades antigénicas

Las glicoproteínas del VZV (gpI, II, III, IV) tienen un papel importante en la reacción inmunológica. Ellas ocasionan la formación de anticuerpos neutralizantes, fundamentalmente la gpI, que es la más abundante, la más inmunogénica y está asociada a la citotoxicidad dependiente de anticuerpos. VZV y HSV poseen algunos

determinantes antigénicos comunes, pero no neutralizantes.

I.3. Multiplicación en el laboratorio

El VZV se multiplica en células humanas y la línea diploide de fibroblastos humanos embrionarios MRC5 es corrientemente utilizada para el aislamiento. El ciclo de replicación *in vitro* se parece al de los HSV y es relativamente corto, la maduración aparece alrededor de las 8 a 14 horas, en comparación con 8 horas para el HSV y 96 horas para el CMV. El efecto citopático se localiza en focos y la infección celular es lentamente citolítica. El virus permanece asociado a las células y es liberado al medio extracelular.

II.- EPIDEMIOLOGIA

El VZV es un virus estrictamente humano que existe en forma endémica en el mundo entero.

* La **varicela** se manifiesta por pequeñas epidemias en las colectividades de niños y en las familias, a fines del invierno y en la primavera. Los niños de 6 a 8 años son los más afectados. Las formas inaparentes son raras. En la edad adulta 90 a 95% de los sujetos poseen anticuerpos. Es una enfermedad muy contagiosa, el virus difunde rápidamente a partir de los enfermos hacia los allegados no inmunizados. La transmisión se puede realizar a través de la saliva que es contagiosa a partir de 1 a 2 días antes de la aparición de la erupción y durante los primeros días de la enfermedad. Son sobre todo las vesículas cutáneas las que diseminan el virus durante los 5 primeros días de la erupción. Pústulas y costras son prácticamente no infecciosas y no constituyen una vía habitual de contagio de la varicela.

* El **Zoster** es una enfermedad esporádica que no se manifiesta más que en los sujetos que han tenido la varicela. Se trata de una reactivación viral con expresión clínica. Afecta al 1% de la población cada año y de ese 1%, el 50% tiene más de 50 años de edad. La forma muy localizada de la erupción y la ausencia del virus en las vías aéreas hacen que la contagiosidad sea débil. Sin embargo, las vesículas contienen virus susceptibles para transmitir la varicela a un sujeto receptivo.

III.- INFECCION HUMANA

1. Fisiopatología

* La varicela es la primoinfección por la VZV. El virus se multiplica en la puerta de entrada en las células del tracto respiratorio superior, difunde rápidamente a los tejidos linfáticos y se asocia a las células linfocitarias y luego se generaliza por viremia. El virus de la varicela puede afectar también a órganos blanco, la piel, donde se multiplica en las células de la epidermis provocando lesiones vesiculares características.

Sin embargo, el VZV como el HSV puede persistir en estado latente en los ganglios de las raíces raquídeas posteriores y en los ganglios sensitivos de los nervios craneanos. El mecanismo de latencia es desconocido.

* El Zoster es la forma clínica de la reactivación endógena del VZV. Esta reactivación se produce en general una sola vez en la vida del individuo. Se observa particularmente en sujetos mayores de 60 años. En los sujetos afectados de enfermedades malignas, leucemia, enfermedad de Hodgking y en los inmunodeprimidos pueden existir múltiples recurrencias. Los traumatismos, las enfermedades intercurrentes, las terapéuticas citotóxicas e inmunosupresivas son otros de los factores desencadenantes.

Durante la fase de latencia el virus no ha podido ser aislado jamás de los ganglios en cultivos celulares clásicos, pero en el momento de las reactivaciones se pueden poner en evidencia las partículas virales en las células nerviosas.

El virus reactivado migra a lo largo de las fibras nerviosas sensitivas hasta el territorio cutáneo correspondiente, donde se multiplica de nuevo dando la erupción localizada radicular característica del Zoster. Éste en un adulto joven puede ser un llamado de atención en los sujetos con riesgo de infección por VIH.

2. Características clínicas

2.1. Varicela

2.1.1. Forma común

Luego de una incubación silenciosa de 15 días (10-23 días), el inicio se marca por la aparición de fiebre y de una erupción característica.

* Comienza a nivel de la cabeza (la presencia de elementos en el cuero cabelludo es un buen signo de orientación), luego se extiende al cuello, tronco y extremidades. La evolución se realiza por empujes durante 2-4 días. Los elementos pasan por los estadios sucesivos de mácula, pápula, vesícula, costra. Todos los estadios se presentan en forma conjunta en una misma región. La erupción puede afectar las mucosas respiratorias, digestivas, genitales.

* La evolución es benigna, la curación se produce en 2 semanas sin cicatrices, salvo en caso de lesiones de rascado.

2.1.2. Formas clínicas complicadas

* Aparte del embarazo y de los estados de inmunodepresión las complicaciones son excepcionales, siendo las más frecuentes en el adulto:

- púrpura trombocitopénico en general benigno;

- neumonitis graves a veces acompañadas de hepatitis;

- complicaciones neurológicas. La más frecuente es una ataxia cerebelosa aguda que evoluciona generalmente a la curación.

Más raramente: neuritis óptica, parálisis de los nervios craneanos, meningoencefalitis, excepcional pero de mal pronóstico.

* Las formas malignas pueden desarrollarse en los niños inmunodeprimidos, leucémicos o en niños tratados con corticoides. El aspecto de la erupción es inquietante: varicela hemorrágica, hepatitis, neumonía, pancreatitis, encefalitis, ocasionando la muerte en el 8-15% de los casos.

Varicela del feto y del recién nacido

La varicela de la mujer embarazada es excepcional en razón de la tasa elevada de inmunidad a esa edad (90%), 1 caso cada 4000 o 7000 embarazos. El virus es transmitido al feto por vía transplacentaria en el momento de la viremia.

-La varicela de las 19 primeras semanas del embarazo puede ser responsable de embriofetopatías excepcionales: lesiones cicatrizales cutáneas, hipoplasia de miembros, anomalías oculares, retardo psicomotor.

-Entre las 20-38 semanas de gestación parece no tener gravedad. El feto puede hacer la varicela in útero y nacer normal. La aparición de un zoster en los meses o en los años siguientes revela a veces la infección latente contraída in útero.

-La varicela del final del embarazo es nuevamente un factor de riesgo para el recién nacido.

.Si sobreviene 6-14 días antes del parto, los anticuerpos maternos transmitidos aportan una protección relativa. El niño hace una varicela menor alrededor del 5º día.

.Si sobreviene a menos de 5 días antes del parto o 2 días después, no ha habido transmisión de anticuerpos. El recién nacido puede hacer una forma grave diseminada, entre el 6º y el 10º día de vida.

2.2. El Zoster

El inicio del Zoster se caracteriza por un dolor a distribución radicular que precede en horas o días a la erupción, a menudo acompañado de una adenopatía satélite. La erupción en la cual los elementos son comparables a los de la varicela tiene una disposición metamérica correspondiente al territorio sensitivo de una raíz nerviosa. Los dolores asociados a trastornos de la sensibilidad se intensifican. La erupción evoluciona durante unos 15 días, luego las vesículas se alteran, se recubren de una costra negruzca que posteriormente cae dejando una cicatriz des pigmentada.

Las complicaciones son frecuentes:

-Ligadas a la localización: queratitis en 4 casos de cada 10 Zoster oftálmicos.

-Ligadas al terreno:

-Algias post-zosterianas intensas y durables en el sujeto añoso.

-Diseminación cutánea generalmente sin gravedad en 1-2% de los zoster banales.

-Diseminación visceral, sobre todo en caso de inmunodepresión con hepatitis, neumopatía, encefalitis, pudiendo llevar a la muerte.

El Zoster de la mujer embarazada no es excepcional en razón de la inmunodepresión natural en el curso del embarazo

IV.- DIAGNOSTICO DE LABORATORIO

El cuadro clínico es a menudo evidente, pero hay formas graves, atípicas, sobre todo en los inmunodeprimidos, que pueden complicar el diagnóstico.

Por otra parte, es imperativo confirmar el diagnóstico en aquellos casos susceptibles de transmitir el virus a sujetos de riesgo, inmunodeprimidos, (leucémicos, niños bajo tratamiento con corticoides, mujeres embarazadas). Es importante evaluar la inmunidad al VZV en aquellos sujetos de riesgo para beneficiarlos si es necesario de una profilaxis eficaz con inmunoglobulinas específicas anti VZV.

El laboratorio puede intervenir de dos maneras cuando se instala la enfermedad:

-la búsqueda del virus en las lesiones si la enfermedad evoluciona luego de algunos días.

-la búsqueda de anticuerpos en casos de demanda tardía.

1. Búsqueda del virus

1.1. Muestras

Líquido de las vesículas tomado por punción con jeringa o absorción con un hisopo de algodón, pasándolo por varias vesículas bien evolucionadas.

Raspaje de la base de las vesículas previo levantamiento de la costra y utilización de un medio de transporte adecuado.

Las muestras faríngeas, de sangre heparinizada para búsqueda de viremia son poco utilizadas, excepto en las formas graves en inmunodeprimidos. Y según los casos, LCR, biopsias y necropsias pueden ser necesarias en las formas complicadas.

Estas muestras deben ser procesadas muy rápidamente o ser conservadas a -70°C o -180°C.

1.2. Diagnóstico

-Microscopía electrónica del líquido vesicular: esto muestra la presencia de partículas virales de Herpes, pero no identifica el VZV.

-Demostración de los antígenos del VZV intracelulares por inmunofluorescencia (IF) o inmunoperoxidasa (IP).

Estas técnicas son más sensibles que el cultivo porque ellas permiten poner en evidencia los antígenos cuando el virus infeccioso ya ha desaparecido, por ejemplo, en una muestra tardía más allá del quinto día de la erupción, o de la cual la conservación ha sido defectuosa.

Esto permite también diferenciar erupciones a VZV de erupciones a virus Herpes simplex; sin embargo se necesitan observar por lo menos 20 células en la lámina.

1.3 Cultivo del VZV

* La recuperación del virus en cultivos celulares insume tiempo. Sólo las muestras muy precoces contienen virus infeccioso. La muestra debería ser inoculada lo más rápidamente posible en fibroblastos embrionarios humanos (MRC5). El efecto citopático (ECP) se produce a nivel del núcleo y es característico, se desarrolla en 3 a 7 días. Se pueden detectar los antígenos en el cultivo celular por medio de anticuerpos monoclonales marcados con un fluorocromo o con una inmunoperoxidasa.

* El cultivo acelerado con centrifugación de la muestra sobre el cultivo permite la detección de antígenos precoces con la ayuda de anticuerpos monoclonales marcados con inmunoperoxidasa o con un fluorocromo en 24 a 48 horas.

2. Búsqueda de anticuerpos anti VZV

* Puede ser utilizado para completar los exámenes precedentes, y en todos los casos donde la muestra cutánea no ha podido ser obtenida. Las técnicas de látex, de inmunofluorescencia y de ELISA son las más utilizadas.

-El aumento de AcIgG VZV (mayor o igual a 4 veces el título inicial) entre un suero precoz y un suero tardío (8 a 10 días más tarde) presenta interés dentro de un cuadro de diagnóstico de primoinfección (varicela). En el Zoster el aumento de anticuerpos es más rápido y más elevado.

-Los anticuerpos IgM e IgA son el control de una infección activa. Los anticuerpos IgM están elevados en el curso de la varicela; son inconstantes y débiles en el curso del Zoster. Los anticuerpos IgA están más regularmente elevados en el curso del Zoster.

* El diagnóstico de infección por VZV congénita se basa en el serodiagnóstico porque el virus no ha sido aislado jamás en estos casos.

La presencia de anticuerpos IgM (e IgA) en la sangre del

cordón, la persistencia de anticuerpos IgG más allá de 6 meses, son elementos positivos, pero inconstantes, mismo en los casos donde la infección congénita parece clínicamente evidente.

* El diagnóstico de infección VZV neonatal puede realizarse por la búsqueda del virus en las vesículas y por el aumento de anticuerpos IgM (e IgA) en la semana posterior a la aparición de los síntomas.

* En los sujetos de riesgo, la búsqueda de anticuerpos residuales permite evaluar su inmunidad.

V. TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN

1.- Prevención

-La inmunización pasiva con IgG de convalecientes de Zoster (ZIG) se utiliza con éxito en la prevención de la varicela en sujetos de riesgo.

Parece sin embargo estar desprovista de acción curativa o preventiva en el Zoster. Estas ZIG para ser eficaces deben ser inyectadas dentro de las 72 horas que siguen al contagio y deben ser repetidas si se produce una nueva exposición luego de 4 semanas de la primera inyección. Una vacuna viva preparada con la cepa japonesa OKA, atenuado por pasajes sucesivos en células diploides estará disponible. Esta vacuna se administra en una única inyección de 0.5mL por vía subcutánea. La seroconversión se observa en el 70-100% de los casos. Las reacciones secundarias son raras. Los anticuerpos son mucho más débiles que los anticuerpos naturales y descienden en algunos estableciendo el problema de refuerzos.

2.- Tratamiento

Muy a menudo es sintomático: desinfección de las lesiones, antipruriginosos. En las formas graves, en los pacientes tratados con corticoides, en los inmunodeprimidos puede ser necesario un tratamiento antiviral específico.

-La Acycloguanosina (Aciclovir-Zovirax) administrada por vía intravenosa 10mg/kg 3 veces por día durante 5 días produce acortamiento de la evolución de la varicela y sobre todo controla las complicaciones tan temidas en los inmunodeprimidos.

En el Zoster, se ha observado una disminución de los fenómenos dolorosos de la fase aguda bastante regularmente, pero las algias postzosterianas se mantienen incambiadas. La ausencia de toxicidad importante es una de las ventajas de este medicamento cuya utilización por vía oral brinda también resultados apreciables.

CITOMEGALOVIRUS

I.- INTRODUCCIÓN

El nombre de este virus del grupo herpes viene del hecho

de que las células infectadas aumentan de tamaño en forma manifiesta y concomitantemente presentan inclusiones intranucleares y una voluminosa inclusión intracitoplasmática en la concavidad del núcleo y pericentriolar. Estas células fueron observadas en 1904 en los órganos de lactantes nacidos muertos, pero fue recién en 1956 que Margaret Smith obtuvo la replicación del virus en cultivos de fibroblastos humanos. En 1960 se propuso el nombre de Citomegalovirus (CMV) para reemplazar al de "virus de las glándulas salivales".

La importancia de la patología por CMV se debe por un lado a la transmisión materno fetal del virus y por otro a que él mismo constituye una causa mayor de infección en los enfermos inmunodeprimidos y en los receptores de trasplantes de órganos. Los progresos logrados permiten actualmente dar un diagnóstico en algunas horas y por lo tanto instituir, si se requiere, una terapéutica antiviral precoz y a menudo eficaz.

II.- CARACTERISTICAS DEL VIRUS

El CMV humano se clasifica dentro de la subfamilia de los beta Herpesvirinae, caracterizado por una alta especificidad de huésped, un ciclo de multiplicación largo, y por la existencia de un ciclo latente *in vivo* en numerosas células.

1. Estructura físico-química

-El CMV es un virus de alrededor de 200 nm de diámetro con una cápside icosaédrica constituida de 162 capsómeros, un tegumento y una envoltura.

-El **genoma de ADN** del CMV es el más largo y el más complejo de los genomas de los Herpesviridae, con 240.000 pares de bases y un PM de 155×10^6 daltons. El mismo ha sido secuenciado completamente. Su organización es parecida a aquella de los Herpesvirus (HSV).

Todos los genomas de los CMV humanos tienen por lo menos 90% de homología entre ellos, pero todas las cepas tienen perfiles de restricción diferentes que constituyen marcadores epidemiológicos. Ciertas regiones del genoma del CMV tienen homología con secuencias del ADN celular.

- Las **proteínas estructurales** son numerosas, alrededor de 33.

- La **cápside** está constituida por: 2 proteínas principales: mayor (153 kd) y menor (34 kd), y 2 proteínas pequeñas (de 28 y 11 kd). Posee una proteína básica (52 kd) ligada al ADN y una proteína de 38 kd presente únicamente en las partículas no infecciosas, que contribuye al ensamblaje de las partículas virales. Estas proteínas se organizan en 162 capsómeros.

-El **tegumento** está constituido de 5 proteínas fosforiladas de las cuales dos: pp 150 y pp 65 son muy inmunogénicas.

-**Glicoproteínas de envoltura.** Ellas resultan del clivaje de una poliproteína precursora presente en las células infectadas, pero ausente en los viriones.

Estas glicoproteínas de envoltura son numerosas y portan los epitopos inductores de anticuerpos neutralizantes. Las proteínas de superficie de estos virus igualmente presentes en la superficie de las células infectadas son capaces de:

*Fijar la microglobulina $\beta 2$ ($\beta 2m$) presente en los líquidos orgánicos. El CMV recubierto de $\beta 2m$ podría estar así protegido de los anticuerpos neutralizantes. *In vitro* la $\beta 2m$ aumenta la infectividad de la suspensión viral.

*Fijar las IgG por su fragmento Fc, el cual protege a las células infectadas de la lisis mediada por los anticuerpos en presencia de complemento e impide su reconocimiento por las células citotóxicas.

2. Multiplicación

La infección por CMV es específica de especie. El CMV humano se replica sólo en las células humanas.

La multiplicación del CMV humano es dependiente del tipo celular.

* *In vitro* El fibroblasto embrionario humano es la única célula sensible y productiva.

* *In vivo* Numerosos tipos celulares son infectados: células epiteliales glandulares (riñón, hígado, glándulas salivales, epitelio digestivo, parénquima pulmonar, páncreas), células musculares, óseas, monocitos, linfocitos activos, células endoteliales.

La síntesis de proteínas virales sigue un esquema en cascada, pero el ciclo de replicación del CMV es más largo que el de los HSV, es de 96 a 120 horas.

Se observan sucesivamente:

-Transcripción de ARN mensajeros muy precoces, traducidos en proteínas muy precoces antigénicas (IEA Immediate Early Antigen); ellas inducen el ensanchamiento de la célula y regulan las transcripciones ulteriores.

-Los ARN mensajeros precoces (aparecen entre la 2ª y la 24ª hora) y se traducen en proteínas precoces antigénicas (EA early antigen); ellas están implicadas en el efecto citopático, estimulan la síntesis de ADN, ARN y de proteínas en la célula infectada. Entre ellas se encuentra la ADN polimerasa.

-La replicación del ADN comienza a las 12 horas de iniciada la infección.

-Los ARN mensajeros tardíos son transcriptos en

proteínas tardías antigénicas (LA: late antigen), de las cuales la mayoría son proteínas y glicoproteínas de estructura.

Las nucleocápsides virales aparecen en el núcleo a las 48 horas postinfección en el seno de una inclusión reticulada, luego se envuelven en la hoja interna de la membrana nuclear al migrar hacia el citoplasma. Dentro de la inclusión citoplasmática, ellas adquieren las proteínas del tegumento, cuya síntesis en exceso en los sacos del aparato de Golgi forman los "cuerpos densos", 2 a 3 veces más grandes que los viriones y muy antigénicos. La célula se destruye al cuarto o quinto día.

III.- EPIDEMIOLOGIA

Las infecciones por CMV son frecuentes y ubicuas. La prevalencia de la infección estudiada por la frecuencia de anticuerpos en la edad adulta es tanto más elevada cuando se trata de poblaciones que viven en condiciones socioeconómicas desfavorables.

En Europa nórdica y en Norteamérica, alrededor del 50% de los adultos de 25 a 30 años poseen anticuerpos anti CMV. Por el contrario, en Asia, Africa y América del Sur dentro del mismo rango de edades la cifra puede llegar al 100%.

- El reservorio del Citomegalovirus humano es estrictamente el hombre.

Los sujetos que padecen una infección por CMV o los portadores asintomáticos del virus, que excretan virus por la orina, las secreciones cervicales, el esperma, la leche, la saliva y las lágrimas, son fuente de contagio por contacto directo.

- Existen múltiples modos de transmisión:

1. En el curso del embarazo, la infección puede ser transmitida in útero por vía transplacentaria de la madre al hijo: 1% de los recién nacidos nacen excretando CMV en sus orinas (viruria), y han sido por lo tanto infectados in útero.

2. La transmisión puede ser perinatal, 15% de los lactantes presentan viruria al año. Ellos han adquirido el virus durante el pasaje por el canal del parto, durante la lactancia (30 a 40% de mujeres seropositivas excretan CMV en la leche) o a través de un contacto íntimo con su madre.

3. La infección puede ser adquirida por vía faríngea o genital (la prevalencia de la seropositividad es muy elevada entre los homosexuales y los heterosexuales con gran número de parejas).

4. El CMV puede transmitirse por la sangre (transfusiones abundantes de sangre fresca no deleucocitada).

5. Puede transmitirse también por órganos

transplantados cuando éstos provienen de donantes seropositivos.

IV.- INFECCION HUMANA

1.- Fisiopatología

La historia natural de la infección por CMV consta de una primoinfección seguido de etapas de infección latente con períodos de reactivación o de reinfección. Una persona infectada con una cepa de CMV puede reinfectarse por otra cepa diferente.

- La diseminación de la infección es hematológica

La viremia observada durante la primoinfección o durante un estado de inmunodeficiencia está asociada a la fracción leucocitaria de la sangre. El CMV infecta los linfocitos T y B, los monocitos y los polimorfonucleares. Es a este nivel que se produce la síntesis de IEA y la posterior estimulación de las células mononucleares induce la síntesis de EA, de LA y la producción de viriones.

La infección de las células reticuloendoteliales de los capilares y de las células epiteliales de los canalículos glandulares provoca lesiones de vascularización obliterante e isquémica y focos inflamatorios en los tejidos glandulares respectivamente. Los virus y las células infectadas son excretadas por las secreciones glandulares por períodos prolongados.

- Las reacciones de defensa se basan principalmente en la inmunidad celular

Los anticuerpos séricos neutralizantes no impiden la transmisión de CMV de la célula infectada a la célula contigua por fusión o por citofagia y en presencia de complemento no son reconocidos los lugares blanco de los anticuerpos que provocan la lisis de las células infectadas.

- La infección latente

Los genomas de CMV persisten en los leucocitos periféricos, en las células madre de la médula ósea, en las células reticuloendoteliales, en los macrófagos y en las células epiteliales de tejidos glandulares. Los ARN mensajeros transcritos de genes IE han sido demostrados en forma permanente o intermitente por hibridación *in situ* en 0,1 a 3% de los linfocitos T4 y T8 y en los monocitos de donantes de sangre asintomáticos.

- Las reactivaciones

Se producen con frecuencia:

-Cuando hay reacciones alogénicas (transfusión abundante de sangre, trasplante).

-Cuando hay afectación del sistema inmunitario.

-En caso de déficit de la inmunidad celular y de la administración de terapéuticas inmunosupresoras.

Ellas están marcadas por la intermitencia de la excreción viral, las fluctuaciones de las tasas de anticuerpos en el portador, la observación de estigmas serológicos de replicación activa en los sujetos anteriormente seropositivos (IgM y anticuerpos anti EA) o la observación de episodios de viremias recurrentes en un mismo individuo en el curso de su vida.

- Las reinfecciones

Se demostraron por el aislamiento concomitante de dos cepas que se diferenciaban por el perfil de restricción de sus genomas. Estas cepas fueron aisladas de un mismo sitio o de dos sitios diferentes de un mismo paciente o en dos momentos diferentes de la vida del paciente. Su frecuencia no se conoce.

2.- Caracteres clínicos

Las características clínicas de la infección a CMV dependen del individuo, de su grado de inmunocompetencia, de circunstancias intercurrentes y del modo de contagio.

Las infecciones graves se observan en los fetos y en los recién nacidos, en pacientes afectados de colagenosis, de diabetes, de hemopatías o de cánceres, sujetos esplenectomizados, receptores de tratamientos inmunosupresores y en las inmunodepresiones congénitas o adquiridas (SIDA, receptores de transplante de órganos).

2.1.- Primoinfección

-En la mayoría de los casos la primoinfección no tiene traducción clínica o se acompaña de sintomatología banal (síndrome pseudogripal).

En el 4-9% de los casos se traduce por fiebre, a menudo prolongada (10 días a 3 semanas), sin angina ni adenopatías.

Pueden existir diarrea, artralgias, eritema y una esplenomegalia una de cada tres veces.

Se observa un síndrome mononucleósico sin aglutininas heterófilas, con una leucocitosis aumentada o normal, una inversión de la fórmula leucocitaria, la presencia de células atípicas mononucleares basófilas y a veces una anemia hemolítica y/o una trombopenia.

Como ya se dijo, no se detectan aglutininas heterófilas, considerando que 50% de los síndromes mononucleósicos que cursan sin este tipo de aglutininas son debidos a CMV. Muy a menudo las transaminasas están moderadamente aumentadas.

-La afectación clínica de un órgano es excepcional en el sujeto inmunocompetente (neumopatía, miocarditis, hepatitis, ulceraciones gastrointestinales, meningoencefalitis, polirradiculoneuritis).

La curación lleva de 3-4 semanas; la normalización de los signos biológicos y la desaparición de la fatiga son muy lentas. La excreción viral en la orina es prolongada.

-En la infección a CMV se notan anomalías inmunopatológicas.

Las grandes células mononucleares son los linfocitos T8 activados y la relación T4/T8 está invertida por aumento de los T8 más que por disminución de los T4 durante varias semanas:

-los test de hipersensibilidad retardada son negativos,

.la sensibilidad a las infecciones intercurrentes está aumentada. Los anticuerpos antinucleares, antimúsculo liso, las aglutininas frías, las crioglobulinas, el factor reumatoideo (IgM anti IgG) y los complejos inmunes circulantes también pueden ser detectados.

2.2.- Infección postransfusional producida por CMV

El CMV es responsable del 70% de los síndromes mononucleósicos que sobrevienen 3-4 semanas luego de transfusiones abundantes, en un receptor no inmunizado e inmunocompetente. La infección puede ser grave en el recién nacido, en particular el prematuro nacido de madre seronegativa y exanguinotransfundido con sangre de donante seropositivo. La probabilidad de la infección es de 50% y representa una de las causas de neumopatías mortales observadas al mes de vida.

2.3.- Infección por CMV de la mujer embarazada e infección perinatal

La incidencia de la infección perinatal del recién nacido varía de 0,2 a 2,2%, pero el pronóstico es diferente si la infección resulta de una primoinfección o de una reactivación.

. La primoinfección de la mujer embarazada

Si bien la mayoría de las primoinfecciones de la mujer embarazada son asintomáticas, la viremia que las acompaña puede por vía transplacentaria infectar al feto una vez de cada tres.

Raramente la primoinfección es sintomática (1 de cada 6). El cuadro clínico completo de la infección virémica del recién nacido (enfermedad de inclusión citomegálica) es muy raro, 1 a 5 casos en 10.000 nacidos.

El niño a menudo prematuro presenta signos de una infección generalizada ictero-hemorrágica y/o de una encefalitis. En caso de sobrevida, el lactante permanece con viremia y viruria durante meses. Uno de cada cuatro se afecta de sordera y retardo mental. Pueden existir coriorretinitis o calcificaciones periventriculares.

. Las reactivaciones son frecuentes y asociados la mayoría al 1% de los recién nacidos con viruria al nacer y a menudo no tienen consecuencias.

Sin embargo 5-10% de los recién nacidos infectados pueden presentar posteriormente secuelas neurológicas, de las cuales la más frecuente es la sordera.

. *La infección postnatal* por transmisión del virus de la madre al hijo en el curso de la lactancia es casi siempre asintomática. Sin embargo, es una de las causas de neumopatías de la 4ª a la 12ª semana.

2.4.- *Infección por CMV en el curso de hemopatías malignas*

Se observan luego de 2-8 semanas de una quimioterapia por reactivación de virus endógeno o por aporte de sangre contaminada por el virus. Pueden acarrear una fiebre de aspecto septicémico, con aumento de transaminasas, neumopatía intersticial y/o pancitopenia.

2.5.- *Infección por CMV en receptores de trasplante de órganos*

Estas infecciones ocupan uno de los primeros lugares dentro de las complicaciones infecciosas de los transplantados.

Se puede tratar de:

- *Primoinfección (PI)*: sujetos seronegativos que reciben un órgano de un donante seropositivo. Un 70% a 90% de los transplantados renales en esta situación desarrollan primoinfección.

- *Reactivación*: se trata de un receptor seropositivo antes del trasplante que reactiva los virus endógenos y latentes a causa de la inmunodepresión.

- *Sobreinfección*: receptor seropositivo sobreinfectado por la cepa del donante seropositivo. Los sujetos transplantados pueden también ser infectados por el CMV transmitido en el curso de una transfusión sanguínea.

La incidencia de la enfermedad por CMV no es la misma en los 3 casos citados:

- . 60% en pacientes con PI
- . 20% en caso de reactivación
- . 40% en caso de sobreinfección

La infección a CMV aparece entre el primer y el cuarto mes posterior al trasplante. Su expresión es muy variable. Puede ser asintomática presentando sólo una viremia y una viruria o puede presentarse como una enfermedad de expresión variable. Entre los síntomas más frecuentes citamos: fiebre prolongada, neutrotrombopenia, toque digestivo y coriorretinitis.

Más raramente pueden desarrollar neumopatía intersticial que es la más frecuente de las formas graves de infección por CMV en el paciente transplantado.

El tipo de trasplante juega un papel especial, en los trasplantes de riñón la infección a CMV se observa en

el 70% de los casos; es asintomática en el 50%. Hay una correlación entre el rechazo al trasplante renal, la aparición de reacción del injerto contra el huésped y la aparición de una infección por CMV.

In vitro la infección por HIV aumenta la replicación del CMV haciendo pensar en la posibilidad de una interacción CMV-HIV bidireccional.

2.6.- *Oncogenicidad del CMV*

La presencia del CMV o de su genoma ha sido detectada en cánceres de próstata y de cuello de útero, en adenocarcinomas de colon y en sarcomas de Kaposi.

Dos regiones del genoma del CMV son capaces de inducir la transformación de células de roedores en células tumorales. Ninguna de estas observaciones permite concluir que el CMV es el iniciador de tumores malignos.

Además podría también ser un carcinógeno por el hecho de su acción inmunosupresora.

V.- DIAGNOSTICO DE LABORATORIO

a.- *Métodos directos*

1. *Puesta en evidencia del virus o de sus estructuras*

La infección por CMV se pone en evidencia al microscopio óptico por las preparaciones citológicas o histológicas. Se pueden observar células gigantes con una inclusión intranuclear en "ojo de pescado" en las orinas de los recién nacidos afectados de citomegalia generalizada, en los líquidos amnióticos, en los lavados bronquio-alveolares y en las biopsias de órganos.

1.1. *Detección directa de antígenos por inmunomarcado*

La sensibilidad y la especificidad del examen microscópico puede ser aumentada por el empleo de anticuerpos anti-CMV, detectando los antígenos de CMV intranucleares por un método inmunocitoquímico.

La detección de antígenos de CMV intracelulares por las técnicas de inmunofluorescencia o de inmunoperoxidasa son realizables a partir de muestras de orina, de aspirados bronquiales, de lavados bronquioalveolares, de los leucocitos y de las biopsias.

Esta metodología es muy interesante por su simplicidad y se ha transformado en muy específica por la utilización de anticuerpos monoclonales anti CMV marcados con un fluorocromo o con enzimas. Existen sin embargo grandes variaciones de sensibilidad según el tipo y la calidad de la muestra.

Para las muestras respiratorias, el lavado bronquioalveolar da a menudo mejores resultados que la biopsia pulmonar porque con él se pueden recolectar más fácilmente células infectadas (células de los bordes de los alvéolos) y se utiliza además un proceso de

concentración celular (citocentrifugación).

La sensibilidad de esta técnica en comparación con los cultivos celulares varía con la patología, siendo del 22% al 75% dentro de las neumopatías de los transplantados, a casi 100% en los casos de SIDA. La detección de antígeno de CMV no es realizable en las orinas donde los antígenos virales están enmascarados por la β 2 microglobulina. La búsqueda directa de los antígenos de CMV en los leucocitos circulantes tiene el mismo valor que una viremia en cultivo, pero es mucho más eficaz dado que se trata de un diagnóstico rápido.

1.2. Detección de genomas de CMV por hibridación molecular

El desarrollo de técnicas de hibridación molecular para el diagnóstico de infección por CMV ha sido limitado durante mucho tiempo por las molestias ocasionadas por la manipulación de productos radioactivos en los laboratorios de diagnóstico y por el gran tamaño del genoma del CMV y su homología de secuencia con los genomas humanos y con los de otros Herpesvirus. Recientemente se dispone de sondas muy específicas así como de sistemas de marcación no radioactivos.

Esta técnica tiende a ser sustituida por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), debido a la mayor simplicidad para la realización de esta última.

1.3. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Esta técnica es de particular interés cuando la cantidad de genoma viral es muy escasa en la muestra. Su fundamento consiste en amplificar millones de veces una porción bien delimitada del genoma viral. De esta forma dicho genoma puede luego ser detectado por una sonda específica marcada. El ADN amplificado se separa en un gel de agarosa por electroforesis donde se visualiza una banda característica con tinción de bromuro de etidio y transiluminación ultravioleta. El ADN es luego transferido a una membrana de nylon e hibridado con la sonda específica marcada con digoxigenina. La utilización por último de un anticuerpo anti-digoxigenina marcado con fosfatasa alcalina permite la detección del producto de hibridación.

La PCR se presenta como una técnica muy sensible para la detección de la infección, aún cuando ésta persista en forma latente. Presenta utilidad también para estudios de epidemiología molecular, es decir determinar si las cepas del virus que circulan en un grupo determinado corresponden o no todas a un mismo perfil de restricción.

1.4. Aislamiento en cultivo celular

- Es el método de referencia. El aislamiento del virus se puede realizar en la línea diploide de fibroblastos humanos embrionarios (MRC5) a partir de muestras transportadas en un medio para mantenimiento

de la viabilidad viral. Esas muestras pueden ser: orinas, aspirados nasales o bronquiales y lavados bronquioalveolares. Otro tipo de muestras a procesar pueden ser: sangre heparinizada en tubo estéril, LCR, biopsias pulmonares o intestinales.

Para la búsqueda de viremia, se recolecta la capa leucocitaria total de 10 ml de sangre heparinizada. El virus es aislado de los leucocitos por cocultivo con células sensibles.

El aislamiento del CMV necesita preservar el poder infeccioso de este virus frágil por medio de una inoculación sin demora en los cultivos celulares.

- Clásicamente la presencia de CMV se revela por aparición de un efecto citopático (ECP) característico: focos de células ovals voluminosas, refringentes, de crecimiento lento según el eje mayor de los fibroblastos, aunque las lesiones celulares no son visibles antes de 1 a 2 ó 3 semanas y la contaminación bacteriana irreductible de ciertas muestras puede hacer inútil el cultivo o dar un falso negativo.

- La búsqueda de antígenos precoces o muy precoces del CMV se realiza luego de 2-3 días del cultivo por inmunomarcación con la ayuda de uno o varios anticuerpos monoclonales anti CMV marcados con un fluorocromo o con enzimas. Esto permite detectar la presencia del virus antes de la aparición de ECP. La sensibilidad del método aumenta 4 veces por centrifugación de la muestra sobre los cultivos celulares. Alcanza o supera la sensibilidad de los cultivos clásicos para los lavados bronquioalveolares, los leucocitos y las orinas. Muchos elementos ligados a la muestra pueden entorpecer la técnica: inóculo celular insuficiente (leucopenia), toxicidad para las células del cultivo y contaminación. Este examen representa una de las llaves importantes para el diagnóstico de infección activa, invasiva por CMV (la puesta en evidencia de una viremia por medio del aislamiento del CMV a partir de leucocitos demuestra una citomegalia generalizada resultante de una multiplicación viral). El CMV también se puede aislar a partir de otras muestra (orina, secreciones faríngeas) cuando el paciente cursa una infección viral activa, pero su valor diagnóstico es menos formal porque puede revelar simplemente una excreción crónica o intermitente en un "portador sano", contaminador potencial.

b.- Métodos indirectos

Búsqueda de anticuerpos

Además de las reacciones clásicas (fijación de complemento, inmunofluorescencia) los tests más utilizados actualmente son la hemoaglutinación pasiva (IgG) y los tests inmunoenzimáticos, ELISA (IgG e IgM). Los tests de ELISA son muy sensibles. Existen numerosos kits comerciales y una cierta variabilidad de

resultados de la serología según un kit u otro.

Esto está ligado a su vez al número y a la complejidad de los antígenos de CMV, a la respuesta heterogénea de los individuos, a la cepa y al modelo de preparación del antígeno utilizado en el test.

-Las IgG anti-CMV pueden testimoniar el estado de un portador latente del virus. Permiten reconocer el estado inmunitario de un donante de sangre o de órganos y el de su receptor, distinguiendo los sujetos seropositivos de los seronegativos. Estos anticuerpos aumentan en las infecciones primarias y en las recidivas. Los valores próximos al umbral de reacción deben ser controlados (repetición del test, control de antígenos).

-La búsqueda de IgM anti-CMV debe preferencialmente recurrir a una técnica de inmunocaptura para evitar ciertas reacciones falso positivas (factor reumatoideo, anticuerpos antinucleares) o falso negativas (competición por el antígeno). Los anticuerpos IgM anti-CMV demuestran en general una infección viral activa, sin prejuzgar su localización. Son detectables en infecciones primarias, a veces en recidivas y pueden faltar en los sujetos inmunodeprimidos o ser inespecíficos.

c.- Indicación de exámenes

-El diagnóstico de una primoinfección se confirma por la seroconversión de anticuerpos IgG y/o la aparición de IgM anti-CMV en un paciente virémico o excretor.

-El diagnóstico de infección latente para buscar individuos potencialmente transmisores se basa por el instante en la presencia de anticuerpos séricos IgG o totales. Todo donante seropositivo es considerado *a priori* como un transmisor potencial.

-El diagnóstico de infección congénita se basa en:

*Detección de viruria en la primera semana de vida. Cuando la infección es importante y generalizada, el título de virus en la orina es a menudo muy elevado, pero la prueba de una citomegalovirus generalizada se basa en la detección del virus en la sangre, el líquido cefalorraquídeo (LCR) y otro órgano que no sea el riñón o la parótida;

*La búsqueda de IgM específica en la sangre del cordón o en el recién nacido.

-El diagnóstico de infección en el inmunodeprimido se basa fundamentalmente en la detección del virus en los leucocitos o en el lavado bronquioalveolar.

La aparición de una excreción viral o de una respuesta serológica tienen un valor relativo.

El riesgo de infección por CMV es muy elevado en los transplantados, por lo cual es necesaria una vigilancia periódica.

VI.- TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN

1.- Prevención

-Las vacunas están en estudio, pero la protección contra una infección en la cual la inmunidad no previene la reinfección es un problema aún no resuelto.

-Las mujeres embarazadas, los recién nacidos, los inmunodeprimidos y los receptores de trasplantes, los esplenectomizados, sobre todo si son seronegativos no deben recibir más que sangre de personas seronegativas o sangre previamente delecocitada por congelación-descongelación, o mejor por filtración.

-Las gammaglobulinas a títulos neutralizantes elevados, administradas en dosis altas (100 a 150mg/kg) a los receptores seronegativos disminuyen la incidencia de primoinfecciones.

2.- Tratamiento

a.- **GANCICLOVIR** (9-(1,3-dihidroxi-2-propoximetil)-guanina o DHPG sintetizada en 1983 es un análogo nucleosídico de la guanina. En las células es trifosforilada a una forma activa (DHPG-TP) por las quinasas celulares.

La DHPG-TP inhibe la ADN polimerasa viral:

-inhibiendo de forma competitiva la incorporación del nucleótido fisiológico (2-deoxyguanosina) en la cadena de ADN viral;

-una vez que el DHPG se incorpora en la cadena de ADN viral, ésta disminuye e incluso detiene su elongación;

-el DHPG tiene una acción selectiva:

*porque se fosforila 10 veces más en las células infectadas por CMV que en las células no infectadas;

*porque inhibe mucho más la ADN polimerasa viral que la ADN polimerasa celular.

-el DHPG-TP es catalizado lentamente porque su vida media intracelular *in vitro* es superior a 18 horas. Se indica en el tratamiento de las formas graves de infección a CMV y en los inmunodeprimidos.

Actualmente existe sólo la forma intravenosa, dado que la forma oral está en ensayo.

El DHPG inhibe o disminuye la replicación viral, pero no suprime el virus

En los pacientes tratados se observa en general una negativización de la viremia en 8 días promedio.

TABLA II

Antígenos del EBV	Denominación	Localización	Funciones conocidas
Antígenos de latencia	EBNA1 EBNA2 EBNA 3 (3A) ENBA 4 (3B) EBNA 5 (LP) EBNA 6 (3C) LMP	Núcleo Núcleo Núcleo Membrana celular	Mantenimiento de forma episódica Inmortalización Mantenimiento de la latencia Asociación al citoesqueleto, correlación con la aparición de proteínas de adhesión celular
	Antígenos precoces	EA (R) EA (D)	Citoplasma Núcleo y Citoplasma
Antígenos tardíos	VCA LMA	Núcleo y Citoplasma Membrana celular	Proteínas estructurales de la cápside Fijación sobre el receptor celular y penetración

Tomadas de Virologie Médicale, A.Mammette, EDITONS C. Et R., 14ª edición, 1992

-Se obtiene una gran eficacia en el tratamiento de las coriorretinitis del SIDA, donde se observa en el 80% de los enfermos tratados una respuesta favorable. La frecuencia de recaídas, de alrededor de un 40% luego de suspender el tratamiento impone muy a menudo un tratamiento de mantenimiento muy prolongado.

-El tratamiento de las colitis por CMV con DHPG está en curso de evaluación.

-Las neumopatías a CMV de los transplantados renales responden bien al DHPG; los transplantados de médula ósea son menos sensibles. En el curso de los trasplantes de corazón y de médula ósea los ensayos de tratamiento profiláctico están en estudio para evaluar la posibilidad de prevenir las infecciones graves a CMV.

-Los efectos secundarios esenciales son la neutropenia y en menor grado una trombopenia, lo que hace que actualmente en el SIDA no se recomiende asociar el AZT con DHPG. La aparición de cepas resistentes al DHPG se ha descrito en alrededor del 8% de los enfermos tratados por más de 3 meses. Las mutantes resistentes nunca son fosforiladas, ellas siguen siendo sensibles al FOSCARNET.

b.- FOSFONOFORMATO o PFA o FOSCARNET.

Es un análogo de los pirofosfatos y actúa directamente sin fosforilación, inhibiendo la ADN polimerasa viral. Se utiliza menos que el DHPG aunque haya demostrado una actividad antiviral similar al mismo en el tratamiento de las coriorretinitis a CMV. No se utiliza más que por vía intravenosa. No ocasiona neutropenia, pero por el contrario es nefrotóxico.

VIRUS DE EPSTEIN-BARR

1. INTRODUCCION

El virus de Epstein-Barr (EBV) es el agente de la mononucleosis infecciosa. Induce linfomas en los pacientes inmunodeprimidos y se asocia a dos tumores, el linfoma de Burkitt y el carcinoma rinofaríngeo indiferenciado.

En 1958 Burkitt describió un linfoma maligno en Africa, en el cual la distribución geográfica parecía orientar a una transmisión por vectores y por virus.

En 1964 Epstein, Achong y Barr cultivaron *in vitro* células de linfoma de Burkitt y descubrieron partículas virales de tipo herpes al visualizarlas al microscopio electrónico.

En 1966 W. y G.Henle utilizaron como antígenos las células infectadas, detectando anticuerpos elevados en los sueros de pacientes con linfoma de Burkitt. Esos antígenos también fueron reconocidos por anticuerpos existentes en el suero de pacientes que habían padecido una mononucleosis infecciosa (MI). Los mismos autores encontraron que alrededor del 90% de los habitantes de Estados Unidos de Norteamérica poseían esos anticuerpos anti-EBV.

Estudios seroepidemiológicos también sugirieron la relación entre el virus de Epstein-Barr y el carcinoma rinofaríngeo indiferenciado. La capacidad de este virus

TABLA I

Nomenclatura de los antígenos EBV

- EBNA: Antígenos nucleares del EBV
- LMP: Proteínas de membrana latente
- EA: Antígenos tempranos
- VCA: Antígenos de la cápside viral
- LMA: Antígenos de membrana tardíos

TABLA III

					REACTIVACION	
	Puerta de entrada	Primoinfección	Latencia	Reactivación factores favorecedores	Inmuno competente	Inmuno deprimido
E B V	oral	-asintomática -mononucleosis infecciosa -fiebre prolongada	-linfocitos B -células epiteliales -rofaríngeas	Inmunodepresión	Fiebre prolongada	excreción por saliva linfoproliferación

Tomada de Virologie Médicale, A.Mammette, EDITIONS C. Et R., 14a edición 1992

de immortalizar linfocitos B *in vitro* y de inducir linfomas en primates llevó a considerar el EBV como un potencial agente oncogénico en el hombre. Estudios más recientes lo han relacionado con una gran variedad de cánceres linfoides.

2. CARACTERISTICAS DEL VIRUS

a. Estructura físico química

El virus de Epstein-Barr posee la morfología y la estructura general de los miembros de la familia Herpesviridae.

Su genoma está compuesto de un ADN doble cadena de un poco más de 172.000 pares de bases.

b. Multiplicación *in vitro* y caracteres antigénicos

A diferencia de muchos otros virus, en la replicación del EBV se pueden observar dos situaciones totalmente diferentes:

1. la infección conduce a un ciclo replicativo, terminando en la producción de nuevos viriones y la lisis celular, o
2. puede darse una proliferación celular continua donde sólo los genes virales de latencia son expresados. Mientras que *in vivo* el EBV puede infectar tanto los linfocitos B como las células epitaleales de la orofaringe, *in vitro* las únicas células blanco son los linfocitos B del hombre y de algunos primates.

El tropismo por los linfocitos B del EBV se debe a la expresión de un receptor de superficie específico a nivel de dichos linfocitos, el antígeno CD 21 o CR21, que puede unirse al EBV y al componente C3d del complemento. La partícula viral se absorbe por su glicoproteína de envoltura gp 350/300 a los mencionados receptores; la fusión entre la envoltura viral y la membrana plasmática externa de la célula hace penetrar la nucleocápside dentro del citoplasma. Luego de la decapsidación, el complejo núcleo proteico es transportado al núcleo donde va a comenzar la síntesis viral.

La falta de expresión del receptor CR21 en las células epiteliales hace pensar que un receptor de alternativa es responsable de la infección de las mismas.

b.1. Inmortalización por el EBV

En el caso de los linfocitos B infectados *in vitro* sólo las proteínas "muy tempranas" serán sintetizadas: ellas corresponden a genes asociados a la latencia viral y están constituidas por antígenos nucleares (los EBNA) y los antígenos de membrana (tablas I y II).

Esta interacción EBV linfocitos B puede llevar a la transformación celular. Algunas de las células infectadas por el EBV que contienen muchas copias del genoma viral proliferan hasta el infinito y el conjunto constituye una línea linfoblastoide humana o población linfocitaria inmortalizada por el EBV. Estas células no presentan ningún carácter de malignidad y conservan en los cultivos la mayor parte de los caracteres geno- y fenotípicos de las células iniciales, por ello las líneas linfoblastoides ofrecen aplicaciones importantes en tanto que son banco de células, por ejemplo, para el estudio de enfermedades genéticas. Estas células inmortalizadas, luego del clonaje son utilizadas para producción de anticuerpos monoclonales humanos.

b.2. Producción de nuevos viriones

El ciclo replicativo completo del virus en los linfocitos es un fenómeno raro.

Luego de la síntesis de las proteínas asociadas a la latencia, las proteínas llamadas precoces (antígenos EA), particularmente las enzimas necesarias para la replicación del ADN viral entran en juego y van a permitir la producción de nuevos genomas virales. Al final aparecen las proteínas de estructura (antígenos VCA y LMA).

La nucleocápside ensamblada en el núcleo va a salir por brotación a través de las membranas nucleares o intracitoplasmáticas y el virión terminado en el citoplasma abandona la célula produciendo la lisis celular. Esta producción viral, consecuencia de la lisis celular se produce fundamentalmente *in vivo* en las

células epiteliales de la orofaringe y de las glándulas salivales.

b.3. Poder patógeno experimental

Está limitado a ciertos primates en los cuales provoca una infección inaparente o un linfoma.

3. EPIDEMIOLOGIA

En la mayoría de los casos la infección viral es inaparente. El EBV infecta a más del 95% de los individuos adultos. La primoinfección es tanto más precoz cuanto más precarias son las condiciones socioeconómicas, en estos casos la edad más frecuente es entre 1 y 4 años. Al contrario, en las clases socioeconómicas privilegiadas en países industrializados sólo el 50% de los niños de 5 años poseen anticuerpos, y la infección primaria se retarda a menudo hasta la adolescencia o se ve en el adulto joven. Alrededor de la mitad de estas infecciones primarias tardías (luego de 15 años) son infecciones sintomáticas en las que la forma común es la mononucleosis infecciosa (MI). Esta MI se ve a menudo entre los 15 y 30 años y, en menor grado, en el niño, pero existe también en el adulto y en la persona añosa.

En los individuos infectados el virus se encuentra en la saliva, pudiendo excretarse allí por mucho tiempo luego de la curación. Es un virus muy frágil que necesita para su transmisión un contacto estrecho entre los individuos, por ejemplo, por intermedio de la saliva. En el niño la transmisión se hace a partir de la madre o de otros niños por los objetos cubiertos de saliva o por el beso. En el adulto joven el contagio se produce

muchas veces a partir del beso, motivo por el cual la enfermedad se conoce con el nombre de "Enfermedad del beso". El virus puede ser transmitido también por transfusiones sanguíneas y por concentrados globulares.

4. INFECCION HUMANA

a. Fisiopatología

El virus penetra a nivel de la orofaringe donde se multiplica, afectando rápidamente a los linfocitos de la sangre circulante. Este período corresponde a la incubación que dura entre 30 y 50 días, aunque a menudo algo menos en los niños.

Los linfocitos infectados, entre los cuales se encuentra un reducido número de linfocitos B, contienen el genoma EBV y expresan todos los antígenos asociados a la latencia, los EBNA y los antígenos de superficie LMP. Estos antígenos de superficie provocan la aparición en el organismo de una reacción importante de linfocitos T que va a destruir específicamente a los linfocitos B infectados. Estos linfocitos T activados constituyen la mayor parte de los "linfocitos atípicos" circulantes.

Es esta respuesta inmune mediada por células, la que origina un cierto número de signos clínicos de la mononucleosis infecciosa (adenopatías, síndrome

mononucleósico, angina). La MI es, de hecho, una enfermedad linfoproliferativa generalizada y transitoria, en general benigna, que afecta todos los tejidos linfoides, en particular las amígdalas, los ganglios y el bazo.

Luego de una infección sintomática la inmunidad contra una reinfección es duradera, lo mismo que luego de una infección inaparente. El virus persiste en forma latente a nivel de la cavidad bucal (excreción crónica de viriones en la saliva), fuente posible a partir de la cual los linfocitos B se infectarían y se inmortalizarían regularmente. Es así que la infección de los epitelios por EBV es de fundamental importancia por dos causas:

1. Es el lugar donde se produce la primoinfección, y
2. Es a partir de los mencionados epitelios donde se mantiene la persistencia viral en el huésped inmune.

Debemos destacar que habitualmente no se detectan partículas virales en la sangre de los enfermos (Tabla III).

b. Características clínicas

A pesar de que la mayoría de las infecciones primarias por EBV son asintomáticas, aquellas que resultan en una mononucleosis infecciosa pueden dar lugar a síntomas clínicos que pueden durar semanas y aun meses. Este cuadro se observa con mayor frecuencia en adolescentes y adultos jóvenes, siendo raro en niños y en personas mayores de 30 años. Comienza a menudo en forma progresiva asociada a 3 signos clínicos: fiebre, angina y adenopatías. Frecuentemente se acompaña de astenia, y en un 50% de los enfermos se puede observar una esplenomegalia 2 a 3 semanas luego del inicio de los síntomas. Luego de la clásica ruptura esplénica pueden aparecer complicaciones de orden hematológico o neurológico. Además de los tres signos clásicos pueden observarse también signos como ictericia o erupción. Si evoluciona sin complicaciones la curación se puede dar en 2 a 3 semanas.

La infección por EBV puede ser muy grave en los niños que padecen déficits inmunitarios. Dicha infección puede causar linfos malignos no hodgkinianos y más raramente neumonía intersticial en el curso de inmunodepresiones adquiridas como los trasplantes de órganos y el SIDA.

c. Enfermedades malignas asociadas a EBV

En muchos de los linfomas inmunoblásticos de los inmunodeprimidos se han asociado dos enfermedades malignas con el EBV:

c.1. Linfoma de Burkitt

En las zonas endémicas como Africa se ha descrito en niños entre 3 y 10 años con localización anatómica fundamentalmente a nivel maxilar o abdominal. Esto se debe a la proliferación cancerosa de una clona de linfocitos B que a menudo contienen el genoma del EBV. Los criterios de asociación de este tumor con el EBV se basan en:

-la presencia del ADN viral y del antígeno EBNA en las células cancerosas (no se han detectado viriones en

ellas), y

-la presencia de anticuerpos humorales a títulos elevados contra los antígenos VCA y EA.

En zonas endémicas el linfoma de Burkitt está asociado al virus EBV en el 96% de los casos.

-Los linfomas de Burkitt de **zonas no endémicas** como Europa o Estados Unidos (zonas de bajo riesgo) están asociados al virus EBV sólo en el 15% de los casos, mientras que los linfomas de Burkitt diagnosticados en los sujetos seropositivos HIV son el 50% de los casos en las mencionadas regiones. Las células malignas del linfoma de Burkitt asociadas o no a EBV contienen todas un marcador cromosómico, es una traslocación que implica siempre al cromosoma 8, y a los cromosomas 2, 14 o 22. Esta reorganización cromosómica lleva a una desregulación del oncogen c-myc presente en el cromosoma 8.

c.2. Carcinoma rinofaríngeo

La asociación del EBV con el carcinoma rinofaríngeo se demostró en una primera instancia por la serología, pero posteriormente se confirmó por la demostración de DNA del EBV en material biopsico de dichos carcinomas. Este carcinoma es particularmente frecuente en el sur de China y en el sudeste asiático.

La célula cancerosa es también una célula epitelial, pero el tumor está infiltrado de numerosos linfocitos.

Los criterios de asociación entre este tumor y el EBV se basan, como para el linfoma de Burkitt:

-en la presencia de ADN viral y de antígeno EBNA en las células cancerosas, y

- en títulos muy elevados de anticuerpos VCA y EA. Una característica importante es la presencia de anticuerpos VCA (yEA) séricos pertenecientes a la clase IgA.

El carcinoma de cavum en su forma histológica indiferenciada está asociada en un 100% de los casos a EBV. Existe además una predisposición genética (casos familiares, frecuencia en ciertas etnias, asociación con algunos grupos HLA), pero son fundamentalmente factores alimentarios los que parecen jugar un rol importante en la aparición del cáncer.

5. DIAGNOSTICO DE LABORATORIO

a. Diagnóstico no específico

a.1. El síndrome mononucleósico

Es constante en el curso de la mononucleosis infecciosa y está a menudo presente desde el inicio de la enfermedad. Más del 50% de los leucocitos totales son células mononucleares blásticas con citoplasma hiperbasófilo).

Existen **otros agentes** que pueden provocar síndrome

mononucleósico: Citomegalovirus, virus de la rubeola, Adenovirus, Toxoplasma gondii.

a.2. Anticuerpos heterófilos en la mononucleosis infecciosa

Los anticuerpos heterófilos aparecen en un 60 a 80% de las mononucleosis infecciosas. Estos anticuerpos heterófilos aglutinan glóbulos rojos de carnero, de caballo y de buey. Para eliminar del suero anticuerpos heterófilos no asociados a la mononucleosis infecciosa, debe absorberse el suero antes de la búsqueda de estos anticuerpos heterófilos: es la reacción de Paul-Bunnell-Davidsohn. Estos anticuerpos son IgM, aumentan en 2 a 4 semanas y desaparecen en 1 a 3 meses. Se observan con más frecuencia en el adolescente o en el adulto joven que en el niño pequeño.

En la práctica se realiza de entrada una reacción cualitativa en lámina, el Monospot test (MNI test).

En general no se observan falsos negativos debidos a la técnica. Los falsos positivos son controlados por la reacción cuantitativa en tubo de Paul-Bunnell-Davidsohn n propiamente dicho.

Si el título luego de la absorción es superior a 1/56, significa que es una mononucleosis infecciosa reciente. Estos anticuerpos no son específicos de EBV, pero son un buen signo de mononucleosis infecciosa cuando existen, porque no se los encuentra más que en el curso de síndromes mononucleósicos debidos a EBV.

a.3. Otras anomalías biológicas que se observan a menudo:

-transaminasas algo elevadas en el 90% de los casos,
-anticuerpos diferentes no específicos del virus aparecen con frecuencia: crioglobulinas, anticuerpos antinucleares, antimúsculo liso, factor reumatoideo.

b.1. Un perfil serológico característico de una infección por EBV precoz da un diagnóstico con certeza en la mayoría de los casos

De hecho, los anticuerpos dirigidos contra los diferentes antígenos EBV aparecen en el curso de la primoinfección según una cinética determina. (Figura 1). Los anticuerpos antiVCA (contra los antígenos de la cápside) son detectados por inmunofluorescencia sobre una línea linfoide productora de viriones.

Los anticuerpos antiVCA aparecen en todas las primoinfecciones a EBV; a menudo ya están presentes desde el inicio de los signos clínicos, por lo cual es raro que se pueda poner en evidencia una seroconversión o un ascenso del título de anticuerpos. Estos IgG antiVCA persisten probablemente toda la vida. Como evolucionan paralelamente a los anticuerpos neutralizantes, ellos representan un buen control de inmunidad si existen, o de posibilidad de recepcionar la infección si no existen.

Los anticuerpos antiEBNA (contra los antígenos nucleares) se detectan por inmunofluorescencia anticomplemento sobre las células de una línea linfoide

no productora de viriones. Los anticuerpos antiEBNA aparecen luego de todas las infecciones a EBV, pero tardíamente, nunca antes de 1 a 3 meses y persisten toda la vida. Ellos están siempre ausentes durante la fase aguda de la primoinfección.

Los anticuerpos antiEA (contra los antígenos precoces) aparecen precozmente y desaparecen en algunos meses, pero sólo en el 70% de las mononucleosis infecciosas.

Es importante determinar el título de anticuerpos, porque los títulos elevados de antiVCA y/o de antiEA pueden indicar en un sujeto inmunodeprimido una reactivación viral.

Actualmente la inmunofluorescencia da una imagen más precisa de la intensidad de la respuesta de anticuerpos que las técnicas inmunoenzimáticas como el ELISA.

b.2. Existen otros métodos de diagnóstico:

Se pueden utilizar otros métodos como el cultivo en linfocitos, la hibridación molecular, etc. Sus indicaciones están limitadas a casos particulares: formas crónicas, reactivación, cánceres, etc.

6. TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN

Como la infección primaria por EBV no necesita, en general, tratamiento, se han considerado algunas terapéuticas en el caso de linfoproliferaciones graves.

Una vacuna en estudio, constituida por antígeno de membrana (gp350), no debería administrarse más que a la población con riesgo de cáncer asociado a EBV.

HERPESVIRUS HUMANO TIPO VI

El HHV6 fue descubierto en forma fortuita en 1986, en los cultivos de linfocitos sanguíneos periféricos utilizados en la búsqueda de Retrovirus.

Su estudio preliminar ha mostrado que presenta numerosas propiedades comunes con el CMV y el EBV. Por esto el estudio de su poder patógeno en el hombre, ha dado lugar a muchas suposiciones, pero a pocas demostraciones irrefutables.

I. CARACTERES DEL VIRUS

I.1. Estructura físico-química

Como los otros Herpesvirus, el HHV6 es un virus envuelto de alrededor de 200 nm. de diámetro conteniendo una nucleocápside de forma icosaédrica de 100 nm. La cápside está formada de 162 capsómeros y está separada de la envoltura por un tegumento.

El genoma viral es un ADN lineal, bicatenario, de 150 a 170 kilobases, en el cual la organización genética consistiría en una secuencia única larga enmarcada por dos secuencias repetidas.

La secuencia nucleotídica es distinta de la de otros Herpesvirus humanos, pero presenta una homología

parcial con la del CMV. Por esto, aun cuando fue considerado inicialmente como un Herpesviridae próximo al EBV considerando su tropismo por los linfocitos, el HHV6 se clasifica actualmente entre los β Herpesvirinae con el CMV.

La presencia de la envoltura de naturaleza lipídica confiere al HHV6 una débil resistencia a la inactivación por los agentes como el calor, la desecación, los detergentes no iónicos y con mayor motivo a los detergentes iónicos y a los derivados clorados. El HHV6 se inactiva igualmente por los rayos UV y las radiaciones ionizantes en general.

I.2. Propiedades antigénicas

El suero de los sujetos infectados por el HHV6 así como el suero de conejos inmunizados experimentalmente contienen anticuerpos contra numerosas proteínas virales. Se han reconocido por lo menos 30 proteínas distintas en las células infectadas por HHV6.

Algunos de sus anticuerpos reaccionan con glicoproteínas y tienen una acción neutralizante sobre el virus, lo que indicaría que las proteínas así detectadas se encuentran en la superficie de la partícula viral.

I.3. Multiplicación en el Laboratorio

Inicialmente se creyó que el HHV6 tenía un tropismo exclusivo por los linfocitos B, de donde surgió la primera denominación (HBLV virus linfotropo B humano). De hecho el tropismo del HHV6 es más amplio, incluyendo los monocitos-macrófagos, células de origen glial, megacariocitario o fibroblástico, aunque la característica más constante es el entropismo por los linfocitos T, especialmente los que portan el marcador CD4.

El aislamiento de cepas de HHV6 a partir de células mononucleadas sanguíneas se efectúa mejor utilizando como soporte celular linfocitos sanguíneos de donante sano o de sangre de cordón y la propagación del virus se realiza en el mismo tipo celular.

La utilización de líneas celulares linfocitarias T, en particular la línea HSB2 derivada de precursores de linfocitos T, permite disponer en forma permanente de células idénticas. Sin embargo la multiplicación del HHV6 en esas líneas necesita una adaptación previa del virus y no es posible para todas las cepas.

La multiplicación del virus produce un ECP en los cultivos, células aumentadas de volumen, muy

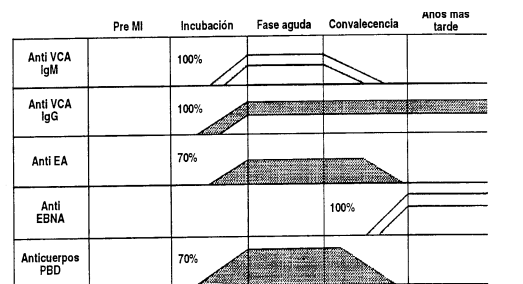


Fig. 1. Tomada de Virologie Médicale, A.Mammette, Editions C. Et R. 14a. Edition 1992.

refringentes, con un aspecto antinuclear a veces, antes de ser destruidas.

La presencia de antígenos específicos del HHV6 en las células infectadas se pone en evidencia por inmunofluorescencia a través de anticuerpos monoclonales.

El examen al microscopio electrónico de cortes de células infectadas muestra las nucleocápsides en los núcleos y las partículas virales envueltas en forma libre o en vacuolas en el seno del citoplasma, así como en la superficie de las células. La producción viral en el medio de cultivo no es muy importante y los stocks virales obtenidos tienen en general un título infeccioso bajo.

Existen pocas partículas virales libres en el medio de cultivo. No se sabe con precisión el mecanismo molecular de la replicación del HHV6, pero se piensa que tiene grandes analogías con la de los otros Herpesvirus, en particular en lo que concierne a la localización nuclear del proceso.

II. EPIDEMIOLOGIA

II.1. Infección natural

El hombre sería el único huésped natural y un huésped particularmente frecuente dado que la mayoría de los estudios concluyen en que la prevalencia de la infección es superior a 50% en la población general. Luego de la primoinfección el virus persiste en el organismo. De hecho, por técnicas de Biología Molecular, PCR, o hibridización *in situ*, el genoma viral se ha encontrado en las glándulas salivales, los linfocitos y los monocitos circulantes.

Además el virus se ha encontrado en su forma infecciosa en la saliva de numerosos sujetos sanos, más raramente en su sangre. La transmisión del virus se realizaría muy precozmente en la vida a través de intercambios de saliva.

La aparición de anticuerpos antiHHV6 se aprecia desde los 6 meses, momento en el cual desaparecen los anticuerpos maternos.

La transmisión materna en el período perinatal es posible pero no ha sido confirmada.

El amamantamiento materno no parece tener un papel en la transmisión. El pico de prevalencia de la infección se obtiene alrededor de los 4 años de edad y supera el 70%. Los títulos de anticuerpos parecen disminuir con la edad por lo cual hay una disminución aparente de la prevalencia estimada por serología.

Esta disminución no se encuentra en los otros Herpesvirus humanos y parece tanto más paradójica que el virus sea reactivado a lo largo de toda la vida como testimonio de su presencia en la saliva.

La transmisión del virus por los productos sanguíneos o los trasplantes de órganos no parece ser una eventualidad muy frecuente y que requiera de medidas de prevención especiales.

II.2. Distribución geográfica de la infección

El HHV6 es un virus ubicuo, que se encuentra presente en todos los países estudiados hasta ahora. La prevalencia de la infección HHV6 medida por la detección de anticuerpos muestra resultados divergentes según los países, sugiriendo una distribución inhomogénea de la infección.

III. INFECCION HUMANA

III.1. Infecciones asintomáticas

En vistas del desfase entre la prevalencia de la infección y la frecuencia de las enfermedades que luego son notificadas, este tipo de infección es sin duda muy frecuente. La mayoría de ellas sobrevendría en los primeros años de la vida.

III.2. Exantema súbito (VIa. Enfermedad)

El exantema súbito es una afección aguda, benigna que se da en la mayoría de los casos entre los 6 meses y los 3 años. La enfermedad asocia dos elementos sucesivos: fiebre elevada con pocos signos asociados que dura 3 a 5 días, una erupción rubeoliforme de cuello y de tronco que aparece durante la disminución térmica y que dura 1 a 2 días.

La evolución es siempre favorable, a excepción de posibles convulsiones hipertérmicas.

Se sospechó una etiología infecciosa después de largo tiempo del exantema súbito porque el virus puede ser fácilmente aislado de las células mononucleares sanguíneas en la fase aguda de la enfermedad y esto se asocia a una seroconversión con síntesis de IgM específica.

III.3. Importancia del HHV6 en otras enfermedades

El Herpesvirus HHV6 es un virus nuevo linfotropo aislado de enfermos cancerosos y sidóticos por lo que se han suscitado numerosas especulaciones en cuanto a su rol patógeno. El problema radica sobre todo en hacer la diferenciación entre un virus ubicuo circunstancial en el curso de la enfermedad y un virus efectivamente implicado en el proceso patógeno.

* **HHV6 y SIDA:** El papel del HHV6 como cofactor en la evolución de la infección por VIH se apoya en numerosos argumentos indirectos. El aislamiento del HHV6 es frecuente en los sidóticos. Los dos virus infectan el mismo tipo celular, los linfocitos CD4 y la coinfección de una misma célula por HHV6 y HIV ha sido demostrada experimentalmente.

La mayoría de los estudios serológicos no muestran una correlación entre la prevalencia y/o el título de anticuerpos antiHHV6 y la evolución de la infección VIH hacia SIDA. Esto aboga en contra de un rol esencial del HHV6 en la génesis del SIDA.

* **HHV6 e inmunodepresión:** Las analogías con CMV han conducido a considerar al HHV6 como agente de infecciones graves en los sujetos inmunodeprimidos. Muchos autores han descrito el ascenso de anticuerpos anti HHV6 luego de los trasplantes y lo han

interpretado como un signo de una reactivación viral consecutiva a la inmunodepresión. En un caso de retinitis en el curso de SIDA, el HHV6 ha sido detectado en el tejido lesionado. Se ha sospechado también su responsabilidad en algunos casos de neumopatía. En los trasplantes de riñón, ciertos fenómenos de rechazo se asocian a una elevación de los anticuerpos antiHHV6, al aislamiento del virus a partir de la sangre y a su detección en el tejido renal. Es difícil saber en esos casos si la infección viral activa es la causa del rechazo o una simple manifestación de la inmunodepresión.

* **HHV6 y hepatitis:** Se han descrito casos de hepatitis asociados con la infección a HHV6 detectados por aislamiento del virus de la sangre o por serología. En un caso fulminante de hepatitis en un lactante, el genoma viral se detectó por PCR a partir de tejido hepático. El HHV6 no parece estar implicado de manera muy importante en las hepatitis no A no B posttransfusionales. Se han descrito síndromes mononucleósicos por infección a HHV6 en el adolescente y adulto joven.

* **HHV6 y cáncer:** En el hombre, se ha detectado el genoma viral por técnica de Southern en tejido tumoral en un caso de linfoma de Burkitt y en un caso de síndrome Sjörger habiendo evolucionado luego a un linfoma. La detección por PCR aumentó el número de casos positivos, pero esto no implica que el virus sea responsable de las linfoproliferaciones. Los datos serológicos carecen por el instante de precisión y no pueden contribuir al estudio del poder oncogénico del HHV6 como en el caso del EBV.

* **HHV6 y enfermedades sistémicas:** Se ha relacionado al HHV6 con la patogenia de la sarcoidosis y del síndrome de Sjörger. En cuanto al síndrome de fatiga crónica conocido igualmente bajo el nombre de encefalomiélitis miálgica, las dudas se refieren no sólo a la posible etiología del HHV6 sino también a la definición precisa de la enfermedad, que se caracteriza a grandes rasgos por una fatiga prolongada luego de un episodio agudo de tipo viral. Los estudios serológicos concernientes al HHV6 han sido contradictorios, algunos autores encontraron títulos de anticuerpos significativamente más elevados en los enfermos. Una aproximación podría ser la detección del virus en las fases agudas y crónicas del síndrome.

IV. DIAGNOSTICO DE LABORATORIO

Las diferentes aproximaciones diagnósticas tienen indicaciones distintas y necesitan en todos los casos de una interpretación crítica de los resultados.

IV.1. Diagnóstico indirecto

La detección y el título de anticuerpos se efectúan a menudo por técnica de inmunofluorescencia efectuada

sobre células linfocitarias infectadas experimentalmente con HHV6, y depositadas sobre láminas y fijadas. Se ha utilizado para la detección de IgG y de IgM la inmunofluorescencia indirecta clásica.

Se han puesto también a punto técnicas inmunoenzimáticas de tipo ELISA.

Las técnicas de inmunoblot tales como Western Blott tienen una buena especificidad pero se enfrentan al problema de la producción en masa de las proteínas virales. La infección en cultivo da poco rendimiento. La síntesis de proteína recombinante podría en un futuro resolver este problema.

El valor y los límites de la serología para estudiar la prevalencia de la infección ya se mencionaron. El diagnóstico de una infección aguda se basa en la obtención de sueros pareados (suero agudo y suero convaleciente) y la demostración de la seroconversión. Una seroconversión neta permitir concluir que se está frente a una primoinfección reciente.

Un ascenso importante del título de anticuerpos o la presencia de IgM específica tendría el mismo significado, pero como para otros Herpesvirus como el CMV, se afirma que estos perfiles se ven también en el curso de las reactivaciones.

IV.2 Diagnóstico directo

- Aislamiento
- Detección del genoma viral

La PCR ha aumentado considerablemente la sensibilidad para la detección del ADN.

Ello confirma la presencia del genoma en los linfocitos de sujetos asintomáticos. Existen los problemas de los falsos positivos debidos a la extremada sensibilidad de la técnica.

Es útil para detectar pequeñas cantidades del virus en lugares del organismo como el ojo o el sistema nervioso central.

TRATAMIENTO

Por el momento no se ha tenido en cuenta ninguna medida preventiva de la infección.

Lecturas recomendadas:

- Virologie Médicale, A. Mammette, Editions C. et R., 14^a edición, 1992.
- Virology, 2nd edition, edited by B.N. Fields, D.M. Knipe et al, Raven Press Ltd., New York, 1990.
- Virología Médica, G. Carballal, El Ateneo, 1992.
- Encyclopedia of Virology, edited by Robert G. Webster and Allan Granoff, Academic Press, 1994.