

INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL "PEDRO KOURÍ"

## Prevalencia de anticuerpos contra virus herpes simple, virus Epstein-Barr y citomegalovirus en un grupo de pacientes con hemodiálisis realizada

*Dra. Sonia Resik,<sup>1</sup> Dr. Antonio Enamorado,<sup>2</sup> Lic. Yulegsia Tallo,<sup>3</sup> Lic. Carlos Suárez,<sup>3</sup> Dra. Vivian Kourí,<sup>4</sup> Dra. Belsy Acosta<sup>5</sup> y Téc. Serafina García<sup>6</sup>*

### RESUMEN

Las infecciones producidas por herpesvirus desempeñan un papel fundamental en la patología postrasplante lo que hace imprescindible tener caracterizada desde el punto de vista serológico a la población candidata de recibir un injerto renal. Se detectaron títulos de anticuerpos IgG mediante inmunofluorescencia indirecta contra virus herpes simple (VHS), virus Epstein Barr (VEB) y citomegalovirus (CMV), en 100 pacientes sometidos a tratamiento hemodialítico en el Instituto de Nefrología. Se detectó una prevalencia de anticuerpos de 100 % para el CMV y de 95 % para el VHS y el VEB. Los títulos promedios geométricos (TPG) de anticuerpos contra CMV resultaron ser significativamente superiores. No se encontró correlación entre los TPG y el sexo, la edad, el tiempo de evolución de la enfermedad, el número de transfusiones y el número de trasplantes.

**Descriptores DeCS:** SIMPLEXVIRUS/inmunología; HERPES VIRUS 4 HUMANO/inmunología; CYTOMEGALOVIRUS/inmunología; ANTICUERPOS VIRALES/inmunología; HEMODIALISIS.

Los pacientes que sufren de una insuficiencia renal crónica (IRC) en estadio final necesitan de un tratamiento dialítico para poder sobrevivir en espera de un trasplante de riñón, que puede ser por hemodiálisis o por diálisis peritoneal.<sup>1</sup>

A pesar de que la supervivencia de los injertos renales trasplantados en los últimos años puede ser alta, las complicaciones en el período postrasplante suelen ser múltiples y entre ellas se destacan las de origen infeccioso. La mortalidad, aunque baja, se relaciona más frecuente con la aparición de infecciones que pueden emerger como consecuencia de la reactivación de una infección latente, o transmitida por el órgano trasplantado o por los hemoderivados transfundidos o adquiridas en el período postrasplante.<sup>2</sup>

El factor más importante en cuanto a originar infecciones es la inmunosupresión iatrogénica. Los fármacos inmunosupresores afectan de manera predominante el sistema inmunológico celular, en especial la función linfocitaria.<sup>3</sup>

Los herpesvirus son agentes que después de infectar primariamente a un individuo permanecen de forma latente y pueden hacer recidivas en presencia de determinados factores, entre ellos muy especial la inmunosupresión.<sup>4</sup>

Es por ello que caracterizar desde el punto de vista serológico a los pacientes con la hemodiálisis realizada, permite tener conocimiento de la posibilidad de adquirir una infección postrasplante por medio de una reactivación, de una infección primaria o de una reinfección,

<sup>1</sup> Máster en Ciencias. Especialista de II Grado en Microbiología. Investigadora Agregada. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí".

<sup>2</sup> Especialista de I Grado en Nefrología. Profesor Auxiliar. Instituto de Nefrología.

<sup>3</sup> Licenciado en Microbiología. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí".

<sup>4</sup> Máster en Ciencias. Especialista de I Grado en Microbiología. Investigadora Agregada. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí".

<sup>5</sup> Especialista de I Grado en Microbiología. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí".

<sup>6</sup> Técnica en Microbiología. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí".

estas 2 últimas adquiridas a través del órgano donado o de los hemo-derivados utilizados durante este período.

Como parte de un protocolo de estudio del papel que desempeñan las infecciones por herpesvirus en los pacientes con trasplante de riñón, se estudió la prevalencia de anticuerpos contra el virus de herpes simple (VHS), el virus de Epstein Barr (VEB) y el citomegalovirus (CMV) en una población de pacientes con hemodiálisis realizada, posibles candidatos a realizarles un trasplante.

## MÉTODOS

### UNIVERSO DE ESTUDIO

Estuvo integrado por la totalidad (100 pacientes) de pacientes con insuficiencia renal crónica en estadio terminal, que recibieron tratamiento hemodialítico durante los meses de julio y agosto de 1997 en el Instituto de Nefrología.

### MUESTRA

A todos estos pacientes se les realizó una extracción de sangre para obtener 1 mL de suero, que fue conservado a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de su utilización.

Junto con la toma de sangre se recogió un grupo de datos clínicos y epidemiológicos que incluyeron: edad, sexo, tiempo de evolución de la enfermedad, número de transfusiones y número de trasplantes.

El promedio de edad del grupo de pacientes estudiados fue de 30 años, el tiempo de evolución de 2,4 años y la muestra estuvo conformada por 45 mujeres y 55 hombres.

### PROCEDIMIENTO DE LABORATORIO

La detección de anticuerpos contra VHS, CMV y VEB se realizó mediante inmunofluorescencia indirecta.<sup>5</sup> Se realizaron diluciones seriadas de los sueros a evaluar (1:5, 1:20, 1:80, 1:320, 1:1 280) y se depositaron 10 mL de cada una sobre láminas de inmunofluorescencia en las que se habían fijado células que expresaban antígenos específicos para cada uno de los virus (para VHS se utilizó la línea de células Vero infectadas con VHS-1, para el CMV se utilizó la línea MRC-5 infectada con la cepa AD169 y para el VEB la línea celular P3HR1 permanentemente infectada con el virus y que expresa en su superficie el antígeno de la cápside viral). Las láminas fueron incubadas durante 60 min a  $37^{\circ}\text{C}$  en cámara húmeda. Transcurrido este tiempo se realizaron 3 lavados

con solución salina tamponada: uno rápido y 2 de 5 min cada uno. Se añadieron 10 mL de conjugado anti-IgG humano diluido 1:20 (Sigma, EUA) y se incubaron nuevamente bajo las mismas condiciones durante 30 min, momento en el cual se realizaron 3 lavados similares a los descritos antes. Luego de secar las láminas se adicionó glicerina tamponada en el centro de cada pocillo y se colocaron cubreobjetos para proceder a examinarlas al microscopio fluorescente.

El título de anticuerpos IgG de cada suero fue considerado como el recíproco de la máxima dilución en la que fue observada fluorescencia específica.

### PROCESAMIENTO ESTADÍSTICO

Se calcularon porcentajes y títulos promedio geométricos (TPG). Se empleó la comparación de medias geométricas mediante la prueba de Anova y se aplicó el coeficiente de correlación de Spearman.<sup>6,7</sup>

## RESULTADOS

En la figura 1 se muestran los porcentajes de prevalencia de anticuerpos a VHS, VEB y CMV en los pacientes estudiados con tratamiento hemodialítico, se demostró 100 % de positividad para CMV y 95 % para VHS y VEB.

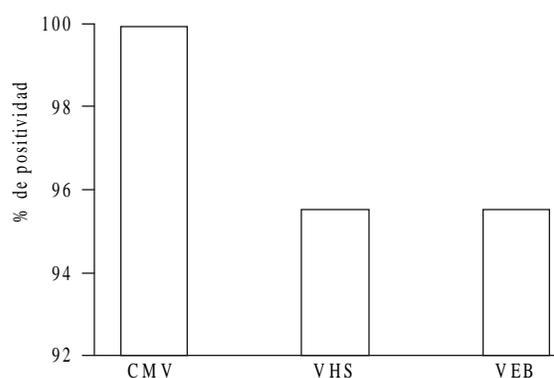
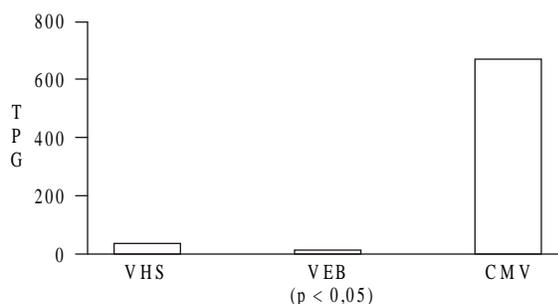


Fig. 1. Prevalencia de anticuerpos a VHS, VEB y CMV en los pacientes estudiados con tratamiento hemodialítico.

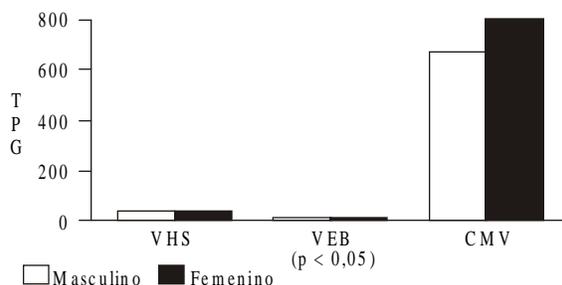
En la figura 2 se observan los TPG a los diferentes herpesvirus en el grupo de pacientes estudiados. El mayor TPG se correspondió con CMV que fue de 1: 692 y es estadísticamente significativo al compararlo con los TPG contra el VHS (1:110) y el VEB (1:34) ( $p < 0,05$ ), según la prueba de Anova.

**TABLA.** Relación de los TPG a diferentes herpesvirus con la edad, el número de transfusiones recibidas y el tiempo de evolución en meses

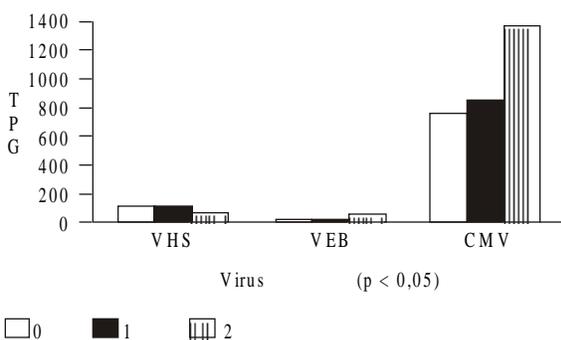
Virus	No. de Edad*	Tiempo de transfusiones*	evolución*
VHS	-0,05 (p > 0,05)	0,16 (p > 0,05)	-0,12 (p > 0,05)
VEB	0,09 (p > 0,05)	-0,05 (p > 0,05)	0,11 (p > 0,05)
CMV	0,13 (p > 0,05)	-0,09 (p > 0,05)	0,10 (p > 0,05)



**Fig. 2.** TPG de anticuerpos a diferentes herpesvirus en un grupo de pacientes hemodializados.



**Fig. 3.** Comparación por sexo de los TPG de anticuerpos a diferentes herpesvirus.



**Fig. 4.** Comparación de los TPG de anticuerpos a los herpesvirus en dependencia del número de trasplantes.

Al comparar los TPG de anticuerpos frente al VHS, VEB y CMV entre sexo femenino y masculino no se encontraron diferencias significativas (fig. 3).

En la tabla se muestra la no relación de los TPG a VHS, VEB y CMV con la edad, el número de transfusiones y el tiempo de evolución de la enfermedad en meses.

En la figura 4 se comparan los TPG en dependencia del número de trasplantes. Aunque no se encontraron diferencias significativas, es de destacar la tendencia ascendente que muestran los TPG a CMV en la medida en que aumenta el número de trasplantes.

## DISCUSIÓN

Desde el punto de vista de prevenir la ocurrencia de infecciones en la evolución de un trasplante renal es de marcado interés para el médico de asistencia la evaluación serológica de distintos marcadores de inmunidad, frente a determinados agentes que una vez inmunodeprimido el paciente pudiesen ser causa de alguna manifestación clínica y contribuir de manera negativa en la evolución del paciente con trasplante.<sup>8</sup>

En Cuba existían reportes de estudios realizados para evaluar el comportamiento serológico de la población con hemodiálisis realizada frente a diferentes marcadores de hepatitis viral (Pérez VR. Prevalencia de hepatitis B y C en pacientes hemodializados. [Tesis para optar por el título de Especialista de I Grado en Nefrología.]. Ciudad de La Habana. Instituto de Nefrología, 1997), pero nunca se habían estudiado a profundidad ni en la totalidad de los pacientes atendidos en un servicio de hemodiálisis la prevalencia de anticuerpos contra virus de la familia Herpesviridae, que son en definitiva los que más se han correlacionado con patologías infecciosas en la etapa postrasplante.<sup>2</sup>

La probabilidad y edad de adquisición de una infección por herpesvirus está estrechamente relacionada con las condiciones socioeconómicas. En los países en desarrollo y en las comunidades pobres de naciones desarrolladas la mayoría de los individuos se infectan en la niñez. Las condiciones de hacinamiento e higiene

deficiente, entre otros, son los factores que determinan las diferencias en cuanto a seroprevalencia.<sup>9</sup>

En Cuba, en estudios previos, *Marrero* y otros encontraron más de 90 % de prevalencia de anticuerpos a estos virus en donantes sanos y 100 % en un grupo de pacientes infectados por virus de la inmunodeficiencia humana (VIH).<sup>10</sup> Estos porcentajes no difieren con los encontrados en la población de pacientes con hemodiálisis realizada (fig. 1).

*Gleen* reportó que no existen marcadas diferencias en la incidencia de niveles significativos de anticuerpos contra CMV entre pacientes con IRC y tratamiento hemodialítico y la población sana.<sup>11</sup> Para este tipo de pacientes esta autora reportó 94 % de prevalencia de anticuerpos contra CMV<sup>11</sup> y *Hornef* detectó 98,7 % para el VEB;<sup>12</sup> mientras que en la población sana de Santiago de Chile, Ferris obtuvo 76,6 % de seroprevalencia para el VEB,<sup>13</sup> *Wagner* en Uganda, en una comunidad rural, reportó 91 % de presencia de anticuerpos contra VHS<sup>14</sup> y *Clarke* encontró en una comunidad urbana de EE.UU. 95,2 % de prevalencia de anticuerpos contra CMV.<sup>15</sup>

El mayor TPG se correspondió con CMV (fig. 2) y es estadísticamente significativo al compararlos con los TPG contra el VHS y el VEB.

Como ya se expuso antes, la prevalencia de infección por CMV en la población cubana es alta. Una vez infectado con CMV un individuo porta el virus de por vida en glándulas salivales, riñón, polimorfonucleares, monocitos y linfocitos T y puede excretarlo intermitentemente en saliva, orina, semen, secreciones cervicales y leche materna.<sup>16,17</sup> Alrededor de 10 % de la población puede excretar el virus en algún momento de forma asintomática<sup>18</sup> y se reporta la persistente infección citolítica crónica en niveles muy bajos y que resulta inaparente,<sup>16</sup> a diferencia de lo que ocurre en los individuos infectados por VHS donde se describen valores de 1 a 5 % de excreción asintomática.<sup>19</sup>

*Adler* propone la asociación entre el envejecimiento y el título de anticuerpos, como factores asociados con la edad expone las reactivaciones y las infecciones secundarias. En el caso del CMV, al igual que ocurre con otros herpesvirus, la inmunidad a la reinfección no es completa, algunos individuos pueden reinfectarse con una segunda cepa o ser infectados simultáneamente con múltiples cepas.<sup>16</sup> Se ha descrito que a diferencia del CMV, para el VHS la infección con diferentes cepas es inusual en individuos con un sistema inmune en consideración normal,<sup>19</sup> mientras que con el VEB se observan más reinfecciones en individuos muy inmunodeprimidos.<sup>20</sup>

En adultos la reinfección ocurre entre mujeres y hombres con múltiples parejas sexuales, esto indica exposición frecuente. La frecuencia e importancia clínica de la reinfección para individuos inmunocompetentes se

desconoce, no obstante, no es menos cierto que estas reinfecciones desempeñan un papel importante para la elevación en los títulos de anticuerpos contra el agente viral por parte del sistema inmune del individuo infectado secundariamente.<sup>16</sup>

Otro factor que puede contribuir a mantener títulos de anticuerpos muy elevados frente a CMV en esta población de pacientes con hemodiálisis realizada, pudiera estar relacionado con los elevados niveles de  $\beta_2$  microglobulinas detectadas en pacientes sometidos a tratamiento dialítico con membranas de Cuprofán.<sup>21,22</sup> *Grundy* ha propuesto la hipótesis de escape a los anticuerpos neutralizantes para el CMV a partir de la unión de la  $\beta_2$  microglobulina al sitio receptor para los anticuerpos neutralizantes que están en la superficie del virus, y aumenta la cantidad de virus circulante expuesto al sistema inmune.<sup>23</sup>

Al comparar los TPG de anticuerpos frente al VHS, VEB y CMV entre sexo femenino y masculino no se encontraron diferencias significativas (fig. 3), esto correspondía con lo descrito en la literatura donde no se reporta dependencia de infección con respecto al sexo.<sup>9</sup>

Con respecto a la edad (tabla) es de esperar que no existan marcadas diferencias ya que el grupo de pacientes se corresponde con individuos adultos, comprendidos la mayoría entre los 40 y 50 años de edad.

El análisis de las transfusiones resulta de interés una vez que está bien descrito en la literatura su efecto en la transmisión de agentes infecciosos como el CMV y VEB, unido al efecto inmunosupresor transitorio que provocan, lo que guarda relación con reactivaciones virales frecuentes.<sup>16,17</sup> No se confirma esta vía de transmisión para el VHS.<sup>19</sup> El riesgo de transmisión de CMV por sangre ha sido reportado como 2,4 % por unidad de sangre transfundida,<sup>24</sup> no resulta así para el VEB donde la notificación ha sido infrecuente.<sup>20</sup>

En este estudio la no correlación pudiera obedecer a la presencia de una población politransfundida con más de 10 transfusiones por individuo como promedio. Esto implica que de ser ésta la vía de reinfección, actuaría de forma uniforme sobre la totalidad de la población, y sería muy difícil evidenciar diferencias en cuanto a título de anticuerpos.

La variante terapéutica a la IRC en Cuba descansa en el plan de trasplante por lo que la mayoría de los pacientes en planes de diálisis reciben un trasplante renal entre 2 y 3 años posteriores al inicio de la terapéutica sustitutiva,<sup>25</sup> por esta razón el tiempo de evolución de la población estudiada no permitió establecer diferencias con respecto a los TPG.

Aun cuando el trasplante renal significa una alternativa terapéutica con éxito, desde hace algunos años casi 20 % de los casos con trasplante pierden su injerto

por complicaciones inmunológicas, y retornan a los planes de diálisis; en países desarrollados es la cuarta causa de ingreso en los servicios de hemodiálisis.<sup>26</sup>

Aunque no se encontraron diferencias significativas en cuanto al número de trasplantes previos (fig. 4), es de destacar la tendencia ascendente que muestran los TPG a CMV en la medida en que aumenta el número de trasplantes, lo que pudiera estar explicado por la marcada inmunosupresión a que son sometidos los pacientes posterior al injerto y la posibilidad de reactivaciones más frecuentes y además, la posible reinfección con una nueva cepa de virus aportada por el órgano donado. En Cuba en 58,4 % de los pacientes con trasplante de riñón se detectan infecciones producidas por CMV (Resik S. Monitoreo de la infección por CMV en pacientes con trasplante renal. [Tesis para optar por el título de Máster en Virología.]. Ciudad de La Habana. Instituto de Medicina Tropical).

#### SUMMARY

Infections from herpes virus play a key role in post-transplantation pathology, so it is indispensable to characterize the group of would-be renal transplant recipients. IgG antibody titers were detected by indirect immunofluorescence to Herpes simplex virus, Epstein Barr virus (EBV) and cytomegalovirus (CMV) in 100 patients treated with hemodialysis in the Nephrology Institute. The prevalence of antibodies to cytomegalovirus and to Herpes simplex and Epstein Barr viruses was 100 % and 95 % respectively. Average geometric titers (AGT) of antibodies to CMV were significantly higher. There was no correlation between AGT and sex, age, time of disease remission, number of blood transfusions and number of transplants.

**Subject headings:** SIMPLEX VIRUS/immunology; HERPES VIRUS 4, HUMAN IMMUNOLOGY; CYTOMEGALOVIRUS/immunology; ANTIBODIES, VIRAL/immunology; HEMODIALYSIS.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Massry SG. Patogenia de la toxicidad urémica. En: Massry SG, Glasscock RJ, eds. *Nefrología*. Tomo 2. Ciudad de La Habana: Editorial Científico-Técnica, 1985;t2:1083-95.
2. Moreno A, Vilardell J. Infecciones oportunistas en pacientes con trasplante renal. *Nefrología* 1996;16(4):291-306.
3. De Marie S. Diseases and drug-related interventions affecting host defense. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1993;12(1):S36-41.
4. Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA, Brooks GF, Butel JS, Ornston LN. *Microbiología Médica*. 14 ed. México: Manual Moderno, 1992:451-57.
5. Riggs JL. Immunofluorescent staining. En: Lennette EH, Schmidt NJ, eds. *Diagnostic procedures for viral, rickettsial and chlamydial infections*. 5 ed. Washington: American Public Health Association, 1979:141-51.
6. Fleis JL. *Statistical methods for rates and proportions*. 2ed. New York: John Wiley and Sons, 1981.
7. Dawson SB, Trapp RG. *Bioestadística médica*. México: Manual Moderno, 1993.
8. Halloran PF, Broski AP, Batiuk TD, Madrenas J. The molecular immunology of acute rejection: an overview. *Transpl Immunol* 1993;1:3-27.
9. Benenson AS. *Control of Communicable Diseases Manual*. 16 ed. Washington: American Public Health Association, 1995:233-6.
10. Marrero M, Álvarez M, Suárez L, Díaz-Jidi M, Kourí V. Estudio de la respuesta serológica a algunos herpesvirus en un grupo de pacientes infectados por el VIH. *Rev Cubana Med Trop* 1992;44(3):208-11.
11. Glenn J. Cytomegalovirus infections following renal transplantation. *Rev Infect Dis* 1981;3(6):1151-77.
12. Hornef MW, Bein G, Ficke L, Steinhoff J, Wagner HJ, Hinderer W, et al. Coincidence of Epstein-Barr Virus reactivation, cytomegalovirus infection and rejection episodes in renal transplant recipients. *Transplantation* 1995;60(5):474-80.
13. Ferres M, Prado P, Ovalle J, Fuentes R, Villarreal L, Ferreccio C, et al. Seroprevalencia de infección por virus de Epstein-Barr en población sana de Santiago de Chile. *Rev Med Chil* 1995;123(12):1447-52.
14. Wagner HV, Van-dyck E, Roggen E, Nunn AJ, Kamali A, Schemid DS, et al. Seroprevalence and incidence of sexually transmitted diseases in a rural Ugandan population. *Int J STD AIDS* 1994;5(5):332-7.
15. Clarke LM, Feldman J, Pardone BJ, Landesman SH, Duerr A, Sierra MF. Factors associated with cytomegalovirus infection among HIV-1 seronegative and seropositive women from urban minority community. *J Infect Dis* 1996;173(1):77-82.
16. Adler SP. New insights into human cytomegalovirus infections. *Prog Med Virol* 1990;37:136-55.
17. Sing GK, Ruscetti FW. The role of human cytomegalovirus in haematological diseases. *Baillieres Clin Haematol* 1995;8(1):149-63.
18. White DO, Fenner FJ. *Medical virology*. 4 ed. California: Academic Press, 1994:317-47.
19. Whitley RJ. Herpes simplex virus. En: Fields BN, Knipe DM, Howley PM eds. *Fields virology*. 3 ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1996;V2:2297-342.
20. Rickinson AB, Kieff E. Epstein-Barr Virus En: Fields BN; Knipe DM. Howley PM eds. *Fields Virology*. 3 ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1996;V2:2397-446.
21. Hakim RM. Clinical implications of hemodialysis membrane biocompatibility. *Kidney Int* 1993;44:484-94.
22. Stone WJ, Hakim RM. b2m amyloidosis in long-term hemodialysis patients. *Am J Nephrol* 1989;9:177-83.
23. Grundy JE, McKeating JA, Ward PJ. Beta-2-microglobulin enhances the infectivity of cytomegalovirus and when bound to the virus enables class I HLA molecules to be used as a virus receptor. *J Gen Virol* 1987;68:793-803.
24. Britt WJ, Alford CA. Cytomegalovirus En: Fields BN, Knipe DM, Howley PM, eds. *Field Virology*. 3 ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1996;V2:2493-2523.
25. Mazzuchi N, González FM, Agost CC, Silva MA. Informe de trasplante renal 1994. *Nefrología Latinoamericana* 1997;4(3):173-8.
26. Nickerson PW, Steurer W, Steiger J, Strom TB. In pursuit of the "holy grail": Allograft tolerance. *Kidney Int* 1994;44:40-7.

Recibido: 4 de enero de 1999. Aprobado: 10 de mayo de 1999.  
 Dra. Sonia Resik. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí".  
 Apartado 601, Marianao 13, Ciudad de La Habana, Cuba.