
Frecuencia de infección por herpesvirus en 129 niños en edad escolar en Antioquia

JORGE E. OSSA, ANA E. ARANGO, JOANNE PATTON,
JOHN STEWART

Con el propósito de hacer una primera aproximación al estudio de la frecuencia de las infecciones herpéticas del hombre en nuestro medio, se realizó una encuesta serológica entre estudiantes de primer año de primaria de diferentes procedencias. A excepción del Herpes simplex tipo 2 y la Varicela-Zoster, que presentaron frecuencias de 0 y 44.5%, respectivamente, las demás infecciones herpéticas se encontraron ampliamente distribuidas: Herpes simplex tipo 1, 78%; Epstein-Barr, 94%; Citomegalovirus, 98% y Herpes humano 6, 100%. No se encontró ninguna asociación entre las frecuencias de infección y las diferentes variables analizadas: procedencia, sexo, edad, número de personas en la familia y número de orden del escolar en la familia; igualmente, se pudo apreciar que no existe ninguna asociación entre la infección por los diferentes agentes estudiados.

PALABRAS CLAVES
HERPES VIRUS HUMANOS
INFECCIONES HERPETICAS

INTRODUCCION

Los Herpesvirus humanos forman parte de una familia numerosa de virus que afectan en forma más o menos específica a todas las especies a través de la escala zoológica. Los agentes de esta familia se clasifican, según diferentes propiedades, en tres subfamilias: alfa-herpesvirinae, beta-herpesvirinae y gamma-herpesvirinae; las características comunes a estos virus son: desde el punto de vista físico-químico, la simetría cúbica, la presencia de una envoltura, el tamaño entre 150 y 200 nm., una doble cadena de ADN y una cápside icosaédrica con 262 capsómeros. En lo referente a su interacción con los huéspedes, los herpesvirus tienen en común la característica de producir infecciones agudas, aparentes o silenciosas, y evolucionar hacia un estado de latencia con frecuente reactivación,

DR. JORGE E. OSSA Y LIC. ANA E. ARANGO, Profesores Titulares, Sección de Virología, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín Colombia.

BIOLOGA JOANNE PATTON Y DR. JOHN STEWART, Laboratorio de Exantemas Virales, Centro de Enfermedades Infecciosas (CDC), Departamento de Virología, Atlanta, GA, EE.UU.

que también puede ser manifiesta o subclínica, especialmente en condiciones de inmunosupresión (1).

En el hombre se conocen hasta hoy 6 Herpesvirus; tres en la subfamilia alfa herpesvirinae, a saber: Herpes simplex 1 (HSV-1), Herpes simplex 2 (HSV-2) y Varicela-Zoster (VZV); uno entre los beta herpesvirinae: Citomegalovirus (CMV) y uno entre los gamma herpesvirinae: Epstein-Barr (EBV) (2). El Herpesvirus humano 6 (HHV-6), por su replicación en linfocitos T, seguramente sería clasificado como gamma herpesvirinae.

El virus herpes más recientemente descubierto, el HHV-6 fue descrito en 1986 por Salahuddin y colaboradores en el grupo del Doctor Robert Gallo del Instituto Nacional del Cáncer y llamado inicialmente Virus Humano de los Linfocitos B (3). Posteriormente se demostró que se trataba realmente de un virus de los linfocitos T y se sugirió el nombre de HHV-6 (4). En la actualidad se dispone de dos métodos serológicos para detectar la infección por este agente: la inmunofluorescencia anticomplemento y el método ELISA; con estas técnicas se ha demostrado que la infección está ampliamente distribuida en la población humana en todos los sitios donde se la ha estudiado (5). Recientemente un grupo japonés sugirió la asociación entre el HHV-6 y el llamado Exantema Súbito o Roseola Infantum o Sexta Enfermedad (6). Nada se sabe, sin embargo, sobre los posibles efectos clínicos de la reactivación del virus, si bien la persistencia de anticuerpos contra él ha llevado a sugerir que la reactivación sería frecuente (7).

De la epidemiología del CMV se conoce relativamente poco debido a que la frecuencia de infección es tan alta que impide caracterizar los brotes para establecer los patrones epidemiológicos. Se sabe, sin embargo, que los mayores índices de infección se presentan asociados a factores económicos (pobreza), etnográficos (raza negra) y sociales (subdesarrollo) (1,8,9). No se conoce claramente cuál es la explicación para estas asociaciones, pero es clara la superposición de los factores, es decir la convivencia de la pobreza, el subdesarrollo y la raza negra. Lo anterior no quiere decir que el problema no ocurra en otras razas, pero aún en ellas la frecuencia es mayor en los estratos más deprimidos socioeconómicamente (10). En nuestro medio, según estudios llevados a cabo en candidatos a trasplante renal, en donadores y en un grupo pequeño de individuos normales, los índices de infección fueron 94, 93 y 75%, respectivamente (11)

El HSV-1, por su parte, según estudios realizados en Estados Unidos y Gran Bretaña, presenta índices de infección que van desde 40 hasta 90% y la edad de adquisición es temprana puesto que a los 15 años la mayoría de los individuos están infectados (12,13). Se sabe, adicionalmente, que entre 15 y 20% de los infectados sufren reactivaciones clínicamente aparentes (14).

Con el virus Epstein-Barr se ha demostrado que hasta 85% de los individuos están infectados a la edad de 18 meses; en otras áreas tropicales se ha encontrado infectado el 90% de las personas a los 6 años; en países desarrollados, en contraste, los índices de infección han sido entre 30 y 40% (15).

La frecuencia de infección por el virus de la Varicela no ha sido bien estudiada; los datos acerca de él se basan en su mayoría en encuestas que preguntan directamente a las personas por lesiones compatibles con la enfermedad; por ello los datos no son muy confiables (16); se ha considerado, sin embargo, que 50% de los niños han sufrido la infección antes de ingresar a la escuela (17).

La infección por HSV-2 se asocia principalmente con transmisión sexual y lesiones en los órganos genitales. Su frecuencia es mayor entre 20 y 29 años y se ha estimado que a los 45 años entre 20 y 30% de las personas la han adquirido (18).

En Medellín, según estudios de Velásquez (19), una población de mujeres de alto riesgo presentó una frecuencia de infección de 100% en tanto que la tasa fue 62% en un grupo control.

La presente encuesta se diseñó inicialmente para hacer una primera aproximación a la frecuencia de infección por CMV en escolares provenientes de la ciudad, el pueblo o el campo; se tenía presente la hipótesis de que la frecuencia de infección es mayor en condiciones socioecológicas que permiten una mayor densidad de población y, por tanto, un mayor índice de interacción social. Con la participación del Centro de Enfermedades Infecciosas (CDC, Atlanta, EE. UU.) el trabajo se pudo ampliar para abarcar todos los herpesvirus humanos .

MATERIALES Y METODOS

INDIVIDUOS ESTUDIADOS

Se tomaron muestras de sangre de 129 niños pertenecientes a igual número de familias distribuí-

das en la siguiente forma: 20 de la zona rural del municipio de Fredonia (Antioquia), a 15 km de la cabecera municipal; 41 de la cabecera del mismo municipio, situado a 60 km de Medellín y 68 de un barrio popular de la zona metropolitana de Medellín. Los individuos incluidos eran estudiantes de primer año de primaria y la toma de la muestra se realizó durante las tres primeras semanas de actividad escolar de 1988. La participación de los niños en el estudio fue voluntaria y con la debida autorización de la dirección de la escuela.

VARIABLES ANALIZADAS

Con el fin de buscar correlación de la frecuencia de infección con diversos parámetros se consignaron los siguientes datos de cada uno de los individuos: edad, sexo, número de personas en la familia, número de orden del niño en la familia y procedencia.

METODOS SEROLOGICOS

Las muestras se procesaron, siguiendo los protocolos utilizados por el CDC, mediante las siguientes pruebas:

ELISA

Por este método se probaron todos los sueros para Citomegalovirus, Varicela y Herpes humano 6: en resumen, placas sensibilizadas con los respectivos antígenos, consistentes en extractos de células infectadas, tratadas con tampón de glicina y debidamente sonicadas, fueron utilizadas para probar cada suero a una dilución de 1:100; anticuerpos contra IgG humana, conjugados con peroxidasa y el respectivo sustrato, se utilizaron para revelar la presencia de anticuerpos específicos contra el virus respectivo en cada suero.

INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA

Esta técnica se utilizó para detectar anticuerpos contra el antígeno de la cápside del virus de Epstein-Barr. Para el efecto se utilizaron células P₃HR₁ infectadas persistentemente con el virus y estimuladas con éster de forbol para aumentar la expresión del antígeno viral; las células infectadas fueron colocadas sobre portaobjetos, fijadas con acetona y almacenadas a -70° C hasta su uso.

En el momento de la prueba se hicieron 6 diluciones cuádruples de cada suero y se colocaron 25 µl

de cada dilución sobre los pozos con las células fijadas; se incubó durante una hora a 37° C, se lavó dos veces con solución salina fosfatada (SSF) y luego se agregaron 25 µl de suero de cabra contra IgG humana, marcado con fluoresceína. Se incubó durante una hora en cámara húmeda a 37° C y de nuevo se lavó dos veces con SSF. Finalmente, los portaobjetos fueron pasados por agua destilada para remover posibles cristales, se secaron a temperatura ambiente y se observaron al microscopio de luz ultravioleta. La fluorescencia se observó en forma homogénea sobre la superficie de la célula y cada pozo se calificó de una a cuatro cruces de acuerdo con la especificidad y la intensidad. Un índice menor de dos cruces se consideró negativo.

HEMAGLUTINACION PASIVA

Este método se utilizó para determinar la presencia de anticuerpos contra el HSV-1 y el HSV-2. El antígeno se preparó en células HLF (fibroblastos de pulmón humano), de las cuales se extrajeron las proteínas virales mediante tratamiento de un ciclo de congelación y descongelación en SSF.

Los glóbulos rojos de carnero fueron tratados con ácido tánico y luego sensibilizados con el antígeno respectivo. Los sueros se inactivaron a 56° C por 30 minutos y luego se prepararon diluciones dobles desde 1:8 hasta 1:1024 en microplacas; posteriormente se agregaron glóbulos rojos sensibilizados. Las microplacas fueron incubadas a 4° C durante 12 horas y el título se dio por la dilución mayor del suero que produjo aglutinación de los glóbulos. Se consideró positivo para HSV-1, aquel suero que aglutinó los glóbulos rojos a una dilución de 1:16 ó mayor; fue positivo para HSV-2 el suero que presentó títulos mayores para HSV-2 que para HSV-1 (debido al alto grado de reactividad cruzada entre estos dos virus).

ANALISIS ESTADISTICO

Se hizo análisis de varianza comparando procedencia, sexo, edad, número de personas en la familia, número de orden en la familia y resultados serológicos para cada agente viral.

RESULTADOS

La Tabla N° 1 presenta los porcentajes de infec-

ción con los diversos virus herpes humanos en los niños de cada una de las procedencias estudiadas. Puede observarse que esa frecuencia fue similar en cada uno de los tres casos, hecha la excepción del HSV-1 en los niños campesinos, pero su índice relativamente mayor podría ser un simple artificio del muestreo, por el pequeño número estudiado.

No se encontró ninguna asociación entre infección y sexo, edad, procedencia, número de personas en la familia o número de orden en la familia. Puesto que la gran mayoría o hasta el 100% de los niños fueron positivos para HHV-6, EBV y CMV y ninguno lo fue para HSV-2 cualquier estudio de correlación hubiera sido innecesario; la única posibilidad de alguna asociación se dio para HSV-1 y VZV pero la realidad fue que los niños positivos para VZV estaban distribuidos al azar entre los positivos y los negativos para HSV-1.

analizadas. Dadas las características epidemiológicas de estas infecciones se esperaba encontrarlas con mayor frecuencia en los niños de la ciudad que en los del campo. Igualmente, que la infección fuera más frecuente en niños provenientes de las familias más numerosas y que hubiera una asociación significativa entre la frecuencia de infección por HSV-1, VZV, CMV y EBV. Ninguna de estas hipótesis fue confirmada por los resultados.

Como era de esperar, la distribución de la frecuencia de infección fue similar en todos los casos para ambos sexos y la frecuencia del HSV-2 fue cero lo que refleja el mecanismo más restringido de transmisión de este virus.

Finalmente, en cuanto al HHV-6 dado su reciente descubrimiento, no teníamos ninguna hipótesis en particular, excepto la de probar su presencia en

TABLA Nº 1
FRECUENCIA DE INFECCION HERPETICA EN 129 ESCOLARES DE PRIMERO DE PRIMARIA DE TRES PROCEDENCIAS DIFERENTES

PROCEDENCIA	Nº	X EDAD AÑOS	% DE POSITIVIDAD					
			HSV-1	HSV-2	VZV	CMV	EBV	HHV-6
CAMPO	20	6.5	95.0	0	45.0	95.0	95.0	100.0
PUEBLO	41	6.4	75.6	0	51.0	97.5	95.0	100.0
CIUDAD	68	5.9	74.6	0	40.0	99.5	94.0	100.0
TOTAL	129	6.3	78.0	0	44.5	98.0	94.0	100.0

DISCUSION

Los resultados del presente trabajo no son sorprendentes si se los compara con los informes de la literatura universal (1,5,15,18), pero sí fue inesperado que las frecuencias de infección fueran tan homogéneas para las diferentes variables analizadas. Los resultados permitieron apreciar que, a excepción del HSV-2, estas infecciones están presentes en los grupos estudiados pero no permitieron la formulación de ninguna hipótesis sobre asociación de la infección con alguna de las variables

nuestro medio; al respecto es pertinente anotar que los sueros de 80 sobre 81 personas de diversas edades, provenientes de Medellín y de la zona de Urabá, fueron positivos para este virus, empleando la misma técnica que en el presente estudio (Ossa JE, datos no publicados).

Este trabajo es el primero en Colombia que incluye todos los Herpesvirus humanos conocidos hasta la fecha; si bien el número de individuos estudiado no es representativo de ningún grupo o subgrupo de la población general, los resultados podrán servir de base para estudios

posteriores cuyo diseño incluía características socioecológicas reales y un número de individuos representativo de los grupos en estudio.

AGRADECIMIENTO

Los autores desean expresar sus agradecimientos a la Profesora Luzmila Acebedo de H. por su colaboración en la toma y procesamiento de las muestras. El trabajo fue realizado con financiación de la Universidad de Antioquia a través del Comité Central de Investigaciones y con el patrocinio de Colciencias en el marco del Proyecto 115-05-068-86.

SUMMARY

FREQUENCY OF HERPESVIRUS INFECTION IN 129 ELEMENTARY SCHOOL CHILDREN IN ANTIOQUIA, COLOMBIA

With the aim of making a preliminary approach to the frequency of human herpesviral infections in our local population, a serological survey was carried out among children entering school for the first time, in three different locations, namely: the city, the village and the countryside. Except for Herpes simplex type 2 and Varicella-Zoster viruses which presented infection frequencies of 0 and 44.5%, respectively, the other herpetic infections were widely distributed: Herpes simplex virus type 1, 78%; Epstein-Barr Virus, 94%; Cytomegalovirus, 98%; and Human Herpesvirus 6, 100%. No association was found between the frequencies of infection and the following variables: procedency, age, sex, number of persons in the family, order number of the child within the family; also, there was no association between the frequencies of infection with the different types of virus.

BIBLIOGRAFIA

1. ALFORD CA, BRITT WJ. Cytomegalovirus. En: FIELDS BN, ed. *Virology*. New York: Raven Press, 1985: 629-660.
2. ROIZMAN B, BATTERSON W. Herpes viruses and their replication. En: FIELDS BN, ed. *Virology*. New York: Raven Press, 1985: 497-526.
3. SALAHUDDIN SZ, ABLASHI DV, MARKHAN PD, et al. Isolation of a new virus, HBLV, in patients with lymphoproliferative disorders. *Science* 1986; 234: 596-601.
4. LOPEZ C, PELLET P, STEWART J, et al. Characteristics of human herpesvirus-6. *J Infect Dis* 1988; 157: 1271-1273.
5. SAXINGER C, POLESKY H, EBY N, et al. Antibody reactivity with HBLV (HHV-6) in US populations. *J Virol Methods* 1988; 21: 199-208.
6. YAMANISHI K, OKUNO T, SHIRAKI K, et al. Identification of human Herpesvirus-6 as a causal agent for exanthema subitum. *Lancet* 1988; 1: 1065-1067.
7. STEWART J. Human Herpesvirus-6 (HHV-6): Widespread infection and evidence of viral reactivation found by seroepidemiologic studies. Comunicación personal (en prensa).
8. STAGNO S, PASS RF. Maternal cytomegalovirus infection and perinatal transmission. *Clin Obstet Gynecol* 1982; 25: 563-576.
9. YOU MD. Congenital cytomegalovirus disease: a new problem. *J Infect Dis* 1989; 159: 163-167.
10. PASS RF. Epidemiology and transmission of Cytomegalovirus. *J Infect Dis* 1985; 152: 243-248.
11. OSSA JE, ARANGO AE, ARANGO AM, et al. Prevalencia de infección por citomegalovirus en candidatos a trasplante renal y en sus donadores. *Acta Méd Col* 1988; 13: 125-128.
12. BUDDINGH GJ, SCHRUM D, LANIER JC, et al. Studies on the natural history of herpes simplex infections. *Pediatrics* 1953; 11: 595-610.
13. SMITH IW, PEUTHERER JF, MACCALLUM FO. The incidence of herpesvirus hominis in the population. *J Hyg (Cambr)* 1967; 65: 395-408.
14. BADER C, CRUMPACKERS CS, SCHNIPPER LE, et al. The natural history of recurrent facial-oral infection with Herpes simplex virus. *J Infect Dis* 1978; 138: 897-905.
15. MILLER G. Epstein-Barr Virus. En: FIELDS BN, ed. *Virology*. New York: Raven Press, 1985: 563-589.
16. GELB LD. Varicella-Zoster Virus. En: FIELDS BN, ed. *Virology*. New York: Raven Press, 1985: 591-627.
17. BRUNELL PA. Varicella-Zoster Virus. En: MANDELL GC, DOUGLAS GK, BENNETT JE, eds. *Principles and practice of infectious diseases*. New York: John Wiley and Sons, 1979: 1295-1306.
18. RAWLS WE. Herpes simplex virus. En: FIELDS BN, ed. *Virology*. New York: Raven Press, 1985: 527-561.
19. VELASQUEZ G. Infección genital por Herpes hominis en mujeres en Medellín. Tesis de Grado. Medellín: Universidad Pontificia Bolivariana. 1986.