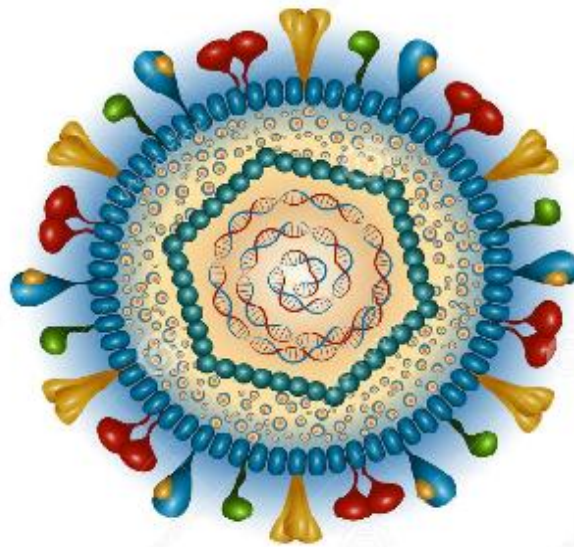


UNIVERSIDAD DE CIENCIAS MÉDICAS DE LA HABANA
FACULTAD DE TECNOLOGÍA DE LA SALUD

“Actualización Diagnóstica del Virus Herpes Simple (VHS).”



Autor(es): *Jessica Dorta Abad*

Maikel Martín Jorge

Tutor: *MCs. Santiago Fuentes Arencibia*

MCs. Alina Dolores Leyva Rojas

La Habana, 2020

RESUMEN

Introducción: El Herpesvirus (VHS) se destaca por ser el principal responsable de un gran número de infecciones de la región orofacial, así como de la región genital. El virus del herpes simple es el prototipo de una gran familia de virus de doble cadena de ADN, los Herpesviridae. La infección en las células de la mucosa epitelial; células por las cuales posee gran tropismo; da lugar a una serie de signos clínicos y a la infección latente a nivel de las neuronas sensoriales. Durante la fase de infección productiva se expresan múltiples proteínas virales mientras que en fases latentes apenas se expresan dichas proteínas. La reactivación del virus da lugar a infecciones recurrentes, desencadenando en lisis celular.

Objetivo: Caracterizar las variantes diagnósticas del Virus Herpes Simple tipo I y tipo II.

Método: Se efectuó una revisión bibliográfica de 15 fuentes bibliográficas referentes al Herpesvirus Simple.

Conclusiones: Los datos o características ofrecidas por el virus permiten su detección e identificación ya sea por un diagnóstico directo o indirecto. En la primera categoría se observan; el efecto citopático del virus, ya sea en la apariencia histológica de las lesiones, o producto del cultivo en líneas celulares; y la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (RCP), utilizada en la ampliación del ADN viral. En el diagnóstico indirecto se utilizan técnicas inmunoenzimáticas e inmunofluorescencia para la detección del antígeno viral y la serología en la detección de anticuerpos específicos frente a los VHS.

Palabras claves: Herpesvirus, Simplexvirus, VHS, Virus herpes simple.

INTRODUCCIÓN

La familia **Herpesviridae** constituye un grupo grande y heterogéneo de virus cuyo virión está constituido por: *el core* que contiene el genoma ADN, una *cápside* icosaédrica, un *material amorfo* que rodea la cápside, y una membrana como *envoltura* derivada de la célula hospedera y en ella están enclavadas espículas de glicoproteínas.¹

Generalmente se reconocen tres subfamilias: alphaherpesvirinae, betaherpesvirinae y gammaherpesvirinae. Esta clasificación se basa en la homología y organización de su genoma, rango de huésped y otras propiedades biológicas.

Los virus **alphaherpesvirinae** presentan un rango hospedero variable, un ciclo de replicación relativamente corto, una rápida diseminación a nivel de cultivos celulares, la eficiente destrucción de las células infectadas y la capacidad de establecer una latencia primaria, aunque no exclusiva, a nivel de los ganglios sensitivos.

El miembro prototipo de esta subfamilia es el Virus Herpes Simplex (VHS), del género **Simplexvirus**, del cual existen dos tipos antigénicos: **Herpes simplex tipo I y II**; que comparten una morfología y la forma de organización de sus genomas idénticas, pero patrones de neutralización diferentes y producen patrones clínicos diferentes.

El estudio indicado por excelencia para el diagnóstico de infecciones por VHS es el aislamiento viral, sin embargo, existen otros métodos como detección del ADN viral mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (RCP), serología, y como métodos de investigación más generales se realizan estudios hematológicos u exámenes citológicos, en búsqueda de variaciones fisiopatológicas q puedan indicar sospechas de sujeto seropositivo.

Objetivo general: Caracterizar las variantes diagnósticas del Virus Herpes Simple tipo I y tipo II.

DESARROLLO

El Herpesvirus simplex procede del género Simplexvirus de la familia Herpesviridae, del cual existen 2 tipos antigénicos: Virus Herpes Simple (VHS) tipo I y tipo II.

ESTRUCTURA

La partícula viral está **estructuralmente** compuesta, desde el exterior al interior, por una envoltura de naturaleza lipídica que deriva de la célula huésped. Las proteínas y las glicoproteínas virales insertadas en la envoltura forman las espículas, de las que algunas son responsables de la fijación del virus a la célula. La integridad de la envoltura es necesaria para la infectividad viral. El tegumento es un complejo de proteínas virales de estructura fibrilar que asegura la unión entre envoltura y cápside. 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. Presenta una cápside icosaédrica de 100 nm de diámetro constituida de 162 cápsomeros. Un core que contiene ADN viral, bicatenario lineal que se encuentra enrollado alrededor de una bobina proteica. (Anexo.1)

CICLO DE REPLICACIÓN VIRAL

Adhesión

Para iniciar la infección, el virion se adhiere, por medio de glicoproteínas virales dispuestas en la envoltura, a receptores específicos con el cual van a tener una afinidad físico-química. (Anexo.2)

A la especificidad vírica de infectar células portadoras de receptores de membranas compatibles con su anticereceptor, se le denomina tropismo celular. En el caso particular del herpe simplex, su tropismo está desarrollado en células epiteliales y fibroblastos.

El virus, también, posee neurotropismo; de ahí el establecimiento de la latencia en la infección por VHS.

Penetración

La adhesión posterior activa un proceso de fusión de la envoltura viral con la membrana plasmática celular, la nucleocápside se libera en el citoplasma, la cápside migra a través del mismo y es degradada por las enzimas lisosomales; en otras palabras, ocurre la decapsidación del virion; seguida de la penetración del genoma en el núcleo.(Anexo.2)

Replicación

Previamente sobre la célula hospedera ya actuaban proteínas virales reteniendo la síntesis de macromoléculas en la misma durante el ciclo.

Una vez q el material nuclear es insertado, se inicia la transcripción de genes virales en ARNm; y simultáneamente en el citoplasma inicia la síntesis de proteínas. Esta acción es determinada por la cinética de síntesis, definiéndose

tres particulares grupos básicos de proteínas virales: inmediatas tempranas (α), tempranas (β), y tardías (γ).¹ Otras bibliografías consultadas las definen como: muy precoces (α), precoces (β), y tardías (γ).²

Proteínas alpha(α): La síntesis de las proteínas inmediatas tempranas es inducida por las proteínas del tegumento. Suelen codificar para proteínas reguladoras e implicadas en la transcripción del resto de los bloques genéticos.

Proteínas betha(β): Las proteínas tempranas son enzimas que regulan su propia síntesis y estimulan la síntesis de ellas mismas. Las proteínas tempranas son las que participan propiamente en la replicación viral. Entre los mensajeros β se encuentran la polimerasa viral y la timidinquinasa.

Proteínas gamma(γ): Las proteínas tardías son proteínas estructurales. Codifican para las glicoproteínas de la envuelta, proteínas de la cápside, tegumento. Las copias de ADN viral replicadas se unen a las proteínas de estructura que migran hacia el núcleo donde se ensamblan, se produce la encapsidación. Los productos de los genes tardíos (γ) son expresados únicamente después que ocurre la síntesis del ADN viral.

Conclusión: Los productos del gen (α) inducen la expresión del gen (β) y estos finalizan la transcripción del gen alfa y también favorecen la expresión de los genes gamma, que a su vez regulan la expresión de los genes beta y sirven de señal para el inicio de la síntesis de proteínas alfa en la próxima ronda de la replicación viral. (Anexo.2)

Embalaje y salida

En esta fase, en el núcleo celular, se da inicio al proceso de ensamblaje de las cápsides virales; después del clivaje o segmentación del ADN viral y empaquetamiento del mismo dentro de cápsides preensambladas.

Esto es posibilitado por la participación activa de un gran número de proteínas: proteínas de unión al ADN, y proteínas virales (algunas encontradas en la superficie de la cápside). Estas últimas permiten que las cápsides que ya contienen el genoma se unan a regiones modificadas de la membrana nuclear. A través de la membrana el virión adquiere una envoltura por gemación, de la que se desprende al atravesarla.

El método de cómo el virus es transportado hacia la superficie celular aún se desconoce⁴. Algunas bibliografías apuntan que el virión se traslada al citoplasma simplemente atravesando la membrana⁵. Otros proponen que el virus se incorpora al retículo endoplasmático, que encausa los viriones hacia el aparato de Golgi; estos son secretados, mediante las estructuras vesiculares, hasta la membrana citoplasmática, donde ocurre la liberación de la progenie infecciosa mediante fusión con la membrana celular.² (Anexo.2)

PATOGENIA

La génesis de la infección radica en la interacción directa de un individuo susceptible con uno portador que en el momento de contacto este excretando el virus.

El punto de contacto es por lo general la fricción o roce de mucosas, ya sea, bucal, faríngea, conjuntival, genital o la piel.

El virión se replica en el sitio de infección y aparecen las manifestaciones dérmicas de la infección primaria, cuya localización depende de la puerta de entrada del virus, aunque la infección primaria puede ser asintomática.³

A partir de la infección primaria, el virus llega a las terminales nerviosas sensoriales periféricas para, mediante transporte retrógrado a través del axón, llegar a los ganglios sensoriales e infectar el Sistema Nervioso Central donde permanece de forma latente una vez desaparecida la expresión proteica viral. Durante el proceso, el ADN se mantiene en forma episómica, con expresión limitada de los genes, elemento requerido para que se mantenga la latencia. Cuando se produce una reactivación, el virus puede viajar de forma anterógrada hasta la periferia dando lugar a lesiones recurrentes. Normalmente, éstas son autolimitantes y desaparecen espontáneamente.⁶

INFECCIÓN ACTIVA Y LATENCIA

La latencia está caracterizada por una expresión limitada de una pequeña cantidad de genes virales.

Entendemos a la latencia como la capacidad de generar una infección improductiva y reversible de una célula por un virus capaz de replicarse. Para que la misma se dé, dichos virus deben ser capaces de evadir con éxito la respuesta inmune y deben ser capaces de insertar su genoma en las células del huésped, esto incluye tres fases separables:

- ✓ Establecimiento
- ✓ Mantenimiento
- ✓ Reactivación

Siguiendo la infección natural, el establecimiento de la latencia ocurre conjuntamente en las neuronas sensoriales que inervan el sitio de infección primario, la pérdida de permisividad de por lo menos algunas de las neuronas sensoriales resulta en una falla del ciclo productivo de expresión genética, y por tanto, una falla del ingreso al ciclo lítico.

Las neuronas en donde se establece primariamente la latencia residen en el ganglio sensorial, aunque también existe evidencia de presencia de virus latente en el sistema nervioso central. La transcripción de una porción restringida del genoma ocurre durante la latencia, siendo dirigida por un solo promotor generando ARN nucleares que se han designado como transcriptos asociados a latencia. Su función aún no ha sido determinada, pero las

mutantes presentan una lenta recuperación o establecen latencia con eficiencia reducida, parecería que presentan un efecto de inhibición de la apoptosis.⁷

Este efecto promovería la reactivación y esta sería por tres mecanismos:

- ✓ Generando más neuronas infectadas en estado latente para reactivaciones futuras.
- ✓ Protegiendo neuronas en las cuales ocurre la reactivación.
- ✓ Protegiendo las neuronas no infectadas durante la reactivación

La replicación viral puede reactivarse espontáneamente o por la acción de determinados estímulos: estrés físico o emocional, fiebre, exposición a la luz ultravioleta, estímulos hormonales, traumatismos, inmunosupresión, exposición a temperaturas extremas. Estos desencadenan, primero, la aparición de síntomas prodrómicos locales q anteceden la aparición de la erupción (dolor, prurito, hormigueo), luego evoluciona de pápula inflamatoria a vesícula, y desencadena en erosión o ulceración.

El síntoma común es el exantema vesicular ya sea, de una primoinfección o recurrente. (Anexo.3)

MANIFESTACIONES CLÍNICAS

1. Herpe simple bucal

a) Infección primaria (puede ser asintomática)

Gingivoestomatitis herpética aguda: típica en niños pequeños, rara en adultos. El periodo de incubación es de 3 a 6 días; tiene un inicio brusco con fiebre alta, malestar general, anorexia, edema, eritema y dolor en las encías, vesículas y/o erosiones en la mucosa oral, en la piel y periferia de los labios. Con tendencias a confluir y producir ulceraciones dolorosas y aumento de los ganglios linfáticos locales. Los síntomas agudos se mantiene durante 5 - 7 dais y se curan después de 2 ~semanas. El virus se excreta por la saliva durante 3 semanas (a veces más tiempo).⁸ (Anexo.4)

Faringitis y amigdalitis aguda : más frecuente en adulto ,habitualmente causada por el VHS-2 (acompañada de lesiones genitales).Al principio hay fiebre , malestar general cefalea , odinofagia , mialgas ,luego aparecen vesículas en amígdalas y en la parte posterior de la faringe , que rompe formando erupciones y ulceraciones grisáceas; hay erupciones labiales <10% de los casos .En ~30%de los enfermos con infección primaria por VHS- 2 están presentes los signos de meningitis y en un 5%la meningitis es de curso benigno.

b) Infeccion recurrente: Habitualmente de herpes simple labiales (VHS - 1, menos frecuentemente VHS -2), recaídas con un promedio de 2 x año en

algunas personas cada mes. El máximo nivel de excreción del virus se da en la primeras 24 h (se puede mantener incluso 5 días). (Anexo.5)

2. Herpes genital

a) Infección primaria: Habitualmente el curso es grave. En ~50% de los casos es causado por el VHS -2. Existe frecuentemente la transmisión desde un portador asintomático (el virus se excreta periódicamente en la fase asintomática). El período de incubación es normalmente de 3-7 días (1-21). En ~70% de las mujeres y ~40% de los hombres hay síntomas generales: fiebre, cefalea y mialgias. En hombres las vesículas aparecen en el pene, menos frecuentemente en el escroto o en la parte interior de los muslos; en mujeres aparecen erupciones en los labios genitales, perineo, a veces, en el interior de los muslos, en la vagina y en el cuello uterino. Después del coito anal es posible la proctitis. Pueden aparecer también otros síntomas locales (que dependen de la localización de las erupciones): dolor, secreción mucosa de la uretra o de la vagina, aumento de el volumen y dolor en los ganglios linfáticos inguinales, trastornos de la micción durante la infección primaria (pueden persistir por más de 10-17 días). Lesiones cutáneas son más extensas en mujeres y se mantienen durante ~20 días (en hombres ~16 días). El virus se excreta durante 10-12 días. La infección frecuentemente viene acompañada de faringitis aguda.⁹ (Anexo.6)

b) Infección recurrente (principalmente VHS-2): Curso benigno o poco sintomático. Los síntomas locales prodrómico duran desde 2 h hasta 2 días. Habitualmente no aparecen síntomas generales presentes en la infección primaria. En mujeres hay lesiones vesiculares en los labios genitales mayores y menores y en la piel del perineo, en hombres principalmente afectan al pene. El virus se excreta durante ~5 días.

3. Infección ocular: Las lesiones pueden afectar a la mucosa conjuntival y/o a la córnea (ulceraciones, producto de autoinoculación), lo que en casos no tratados y con herpes recurrentes muchas veces lleva a la cicatrización de la córnea (o incluso la ceguera). Aparecen lesiones vesiculares en los párpados.¹⁰ (Anexo.7)

4. Manifestaciones cutáneas del herpes simple (Anexo.8): Las erupciones fuera de la cara y de los órganos genitales son poco frecuentes. La infección primaria puede ser causada por el frotamiento con material contaminado presentarse de las siguientes maneras:

- ✓ Panadizo herpético: inicio brusco, edema, eritema, dolor y lesiones vesiculopustulosas en la yema de uno o más dedos. (son frecuentes en el personal médico que no utiliza guantes) (Anexo.8a)
- ✓ “Herpes del gladiador”: habitualmente visto en atletas, luchadores, y pugilistas. Al ser deportes de contacto, la infección inicia por el roce o fricción con una lesión cutánea del adversario o saliva portadores del virus. Se manifiestan erupciones en regiones como la piel, el tórax, los oídos, la cara y las manos. (Anexo.8 b)

- ✓ **Eccema herpético:** una variante particular de la infección herpética en pacientes con dermatitis atópica; aparece un exantema vesicular generalizado de gran intensidad. También se presenta, en su forma característica, en pacientes con pénfigo, quemaduras, entre otros.¹(Anexo.8 c)

5. Encefalitis herpética: Se trata de una manifestación de reactivación, más frecuente a nivel del adulto. Los dos serotipos de Herpes Simplex pueden estar implicados. Cursa con alteraciones de la conciencia, afasia convulsiones, a menudo conduce a cambios de la personalidad y alteraciones de las funciones cognitivas. En el diagnóstico, el análisis del líquido cefalorraquídeo (LCR) muestra una linfocitosis moderada con proteinorraquia variable. La precocidad del tratamiento, capaz de detener la evolución de las lesiones necrotizantes condicionará el pronóstico vital y funcional. Su mortalidad es hasta del 30 % sin tratamiento.

6. Infección herpética neonatal (Anexo.9): La mayoría de los casos se presentan de manera sintomática, y frecuentemente letal. A pesar de que el responsable del 20% de los casos es el VHS-1, el agente etiológico de mayor protagonismo es el VHS-2. La infección natal tiene tres momentos de contagio:

- ✓ En la cavidad uterina; por transmisión transplacentaria. Para producirse, la madre debe presentar el cuadro de viremia por herpes antes de las 20 semanas de gestación. En el feto, la afección puede presentarse como microcefalia, afectación retiniana, retraso mental, entre otros.
- ✓ Durante el parto; el virus se contacta con el feto por medio de las secreciones genitales maternas portadoras. Es considerada la vía más común de infección.
- ✓ La transmisión posnatal; tiene la característica de que el virus toma como reservorio o puente hasta el neonato al propio personal intra-hospitalario.

En los dos últimos casos la infección vírica se manifiesta notoriamente en boca, ojos y piel.¹¹

7. 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.¹

EPIDEMIOLOGÍA

El VHS es considerado endemia, dada su frecuencia y distribución en todas las sociedades humanas, desde grandes poblaciones urbanas a tribus nativas aisladas y geográficamente remotas. El huésped natural siempre se ha creído que es el hombre, pero el virus es capaz de infectar varios animales incluyendo los roedores.

Los herpesvirus a causa de su envoltura son virus frágiles. Pero, pueden resistir cierto tiempo en el medio exterior y la infección puede ser vehiculizada por las manos o por los objetos contaminados por la saliva, lesiones o secreciones infectadas. La transmisión se produce por la interacción directa entre individuo portador- excretor del virus y organismo susceptible: A través del contacto directo y a veces íntimo entre los individuos por contaminación con la saliva; por vía genital: contactos sexuales, parto; por trasplante de órganos; por transfusiones sanguíneas.⁷

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: estrés, exposición al sol, trastornos digestivos, menstruación en el caso de las mujeres, y medicamentos.

Las variaciones geográficas en los patrones de enfermedad causados por el VHS reflejan diferencias en las condiciones de vida de la población hospedera y en la edad de adquisición de la infección y no variaciones en el virus.

Se estima mundialmente que existen un 67% de la población mundial menores de 50 años infectadas por VHS-1.

El VHS 1 se transmite principalmente por contacto con lesiones o secreciones orales infectadas y la incidencia y prevalencia de la infección están influenciadas por factores que afectan el grado de exposición, tales como las aglomeraciones, la higiene deficiente y la edad. El grado de adquisición de la infección por VHS 1 está inversamente relacionado con el nivel socioeconómico. Mientras la infección primaria por VHS 1 está confinada a la infancia temprana en países desarrollados y de manera similar en poblaciones urbanas pobres; la mayoría de los niños de medio y alto ingreso en el mundo occidental escapan a las infecciones por VHS 1 durante la infancia y se produce un segundo pico de infecciones en los adolescentes y adultos jóvenes.¹⁰

Se estima que la infección de VHS-2 posee un 11% en una población mundial de 15-49 años.

El VHS 2 es la causa predominante de herpes genital, es transmitido sexualmente a través del contacto con secreciones genitales infectadas o superficies mucosas. La infección por VHS 2 es rara antes de la pubertad y su adquisición está relacionada con la actividad sexual. La tasa más alta de infección ocurre entre los 15 y 35 años de edad (más del 80 % de las infecciones primarias por VHS 2 se presentan en ese grupo etareo). Dentro de los factores de riesgo para la infección por VHS 2 están: la promiscuidad sexual, el inicio de relaciones sexuales a edades tempranas, historia anterior de otras enfermedades de transmisión sexual (ETS), familias de bajo ingreso, años de actividad sexual, incremento de esta en los adolescentes, no usar barreras contraceptivas.

La mayoría de las infecciones primarias por VHS 2 son adquiridas de una pareja sexual que disemina el virus en ausencia de síntomas o signos reconocidos de enfermedad. Todas las personas seropositivas tienen infección latente y experimentarán reactivación al menos ocasionalmente.

El período de incubación suele ser de 7 a 12 días.

Los estudios epidemiológicos se han complicado por 2 características del VHS: la prevalencia de infecciones ocultas y la naturaleza de la respuesta inmune. Se ha reportado que la secreción de virus en la saliva puede extenderse hasta 7 semanas después de la recuperación de una gingivoestomatitis. Los pacientes con lesiones genitales primarias son infectivos entre los 7 y los 12 días y con enfermedad recurrente durante 4 días y hasta una semana.

La infección neonatal por VHS, 2/3 de las cuales son causadas por el VHS 2, son usualmente adquiridas durante el paso del recién nacido a través del canal del parto de una madre infectada con herpes genital. La infección también puede ser adquirida intraútero o postnatalmente, de la madre o de otro adulto afectado por VHS no genital, o por transmisión nosocomial en las enfermerías. El riesgo de enfermar es mucho mayor para niños nacidos de madres con infección primaria que con infección genital recurrente.

Ciertas infecciones por VHS son un riesgo particular para grupos especiales. El panadizo herpético causado por el VHS 1 es un riesgo ocupacional para médicos, dentistas y personal de enfermería, por estar sus manos expuestas a secreciones orofaríngeas infectadas. Las infecciones de la piel por VHS 1 (herpes gladiatorum) son comunes en escuelas de luchadores. Han ocurrido brotes nosocomiales de infección por VHS 1 en pacientes y personal paramédico, particularmente en enfermeras neonatólogas o de unidades de cuidados intensivos, así como en dentistas. Las infecciones anales y perianales por VHS 2 son comunes entre homosexuales masculinos sexualmente activos. Prácticas heterosexuales también han hecho posible el aumento de la incidencia del herpes anogenital.⁹

La primoinfección por HSV2 predomina a partir de la pubertad. 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.

Prevención

El VHS-1 es especialmente contagioso durante los episodios de herpes labial sintomático, aunque también puede transmitirse sin presencia de síntomas y signos. Las personas activas de herpes labial deben evitar el contacto bucal con otras personas, no debe compartir objetos que tengan contacto con la saliva, tampoco deben tener un contacto bucogenital, para evitar la transmisión del herpe a los genitales, ni otras relaciones sexuales mientras presenten síntomas de herpes genital.

Las personas infectadas por VHS-1, no pueden volver a contraer ese virus, pero si contraer una infección genital por el VHS-2. El uso correcto y sistemático de preservativos puede ayudar a prevenir la propagación del herpes genital. No obstante el preservativo solo reduce el riesgo de infección debido a que, los episodios de herpes genital pueden afectar zonas desprotegidas.

Las embarazadas con síntomas de VHS-2 deben informar a los profesionales de la salud que las atienden, dado que la prevención de la adquisición de nuevas infecciones herpéticas es particularmente importante en la etapa final del embarazo, pues existe un elevado riesgo de herpes neonatal.¹⁰

DIAGNÓSTICO DE VHS

1) Diagnóstico directo

- a) Apariencia histológica de las lesiones (citología)
- b) Técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (RCP)
- c) Aislamiento viral en cultivo celulares

2) Diagnóstico indirecto

- a) Detección de antígenos virales
- b) Serología

La base diagnóstica del virus son, en conjunto, su estructura, mecanismo, y manifestación clínica. Estos datos o características ofrecidas por el virus permiten su detección e identificación.

Los exámenes de laboratorio se realizan a partir de muestras de lesiones activas cutáneas o mucosas, o de secreciones; de células obtenidas por

raspado de lesiones herpéticas de piel, LCR y Sangre. Para su conservación las muestras exigen una temperatura de 4° C.

Anteriormente se citó que el virus en ocasiones se presenta de manera asintomática, en estos casos la presencia vírica puede ser detectada sencillamente por medio de un Leucograma. Este expresa, por lo general, una leucocitosis con predominio de linfocitos, monocitos y eosinófilos. La eosinófilos, en particular, indica la tenencia de enfermedades dermatológicas, coincidiendo esta característica con la patogénesis del virus herpes simple. Este no es considerado un diagnóstico diferencial, más bien, general.

CITOLOGÍA

Apariencia histológica de las lesiones causadas por el VHS. (Anexo.10)

Como parte de su mecanismo de acción, el virión, desencadena una serie de transformaciones morfológicas en la célula infectada. A esta acción se le denomina **efecto citopático** (ECP).¹²

El efecto citopático causado por los VHS tarda en ser observable una media de 1-3 días. Cuando la carga viral presente es de escasa magnitud, el plazo puede alargarse hasta los 5-7 días; aunque el VHS-1 ocasiona un ECP de mayor extensión que el VHS-2 (forma placas).

Este, cuenta como un aspecto aprovechable en el citodiagnóstico del virus. Los cambios producto del efecto viral son microscópicamente observables, por la aplicación de tinciones celulares, tales como Hematoxilina –Eosina o Papanicolau. Permite advertir características anómalas como; la marginación de la cromatina, la presencia de células gigantes multinucleadas y/o células epiteliales que contienen inclusiones intranucleares.

El diagnóstico para el virus herpes simplex por esta vía, citopatológica, es relativamente inespecífico.

TÉCNICA EN REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA

La **técnica de reacción en cadena de la polimerasa (Anexo.11)** posee una sensibilidad que excede la del cultivo celular y la de cualquiera de los métodos de detección de antígeno viral. Tiene la capacidad de detectar de 10 a 10⁸ copias del ADN de los herpesvirus en 20ul de muestra. El uso de la PCR ha encontrado plena justificación cuando se dispone de muestras en las que cabe esperar cargas virales bajas: úlceras de varios días de evolución y, particularmente, costras, y para detectar la excreción “subclínica” o asintomática de los VHS.

El advenimiento de nuevos formatos de PCR, muy especialmente la **PCR en “tiempo real”** y la **PCR isotérmica con amplificación mediante bucles**,

permite aventurar que estos métodos sustituirán al cultivo clásico como prueba de referencia en el diagnóstico del herpes.

La **PCR “en tiempo real”** es muy sensible, reproducible y de rápida ejecución. Permite cuantificar la carga viral en la muestra (de interés para estimar el riesgo de enfermedad neonatal y evaluar la eficacia del tratamiento), y tipificar el VHS en una sola reacción. Esto último es posible : a través del análisis de las denominadas curvas de disociación; las de VHS-1 y VHS-2 resultan identificables por la existencia de 2 pares de bases de diferencia, en la región de unión de los cebadores al ADN viral; mediante secuenciación directa del amplicón, o empleando un formato de PCR anidada y múltiple.¹³

El mayor inconveniente de la PCR en “tiempo real” es que resulta cara; pero no es el único; la existencia de cepas circulantes con mutaciones puntuales en las regiones de unión del DNA viral a los cebadores de uso habitual y, en ocasiones, el particular contenido en sales de algunos especímenes pueden dificultar la tipificación de los VHS, aunque no su detección.

La **PCR isotérmica con amplificación mediante bucles** es una prometedora alternativa a la PCR en “tiempo real”. Su tiempo de ejecución es menor (1 h, aproximadamente), es más barata (sólo se precisa de un lector turbidimétrico para la detección de los amplicones) y permite, al igual que ésta, la tipificación del VHS, utilizando para ello varios cebadores que hibridan selectivamente con secuencias específicas de tipo presentes en el gen que codifica la glucoproteína gG; pero es menos sensible que la PCR en “tiempo real”. Mediante este método también es posible la cuantificación de la carga viral presente en la muestra.³

Análisis de ADN amplificado mediante la reacción en cadena de la polimerasa constituye un estudio rápido y eficaz. Este constituye el método más sensible para la detección del genoma VHS en el LCR, útil en el diagnóstico de encefalitis por VHS. El análisis del genoma del VHS con enzimas de restricción proporciona la tipificación precisa de los aislamientos de este virus.

AISLAMIENTO EN CULTIVOS CELULARES

Numerosas líneas celulares son sensibles a los HSV: En la práctica se pueden utilizar células embrionarias humanas. 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 positividad de los cultivos (de 36 horas a varios días) varía en función de la concentración de partículas infecciosas de la muestra.¹⁴

En primer lugar, la probabilidad de recuperar estos virus en un cultivo celular depende críticamente de varios factores:

- ✓ **Rapidez con que se inocula la muestra:** existe una razón inversa entre el tiempo de demora en el procesamiento del espécimen y la probabilidad de cultivar estos virus; si la muestra no va a ser inoculada inmediatamente conviene mantenerla en medio de transporte a 4°C hasta su procesamiento, si éste se produce en las siguientes 48 h, o a -20°C si el retraso es mayor.
- ✓ **Carga viral presente en la muestra:** es más fácil recuperar los VHS a partir de las lesiones presentes en la primoinfección que de aquellas que se producen en las recurrencias, en relación con el hecho de que la carga viral en las primeras suele ser mayor que en éstas (más de 106 viriones frente a 10²-10³ por 0,2 ml de inóculo).

En ausencia de lesiones, el cultivo fracasa frecuentemente; en presencia de ellas, depende: los VHS se aíslan en más de un 90% de casos cuando se cultivan vesículas (el líquido intravesicular es la mejor muestra posible) y, en menor medida, cuando se inoculan pústulas (80%); el rendimiento del cultivo disminuye sensiblemente (70%) cuando se procesa el escobillonado de la base de las úlceras (no deben utilizarse escobillones de alginato cálcico) y resulta escasamente productivo cuando se emplean costras homogeneizadas; el cultivo del exudado uretral permite en ocasiones, sobre todo en el varón, el aislamiento de los VHS; por último, el escobillonado rectal en pacientes con herpes anal es habitualmente inútil.

Para detectar la excreción “subclínica” o asintomática de los VHS, en **especial del VHS-2**, el lavado cervicovaginal es la mejor muestra posible, sensiblemente más productiva que el escobillonado endocervical o vaginal, si bien la dilución de la muestra inherente a este tipo de procesamiento reduce la probabilidad de éxito cuando el nivel de excreción viral es bajo.

- ✓ **Cultivo celular utilizado:** si bien los VHS pueden cultivarse en una amplia variedad de tipos celulares, las células primarias de riñón de conejo y las células de rhabdomyosarcoma resultan especialmente ventajosas; no obstante, el uso de líneas celulares diploides como las MRC-5 (fibroblastos de pulmón fetal humano) es una buena alternativa, por cuanto son sufridas y están disponibles comercialmente. Las líneas celulares continuas como las Vero resultan menos sensibles que las anteriores a la infección por los VHS.

El efecto citopático (ECP) produce un hinchamiento celular y el desprendimiento celular progresivo del soporte (botella, microplaca, tubo). Ciertas cepas provocan la formación de sincitios 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.¹² (Anexo.12)

DETECCIÓN DE ANTÍGENOS VIRALES

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.

Se utilizan numerosas técnicas; las más comunes son las **inmunoenzimáticas (ELISA) (Anexo.13), inmunofluorescencia (Anexo.14).**

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-VHS 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.

La detección de antígeno viral mediante inmunofluorescencia (IF) o ELISA es una opción diagnóstica sencilla y rápida (tiempo de ejecución menor de 5 h), y, obviamente, no precisa de la viabilidad del virus presente en la muestra, pero resulta desfavorable en relación con el cultivo celular puesto que su sensibilidad, cuando se emplean especímenes genitales, no supera en el mejor de los casos el 85%, eso en presencia de lesiones manifiestas.¹⁴

En cualquier caso; 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; o por biopsia. En la práctica de estos procedimientos la muestra óptima es el escobillado enérgico de la base de las lesiones, puesto que permite arrastrar eficazmente células potencialmente infectadas.

SEROLOGÍA

Los métodos serológicos, basados en la detección de anticuerpos específicos frente a los VHS, juegan un papel muy limitado en el diagnóstico individual de las infecciones herpéticas sintomáticas, pudiendo utilizarse en aquellos casos en que no se alcanza el diagnóstico por métodos directos y cobrando su verdadero sentido en el diagnóstico de la primoinfección herpética, así como su reactivación intermitente, limitan aún más la aplicación del diagnóstico serológico. En las recidivas no suele producirse un aumento significativo de los títulos de anticuerpos. Además, ambos tipos virales comparten gran número de epítomos lo que dificulta la detección de anticuerpos específicos de tipo.

Técnicas de detección de anticuerpos con antígenos no purificados

Hasta mediada la década de los noventa sólo se disponía de métodos comerciales que detectaban genéricamente la presencia de anticuerpos frente a los VHS, pero no distinguían los tipo-específico frente al VHS1 y VHS2. En la actualidad existen al menos siete sistemas comerciales que no debieran utilizarse ni para el diagnóstico de un episodio clínico ni como técnica de cribado. Como mucho, la ausencia de anticuerpos con estas técnicas tan sólo permite excluir la infección previa por VHS.¹⁵

Técnicas de detección de anticuerpos con antígenos específicos

Estas técnicas permiten diferenciar los anticuerpos específicos de tipo generados en el curso de una infección herpética. En la actualidad existen gran variedad de métodos, que se pueden dividir en dos grupos:

a) Técnicas de referencia no comerciales: algunas de ellas utilizan antígenos obtenidos de cultivos celulares infectados por VHS1 y VHS2, ensayos con anticuerpos monoclonales bloqueantes. Otras utilizan como antígenos las glucoproteínas gG-1 y gG-2, purificadas o recombinantes, en diferentes formatos: inmunoblot gG-2, inmunodot EIA. Todas estas técnicas son similares en su eficacia global tanto por su sensibilidad como por su poder discriminatorio entre los anticuerpos VHS1 y VHS2. Su principal aplicación es en la evaluación de los nuevos métodos comerciales, pero no son prácticas para su uso clínico.

b) Técnicas comerciales basadas en la glucoproteína gG específica: existen seis técnicas comerciales, dos para VHS1, tres para VHS2 y una que combina ambos. Los resultados obtenidos con ellas son comparables entre sí y muy superiores a las que emplean antígenos no purificados. Poseen similar especificidad y una sensibilidad variable.

Las técnicas basadas en gG recombinante pueden no detectar todos los anticuerpos que se generan en el curso de la infección. Además, las técnicas basadas en una sola proteína son vulnerables a variaciones en el título y tiempo de respuesta de los anticuerpos. En algunos países se ha producido un incremento de las infecciones genitales por VHS1 que no serían detectadas por aquellas técnicas que emplean sólo gG-2.¹⁵

Interpretación de la presencia de anticuerpos VHS1

En una persona sin historia de herpes labial, la presencia de este tipo de anticuerpos representa, en principio, una adquisición oral asintomática. Sin embargo, hay que tener presente que la incidencia de VHS1 genital está aumentando en adultos jóvenes con actividad sexual. En esta situación, una seroconversión a VHS1 puede ser indicativa tanto de herpes genital como oral. El fenómeno anterior se ha puesto de manifiesto en poblaciones jóvenes de países escandinavos y de Inglaterra, en donde el herpes genital por VHS1 está aumentando, debido probablemente a que la seroprevalencia de anticuerpos frente al VHS1 en esta población ha disminuido, haciendo posible este hecho.¹⁴

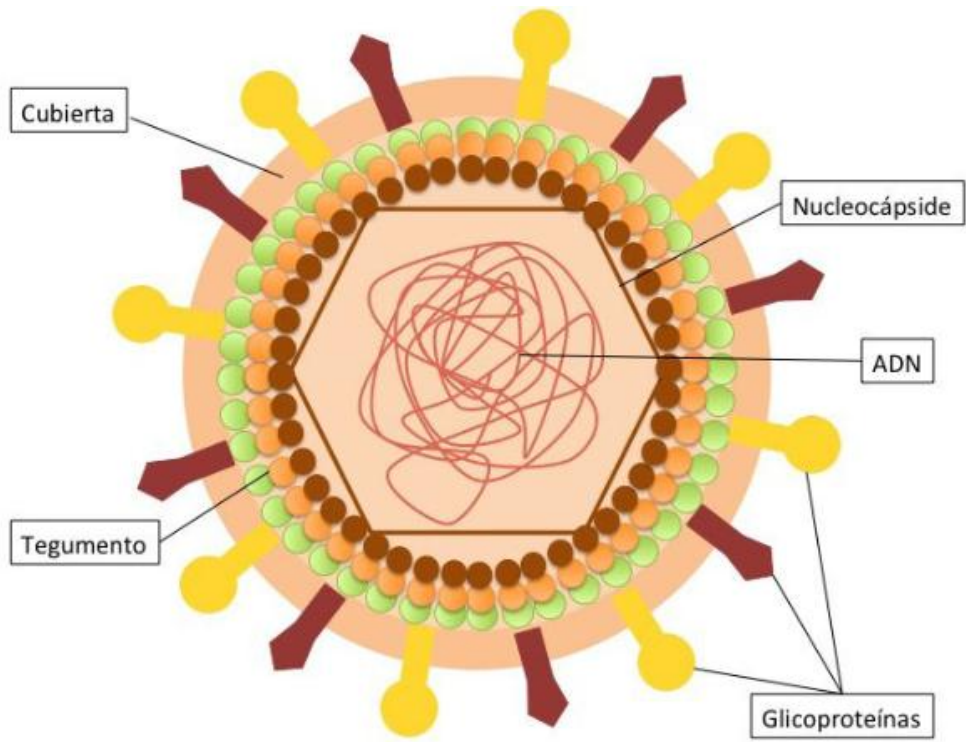
Interpretación de la presencia de anticuerpos VHS2

Algunos estudios prospectivos han demostrado que prácticamente todos los pacientes con anticuerpos específicos frente al VHS2 tienen herpes genital. Aunque en un 20% de los pacientes con herpes genital primario por VHS2 se han descrito infecciones orales por VHS2, éste raramente recidiva en la boca. Asimismo, la infección oral por VHS2 en ausencia de infección genital es muy rara.¹⁴

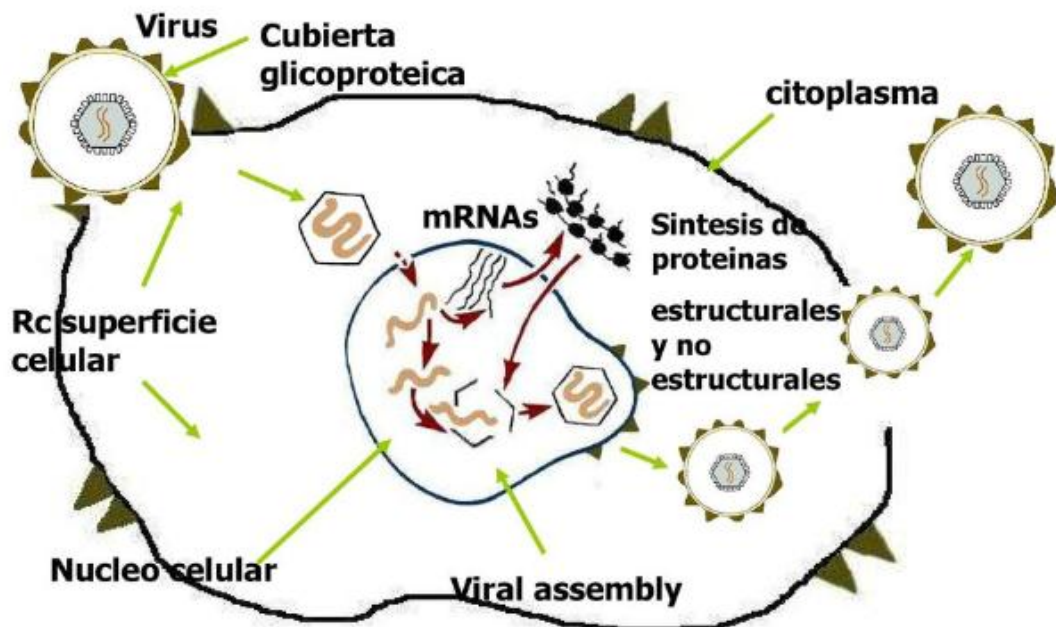
CONCLUSIONES

El mecanismo de acción del virus, su morfología, y patogenicidad conspiran a favor de su detección e identificación en su diagnóstico. Los datos o características ofrecidas por el virus permiten su detección e identificación ya sea por un diagnóstico directo o indirecto. En la primera categoría se observan; el efecto citopático del virus, ya sea en la apariencia histológica de las lesiones, o producto del cultivo en líneas celulares; y la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (RCP), utilizada en la amplificación del ADN viral. En el diagnóstico indirecto se utilizan técnicas inmunoenzimáticas e inmunofluorescencia para la detección del antígeno viral y la serología en la detección de anticuerpos específicos frente a los VHS.

Anexos



Anexo.1



Anexo.2



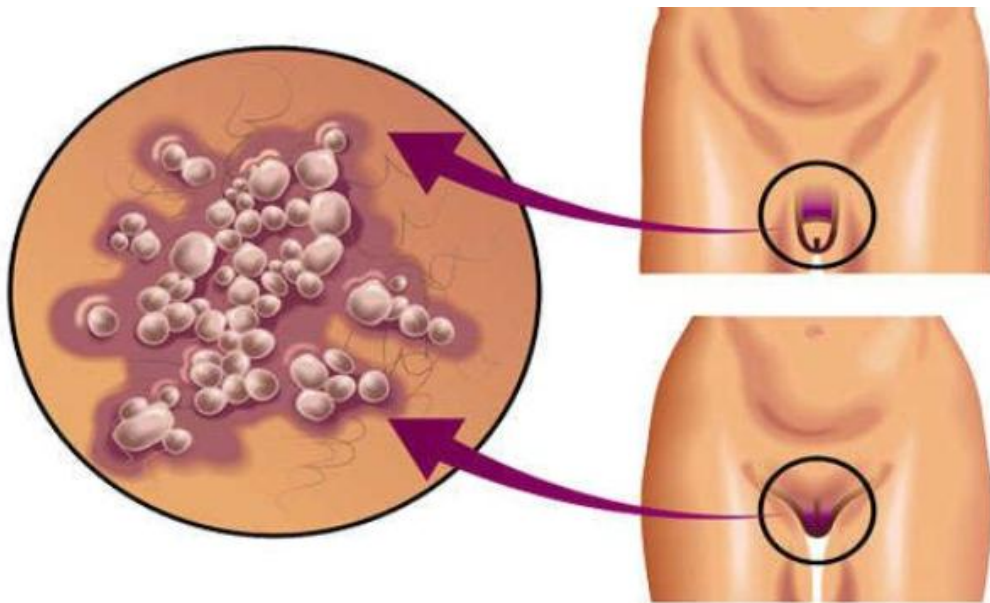
Anexo.3



Anexo.4



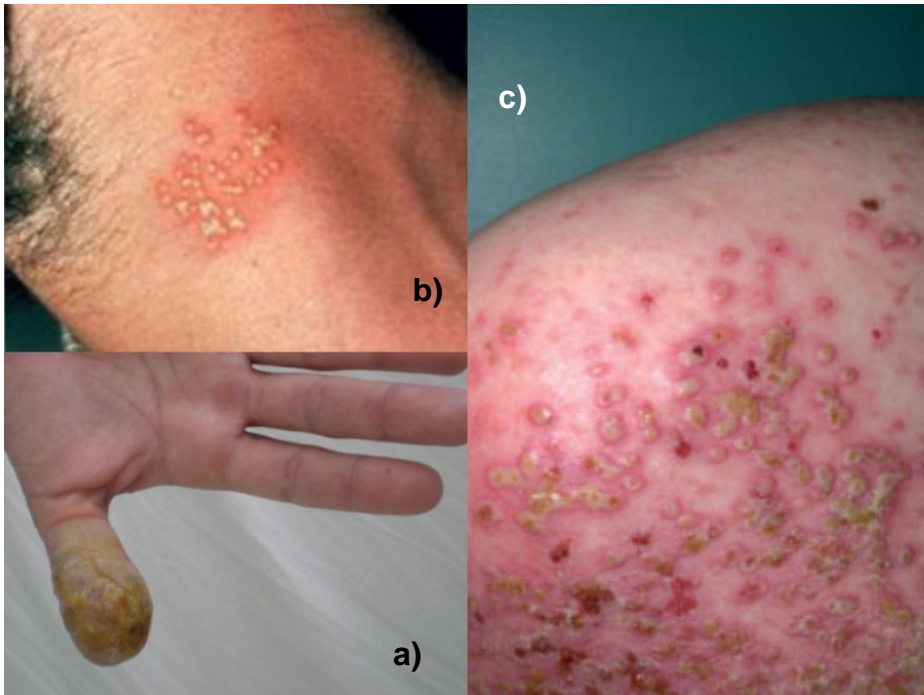
Anexo.5



Anexo.6



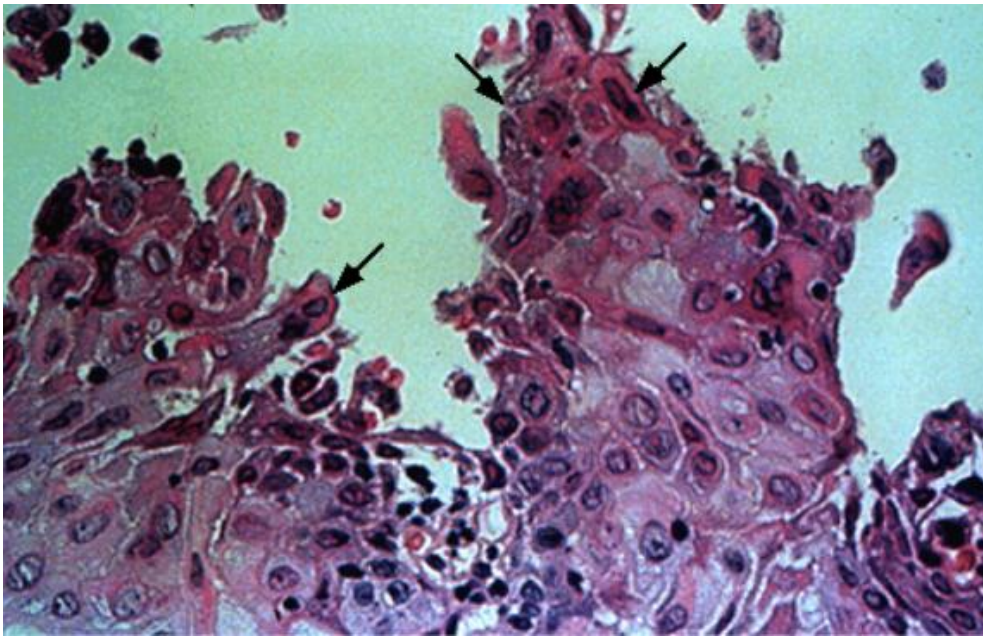
Anexo.7



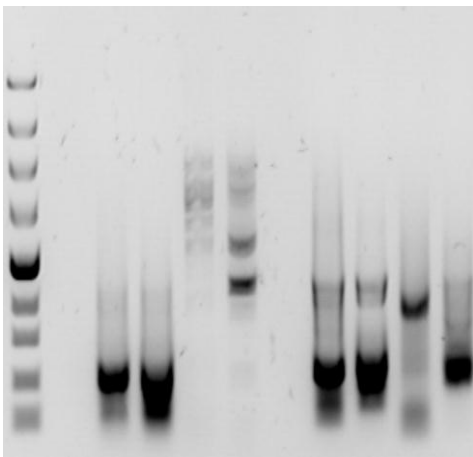
Anexo.8



Anexo.9



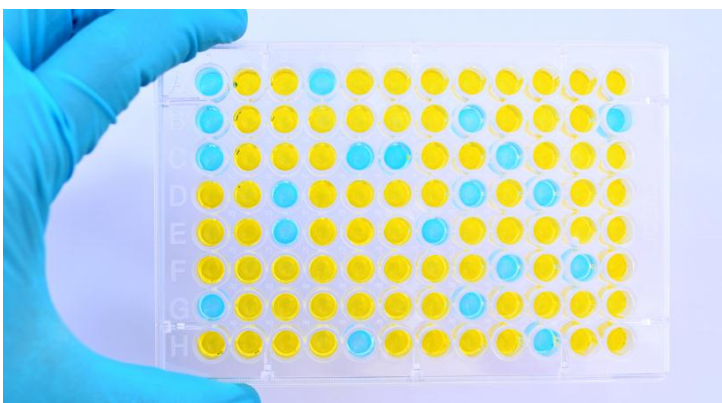
Anexo.10



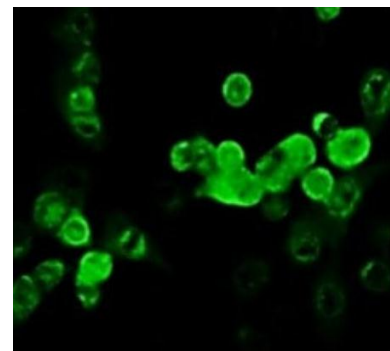
Anexo.11



Anexo.12



Anexo.13



Anexo.14

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Llop A, Hernández. Microbiología y Parasitología Médicas Tomo II. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2001
2. Temas de Bacteriología y Virología para CEFA. Montevideo. Librería Médica Editorial, 2001. Tomo I.
3. Temas de Bacteriología y Virología para CEFA. Montevideo. Librería Médica Editorial, 2004. Tomo II.
4. Pousa Castro X, Bascones Martínez A. Herpesvirus. España, Madrid. Rev. Odontoestomatol. 2011.
5. Corey L, Mandell G, Benett J, Dolin R. Enfermedades Infecciosas Principios y Práctica. Buenos Aires: Editorial Panamericana. 2000.
6. Aznar J. Infecciones por virus Herpes simplex. En: Perea EJ. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Barcelona: Ediciones Doyma, 2009.
7. Koelle D, Corey L. Herpes simplex: Insights on pathogenesis and possible vaccines. Annu Rev Med. 2008.
8. Marimón Torres ME. Medicina bucal I. La Habana, Cuba: Editorial Ciencias Médicas; 2009.
9. Rhoda, L. Genital Herpes: Review of the epidemic and potential use of type specific serology.(Clinical Microbiology Reviews) 2005 Jan. Vol. 12, Nº 1. Pag 1-8.
10. Dabanch J, Peña. Enfermedades infecciosas: Infección por el virus herpes simple. Kraków, Polonia: Editorial Medycyna Praktyczna. 2019. Disponible en: <http://empendium.com>
11. Anzivino E, Fioriti D, Mischitelli M. Herpes simplex virus infection in pregnancy and in neonate: status of art of epidemiology, diagnosis, therapy and prevention. 2009. Disponible en: <http://www.virologyj.com>
12. Mattera, A. Temas de Virología Médica. Montevideo: Editorial Médica Panamericana; 2010
13. Wald A, Huang M, Carrell D, Selk S, Corey L. Polymerase chain reaction for detection of herpes simplex virus (HSV) DNA on mucosal surfaces: comparison with HSV Isolation in cell culture. J Infect Dis, 2017.
14. Navarro, D. Diagnóstico del VHS. España: Servicio de Microbiología del Hospital Clínico Universitario de Valencia; 2019.
15. Morrow, A. Serological testing for herpes simplex virus HSV-1 and HSV-2 infection. Clin Infect Dis. 2016.