

DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DE LAS INFECCIONES POR EL VIRUS DEL HERPES SIMPLE

Javier Aznar Martín

Servicio de Microbiología. Hospitales Universitarios Virgen del Rocío. Sevilla

Se estima que 90 millones de personas padecen una enfermedad recidivante y dolorosa debida al herpes genital. Dos de las complicaciones médicas graves del mismo son el herpes neonatal y el aumento del riesgo de contraer otras enfermedades transmitidas sexualmente (ETS), como el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Los estudios serológicos indican que, en los países desarrollados, se está produciendo una epidemia de infecciones por el virus del herpes simple (VHS) del tipo 2 (VHS2), con un incremento significativo en la seroprevalencia en las dos últimas décadas. Las formas clínicas de las infecciones herpéticas se pueden clasificar en:

- **Infección asintomática:** es la que padece una persona que carece de historia, signos o síntomas de la enfermedad. Es la forma más frecuente y la detección de anticuerpos frente a cualquiera de los dos tipos de VHS es el único método práctico para identificar a estos pacientes. Aproximadamente, el 20% de los pacientes con anticuerpos frente al VHS2 son verdaderamente asintomáticos o tienen lesiones en localizaciones imposibles de observar. El 60% restante poseen lesiones que no son reconocidas como tales por el propio paciente o por el médico que le atiende.
- **Infección sintomática:** la replicación activa del virus se manifiesta por las lesiones y síntomas característicos. Si es la primera vez que presenta esta sintomatología se clasifica como **primer episodio**. Dependiendo del estado inmunológico del paciente, se subdividen en **primoinfección herpética** si en el momento de la enfermedad no se detectan anticuerpos frente a ninguno de los dos tipos de VHS, e **infección inicial no primaria** o **primer episodio no primario** cuando sí existen anticuerpos frente a uno o ambos tipos. Si el paciente ha sufrido anteriormente al menos un brote similar, se dice que estamos ante una **recidiva** o **recurrencia**.

Los objetivos del diagnóstico microbiológico de las infecciones por los VHS los podemos resumir en: a) el diagnóstico de la enfermedad, b) el conocimiento de la historia natural de la enfermedad (epidemiología y mecanismos de transmisión), con la consiguiente clasificación de los pacientes o episodios, y c) como técnica de cribado para la prevención de posibles complicaciones.

DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD

El diagnóstico virológico es la única forma de establecer la etiología de las infecciones herpéticas, especialmente en las formas clínicas poco habituales y, sobre todo, en los primeros episodios. Asimismo, la identificación del tipo de virus permitirá establecer un pronóstico y facilitará la decisión terapéutica.

En las formas clínicas típicas, el cuadro clínico es suficiente para establecer el diagnóstico, no así en las formas atípicas. Independientemente, en todos los pacientes con lesiones presentes ha de hacerse el diagnóstico virológico, especialmente en los primeros episodios. En estos casos, los métodos directos de diagnóstico son de elección. Estos métodos incluyen el aislamiento y tipado del virus, la detección de antígenos y las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos. Aunque el aislamiento del virus ha sido considerado hasta ahora como el patrón estándar del diagnóstico, la detección del DNA viral en líquido

cefalorraquídeo (LCR) lo ha sustituido en el diagnóstico de las infecciones del sistema nervioso central por los VHS. Las pruebas de amplificación de ácidos nucleicos son asimismo útiles cuando las lesiones están muy evolucionadas, por la persistencia del DNA en éstas, y en los estudios de excretores asintomáticos del virus, para el conocimiento de la historia natural de estas infecciones.

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. No obstante, siempre será un diagnóstico tardío, con escasa relevancia clínica, ya que no modifica sustancialmente la actuación sobre el paciente. La persistencia de ambos tipos de virus VHS1 y VHS2 en el paciente durante toda su vida, 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-específicos 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. Ashley, utilizando tres técnicas comerciales de ELISA con antígenos crudos diferentes y mediante algoritmos matemáticos diseñados para inferir la presencia de anticuerpos frente al VHS1 y VHS2, sólo identificó correctamente del 33 al 55% de pacientes con primer episodio de herpes genital. Cuando se aplicó como técnica de cribado en infecciones subclínicas, identificó correctamente sólo al 5% de los seropositivos frente al VHS1, y al 55-75% de los infectados por el VHS2. Además, la mayoría de los pacientes estudiados en distintas poblaciones están infectados por el VHS1 y la presencia de estos anticuerpos no previene la adquisición del VHS2. Por ello, una prueba positiva no nos informa si el paciente está infectado por el VHS1, el VHS2 o por ambos tipos a la vez. Los resultados del control de calidad que acompañan a esta revisión son suficientemente explícitos. Por lo tanto, hay que volver a insistir en que este tipo de reactivos no deben usarse hoy día en el diagnóstico de las infecciones herpéticas.

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, revisados recientemente por Ashley y Wald, que los podemos dividir en dos grupos:

- a) Técnicas de referencia (*gold standard*) no comerciales: algunas de ellas utilizan bien antígenos obtenidos de cultivos celulares infectados por VHS1 y VHS2 como el *western blot*, ensayos con anticuerpos monoclonales bloqueantes y ELISA de captura. Otras utilizan como antígenos las glucoproteínas gG-1 y gG-2, purificadas o recombinantes, en diferentes formatos: *immunoblot* gG-2, *immunodot* EIA, ELISA indirecto gG-2. 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 de tipo: existen seis técnicas comerciales [tres de ellas aprobadas por la Federal Drug Administration (FDA)

americana], 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. Los sistemas comerciales aprobados por la FDA poseen una sensibilidad, con respecto al *western blot*, de entre el 93-96%, y los otros algo inferior, del orden del 90-93%. Sin embargo es importante resaltar que los valores predictivos positivo y negativo son dependientes de la prevalencia de la enfermedad en la población estudiada. Así en poblaciones con baja prevalencia (<5%) la mayoría de los resultados positivos son falsos positivos.

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.

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.

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.

HISTORIA NATURAL DE LA ENFERMEDAD

Los estudios serológicos indican que las tasas de seroprevalencia de las infecciones por el VHS2 en la población general varían dramáticamente entre los países, desde el 22% en EEUU, al 4% en España y el 8% en Inglaterra. En los pacientes atendidos en clínicas de ETS oscila entre el 13% en varones y el 22% en mujeres en Sevilla, y el 12% y 30% respectivamente en Asturias y Madrid. Estos datos sugieren que la circulación del virus parece estar restringida a ciertos grupos de riesgo como los pacientes atendidos en dichas clínicas.

Los métodos serológicos son útiles para la clasificación de los episodios de las infecciones herpéticas y han contribuido a un mejor conocimiento de la historia natural del herpes genital. Permiten la identificación de portadores asintomáticos del VHS2 en poblaciones de riesgo, como los pacientes atendidos en clínicas de ETS, que contribuyen a la diseminación del virus en las fases de excreción asintomática y, por la interacción con el VIH, facilitando la transmisión y adquisición de este último.

Los actuales métodos serológicos específicos de tipo, basados en la gG, se adaptan bien a los análisis de prevalencia de ambos tipos de virus en poblaciones seleccionadas, pero no todos tienen el mismo rendimiento, ya que existen grandes diferencias en

sensibilidad entre las distintas marcas así como de especificidad en poblaciones de bajo riesgo, por lo que se debe establecer una estrategia de confirmación combinando técnicas de ELISA y con técnicas de *inmunoblot*. Sea como fuere, aún es necesario mejorar estas técnicas en cuanto a sensibilidad y esto probablemente no se alcance si no se añaden otros antígenos distintos a la gG.

Aunque se ha propugnado que la utilización de las pruebas serológicas en poblaciones o grupos de población seleccionados contribuirían a la disminución de la diseminación de la infección, hay muy poca evidencia que soporte esta estrategia. Todavía es necesario realizar nuevos estudios enfocados al desarrollo de estrategias de confirmación basadas en las técnicas comerciales para la serología tipo-específica frente a los VHS en distintos escenarios clínicos y epidemiológicos.

TÉCNICA DE CRIBADO PARA LA PREVENCIÓN DE POSIBLES COMPLICACIONES

Pacientes con actividad sexual

Los métodos de detección de anticuerpos específicos de tipo son muy útiles en:

- Las parejas sexuales en las que un miembro de la misma tiene historia o lesiones de herpes genital y el otro no, ya que permiten comprobar la ausencia de la infección y, por lo tanto, aconsejar y tratar de reducir el riesgo de transmisión a partir del infectado.
- Cuando exista discordancia en la historia clínica de la pareja y se conozca el tipo infectante en el caso índice. En un 25% de los casos las discordancias se resuelven con las pruebas serológicas, existiendo dos posibilidades: la transmisión subclínica de la infección a partir de su pareja actual o la adquisición no reconocida en una relación anterior.
- En los pacientes asintomáticos, el diagnóstico de infección por el VHS2 no es deseable por las secuelas psicosociales y los beneficios poco claros que se obtienen. Incluso en poblaciones con alta prevalencia (25%), el 14% de los positivos son resultados probablemente falsos positivos.

Herpes genital en el embarazo y prevención del herpes neonatal

La indicación más clara de las pruebas serológicas tipo-específicas en el embarazo es aquella en que la mujer no tiene infección por el VHS2, pero sí su pareja, ya que nos permite conocer si la gestante es susceptible de padecer la infección durante el embarazo, situación que se presenta en el 10% de las parejas. La adquisición de herpes genital por el VHS2 o VHS1 hacia el final del embarazo supone un riesgo del 30-50% de herpes neonatal. El mayor riesgo de la infección neonatal se produce en los primeros episodios de herpes genital, especialmente en la primoinfección, disminuye en las recidivas y es muy raro, aunque posible, en la excreción asintomática del virus.

La tasa de recidivas también es mayor en las embarazadas; así, el 25% de las mujeres con historia de herpes genital, tienen un brote en el último mes del embarazo y entre el 11-14% en el momento del parto. La mujer con un primer episodio de herpes genital durante el embarazo tiene un riesgo del 36% de padecer un brote durante el parto. Este riesgo disminuye al 25% en mujeres con más de 6 recidivas al año, y al 13% en mujeres con menos de 6 recidivas al año. La incidencia de la excreción asintomática en el momento del parto es del 1%.

El riesgo del recién nacido de padecer herpes neonatal depende del tipo de infección materna y tipo de parto. En los partos vaginales en el curso de un primer episodio el riesgo

de infección neonatal es del 50%. Si este episodio es asintomático, este riesgo disminuye al 33%, y al 4% en las recidivas. En ausencia de síntomas o lesiones, el riesgo de transmisión neonatal en una embarazada con historia de herpes genital es sólo del 0,04%, o casos de por cada 10.000 partos. El parto por cesárea no previene necesariamente el herpes neonatal; así, del 20-30% de neonatos con infecciones herpéticas nacieron por cesárea.

Curiosamente, a pesar del aumento de las infecciones por el VHS2, no se ha producido un aumento del herpes neonatal. De la misma manera, con las estrategias de cribado basadas en los estudios serológicos, si bien con técnicas no muy eficaces, no se ha producido una disminución del herpes neonatal. Los análisis coste/beneficio de dichas técnicas se han de basar en datos previos de prevalencia en distintos grupos de población. Así, en Sevilla, en los años 1985-87, la tasa de mujeres embarazadas con anticuerpos específicos de tipo frente al VHS2 era del 3% y en sus parejas del 7%, mientras que el 90% de ambos poseían anticuerpos de tipo frente al VHS1

Varios estudios en poblaciones con baja prevalencia han demostrado poco beneficio del cribado antenatal y una probabilidad mínima de reducir el riesgo de infección neonatal. En el Reino Unido, a no ser que haya más evidencia de los casos de herpes neonatal, los análisis coste/beneficio indican que introducir las pruebas de cribado en las mujeres atendidas en la clínica antenatal no son efectivas, ya que se gastarían 3,2 millones de libras para prevenir solamente un caso, por lo que los esfuerzos y los recursos deben dedicarse de forma prioritaria al diagnóstico precoz y rápido tratamiento, en lugar del cribado sistemático.

La infección primaria por los VHS, no es el único riesgo para el herpes neonatal. La infección inicial por VHS2 se asocia con herpes neonatal y los niños nacidos de una madre que adquiere una infección inicial por VHS2 cerca del parto desarrollan herpes neonatal. Por lo tanto, el cribado para identificar las mujeres con riesgo de herpes primario no prevendría todos los casos de herpes neonatal. Sería necesario el cribado a lo largo del embarazo para detectar una seroconversión al VHS2 en mujeres infectadas previamente con el VHS1. Si esto se introdujera, deberían estudiarse las parejas de las mujeres seronegativas, lo que incrementaría aún más el coste. Por ello, algunos autores propugnan el diagnóstico directo y el tratamiento específico de la embarazada en fechas cercanas al momento del parto ya que se disminuiría el riesgo de transmisión neonatal y disminuiría el número de cesáreas realizadas. Esta estrategia se puede combinar con un diagnóstico precoz del recién nacido por métodos rápidos directos, como la PCR, seguidos del tratamiento específico de éste en caso de confirmarse la infección.

BIBLIOGRAFÍA

- ASHLEY RL. Sorting out the new HSV type specific antibody tests. *Sex Transm Dis* 2001; 77:232-237.
- ASHLEY RL, WALD A. Genital herpes: Review of the epidemic and potential use of type-specific serology. *Clin Microbiol Rev* 1999;12:1-8.
- AZNAR J. Infecciones por virus *Herpes simplex*. En: Perea EJ (ed). *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. Barcelona: Ediciones Doyma, 1992; pp 887-898.
- BROWN ZA. HSV-2 specific serology should offered routinely to antenatal patients. *Rev Med Virol* 2000; 10:141-144.
- EING BR, LIPPELT L, LORENTZEN EU *et al*. Evaluation of confirmatory strategies for detection of type-specific antibodies against herpes simplex virus type 2. *J Clin Microbiol* 2002; 40:407-413.

- HALIOUA B, MALKIN JE. Epidemiology of genital herpes - recent advances. *Eur J Dermatol* 1999; 9:177-184.
- LANGENBERG AGM, COREY L, ASHLEY RL *et al.* A prospective study of new infections with herpes simplex virus type 1 and type 2. *New Engl J Med* 1999; 19:1432-1438.
- LOWHAGEN GB, TUMBACK P, ANDERSSON K *et al.* First episodes of genital herpes in a Swedish STD population: a study of epidemiology and transmission by the use of herpes simplex virus (HSV) typing and specific serology. *Sex Transm Dis* 2000; 76:179-182.
- MUNDAY PE, MULLAN HM. Clinical uses of herpes simplex virus type-specific serology. *Int J STD & AIDS* 2001; 12:784-788.
- MINDEL A, TAYLOR J, TIDEMAN RL *et al.* Neonatal herpes prevention: a minor public health problem in some communities. *Sex Transm Dis.* 2000; 76:287-291.
- NAHMIAS AJ, LEE FK, BECKMAN-NAHMIAS S. Sero-epidemiological and sociological patterns of herpes simplex virus infection in the world. *Scand Infect Dis* 1983; 69:19-36.
- QUTUB M, KLAPPER P, VALLELY P, CLEATOR G. genital herpes in pregnancy: is screening cost-effective? *Int J STD & AIDS* 2001; 12:14-16.
- ROUSE DJ, STRINGER JS. An appraisal of screening for maternal type-specific Herpes simplex virus antibodies to prevent neonatal herpes. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183:400-406.
- SCOTT LL, HOLLIER LM, DIAS K. Perinatal herpesvirus infections. Herpes simplex, varicella and cytomegalovirus. *Infect Dis Clin North Am* 1997; 11:27-49.
- SMALLING T, SEFERS SE, LI H, TANG YW. Molecular approaches to detecting Herpes simplex virus and enteroviruses in the central nervous system. *J Clin Microbiol* 2002; 40:2317-2322.
- TWANG YW, MITCHEEL PS, ESPY MJ, SMITH TF, PERSING DH. Molecular diagnosis of herpes simplex virus infections in the central nervous system. *J Clin Microbiol* 1999; 37:2127-2136.
- VARELA JA, GARCÍA-CORBEIRA P, AGÜANELL MV *et al.* Herpes simplex virus type 2 seroepidemiology in Spain. *Sex Transm Dis* 2001. 28:47-50.
- WALD A. New therapies and prevention of strategies for genital herpes. *Clin Infect Dis* 1999; 28(Supl 1):S4-S13.
- WALD A, ASHLEY-MORROW R. Serological testing for herpes simplex virus HSV-1 and HSV-2 infection. *Clin Infect Dis* 2002; 35(Supl 2):S173-S182.
- WILKINSON D, BARTON S, COWAN F. HSV-2 specific serology should not offered routinely to antenatal patients. *Rev Med Virol* 2000; 10:145-153.