

DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN POR EL VIRUS DEL HERPES HUMANO TIPO 6

Tomás Pumarola Suñé¹, Natividad Benito Hernández², María Angeles Marcos Maeso¹ y Asunción Moreno Camacho²

Servicios de Microbiología¹ y de Enfermedades Infecciosas². Institut Clínic d'Infecció i Immunologia (ICII). Hospital Clínic. Barcelona

En 1986 Salahuddin *et al.* aislaron un nuevo herpesvirus, que denominaron virus linfotrópico de células B humanas (HBLV), a partir de leucocitos de sangre periférica estimulados con interleukina 2 de sujetos infectados por el VIH o con síndromes linfoproliferativos. Posteriormente, se demostró que la principal célula diana era el linfocito T CD4+ y pasó a designarse como virus del herpes humano tipo 6 (VHH6). En 1988, Yamanishi *et al.* demostraron que la primoinfección por el VHH6 es la responsable del exantema súbito de la infancia o *roseola infantum*.

El VHH6 se halla ampliamente distribuido entre la población, que en su mayoría sufre la primoinfección durante los primeros años de vida. Al igual que en el resto de herpesvirus, la primoinfección por el VHH6 vendrá seguida por un estado de persistencia en forma latente a lo largo de toda la vida de la persona infectada. El VHH6 también puede ser causa de enfermedad durante la reactivación o reinfección, especialmente en los pacientes inmunodeprimidos. En los receptores de un trasplante de órgano sólido o de médula ósea, la infección por el VHH6 es frecuente y puede ser causa de enfermedad. Sin embargo, los diferentes estudios prospectivos realizados hasta la actualidad sugieren que la mayoría de casos de enfermedad se hallan principalmente asociados a efectos de tipo indirecto como la inducción al rechazo del injerto, o el incremento del riesgo de enfermedad por el citomegalovirus humano (CMVH) y de infecciones oportunistas. El VHH6 ha sido propuesto como un cofactor en la progresión de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), a pesar de los hallazgos contradictorios en su capacidad de regular la replicación del VIH. El VHH6 es sensible a los fármacos antivíricos eficaces frente a otros betaherpesvirus (ganciclovir, foscarnet o cidofovir), siendo necesaria la futura realización de ensayos clínicos que demuestren el beneficio terapéutico de estos fármacos.

BIOLOGÍA DEL VHH6

El VHH6, conjuntamente con el VHH7 pertenecen al género *Roseolovirus*. Junto con el género *Citomegalovirus*, se incluyen en la subfamilia *Betaherpesvirinae*, de la familia *Herpesviridae*. El VHH6 y el VHH7 están estrechamente relacionados, comparten una gran homología y similitud genómica, y se hallan próximamente relacionados con el CMVH, prototipo de los betaherpesvirus. El VHH6 es un virus con DNA bicatenario, de simetría icosaédrica y provisto de envoltura. El diámetro de la partícula vírica es de 160-200 nm y su genoma tiene aproximadamente 160-170 pares de kilobases. Se han descrito dos variantes del VHH6, A y B, de acuerdo con sus diferencias genéticas y propiedades biológicas.

La principal célula diana del VHH6 es el linfocito T CD4+ activado. El CD46, que participa en la regulación del sistema complemento, constituye un componente esencial del receptor de membrana del VHH6, presente en la superficie de todas las células nucleadas. El VHH6 posee un tropismo celular de amplio espectro, siendo también capaz de infectar linfocitos, células *natural killer* (NK), monocitos-macrófagos, células dendríticas, astrocitos, oligodendrocitos, fibroblastos, células endoteliales y células epiteliales. La existencia de un

posible correceptor se deriva de la observación de que determinadas líneas celulares de linfocitos T no son permisivas para la infección por el VHH6, a pesar de expresar CD46.

Los estudios *in vitro* sugieren que el VHH6 posee propiedades inmunomoduladoras, entre las que se incluyen alteraciones en la expresión de moléculas de activación inmunológica (CD3, CD46, CCR7 o CXCR4) o de citoquinas (IL-2, interferón gamma, factor de necrosis tumoral alfa, IL-1beta, IL-10, IL-12 e IL-15), aspectos que probablemente contribuyen de forma importante a la patogenia de la infección y en especial a su potencial inmunosupresor.

Tras la primoinfección, el VHH6 persistirá a lo largo de toda la vida del sujeto infectado, a través tanto de un estado de latencia en el que se producen nuevas partículas infecciosas durante los episodios de reactivación, como de una replicación crónica con producción continua o intermitente del virus. Las glándulas salivares son el principal candidato para el establecimiento de la infección crónica, como se demuestra por la frecuente detección del VHH6 en la saliva mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), constituyendo el principal vehículo de transmisión.

El VHH6 puede detectarse en la sangre periférica de personas sanas por PCR anidada cuando se utiliza una cantidad suficiente de DNA. Un grupo ha descrito la detección de U94 RNAm en sangre periférica de individuos sanos, sugiriendo la posibilidad de expresión génica asociada al estado de latencia. En la actualidad se desconoce con exactitud el lugar de la latencia, siendo los principales candidatos los monocitos y las células progenitoras de médula ósea. Sin embargo, también se ha detectado el virus en otras células y tejidos: cerebro, piel, bazo, pulmón, corazón, riñón, glándulas adrenales, esófago, duodeno, colon, hígado, y células progenitoras de médula ósea. En el tejido cerebral normal puede demostrarse la presencia del VHH6 en aproximadamente el 30-40% de las muestras mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). EL VHH6 parece tener un elevado neurotropismo, como se ha demostrado por su identificación en el líquido cefalorraquídeo (LCR) durante y después de la primoinfección y por su implicación como causa de encefalitis, tanto en receptores de trasplantes como en personas inmunocompetentes. Estos hallazgos sugieren que el VHH6 puede residir en el sistema nervioso central (SNC) sin producir patogenicidad, pero con potencial de neurovirulencia. En este contexto, en los últimos años se ha estudiado una posible correlación entre infección activa por el VHH6 y la esclerosis múltiple, aunque esta hipótesis sigue siendo controvertida.

Los estímulos implicados en la reactivación *in vivo* del VHH6 no se han caracterizado completamente, aunque se incluyen con casi total seguridad la inmunosupresión y los procesos de base graves en sujetos inmunocompetentes, sin que ello signifique un impacto de la reactivación sobre la morbilidad.

EPIDEMIOLOGÍA

La mayoría de la población adulta mundial es seropositiva (>80%). En los países occidentales la primoinfección suele acontecer durante los dos primeros años de vida y raramente antes de los seis meses, debido a la protección conferida por los anticuerpos maternos. La infección perinatal o congénita se ha detectado en raras ocasiones y no se ha asociado a enfermedad fetal o del recién nacido. El mecanismo de transmisión parece ser fundamentalmente a través de la saliva. El VHH6B es el responsable de la mayoría de infecciones sintomáticas durante la infancia.

La incidencia acumulada de infección por el VHH6 en el paciente trasplantado oscila entre el 28%-75% (mediana 48%) en los trasplantes de médula ósea y entre el 23%-66% (mediana 32%) en los trasplantes de órgano sólido. La amplia variabilidad de la incidencia publicada depende, al menos en parte, de las características de la población estudiada, los

distintos regímenes inmunosupresores empleados, los métodos utilizados para diagnosticar la infección y el periodo o intensidad de seguimiento. El establecimiento de definiciones estándar de infección por el VHH6, enfermedad, síndrome viral y síndrome específico de órgano, como se ha recomendado previamente para el CMVH, podría clarificar la interpretación de estudios en el futuro.

La infección por el VHH6 ocurre de forma precoz durante el periodo postrasplante. En un estudio, la mediana de tiempo hasta la primera PCR positiva en sangre fue de 20 días para el VHH6, 26 días para el VHH7 y 36 días para el CMVH. Debido a la elevada seroprevalencia, la mayoría de las infecciones por el VHH6 parecen producirse por reactivación. Sin embargo se han descrito casos de infección primaria en receptores seronegativos a partir de donantes seropositivos. También pueden producirse reinfecciones debidas a la cepa del donante en receptores seropositivos, como ocurre con el CMVH. La mayoría de los casos de VHH6 postrasplante en la que se ha realizado el tipado, se deben a la variante B.

MANIFESTACIONES CLÍNICAS

La primoinfección por el VHH6 se produce generalmente en los dos primeros años de vida, con el pico de adquisición a los 6-9 meses. Puede cursar de forma asintomática o bien ser causa del exantema súbito de la infancia, también llamado *roseola infantum* o sexta enfermedad. Es una enfermedad leve, generalmente autolimitada en una semana, que cursa con fiebre y la aparición simultánea o posterior de un exantema maculopapuloso que se resuelve espontáneamente. Sin embargo, el exantema característico se observa tan sólo en el 20% de los niños con infección primaria por el VHH6 y en la mayoría de los casos la primoinfección se asocia con un cuadro febril inespecífico. Las complicaciones de la infección primaria son infrecuentes e incluyen: invasión del SNC con convulsiones, síndrome hemofagocítico y hepatitis fulminante. La infección primaria por el VHH6 es responsable del 10-20% de los cuadros febriles en niños pequeños atendidos en los servicios de urgencias. En los adultos puede producirse una primoinfección tardía que cursa con una leve enfermedad febril, pero en ocasiones puede ser responsable de un síndrome mononucleósico.

Las manifestaciones clínicas de la infección por el VHH6 durante el periodo postrasplante pueden ser divididas en directas e indirectas. Las primeras incluirían fiebre, exantema cutáneo, neumonía intersticial, hepatitis, encefalitis y citopenias por supresión medular. La mayoría de estas asociaciones se han comunicado en forma de casos aislados y series cortas, fundamentalmente en receptores de progenitores hematopoyéticos. Sin embargo, probablemente la mayoría de las infecciones cursa de forma asintomática. En un estudio prospectivo reciente de 200 receptores de trasplante hepático, en los dos pacientes que tuvieron enfermedad clínica directamente atribuible a infección por el VHH6 (1%) en ausencia de otros patógenos como CMVH, ésta se manifestó como fiebre inexplicada, leucopenia y trombopenia. En algunos casos, esta enfermedad febril ha sido erróneamente diagnosticada como síndrome por CMVH. En una evaluación de 21 episodios diagnosticados clínicamente como enfermedad por CMVH, las muestras clínicas mostraron VHH6 o VHH7, con negatividad de CMVH. Así, se ha propuesto que el término *síndrome de betaherpesvirus* sería más apropiado cuando se está investigando la etiología de estos procesos.

Aunque la mayoría de los síndromes clínicos relacionados con la infección por el VHH6 durante el periodo postrasplante se basan en casos aislados o pequeñas series, hay estudios prospectivos observacionales con mayor número de casos que sugieren que el mayor impacto de la reactivación de estos virus se relaciona con sus efectos indirectos. Éstos están, al menos en parte, influenciados por las propiedades inmunomoduladoras del VHH6 comentadas anteriormente. Sin embargo, no es fácil desentrañar cuál es el papel

inmunomodulador que juega este virus, dado el contexto de la inmunosupresión asociada a los fármacos empleados en el periodo postrasplante. Varias investigaciones en receptores de trasplante hepático han observado que la infección por el VHH6 se asocia con una mayor incidencia de enfermedad por CMVH y, en algunos casos, con una enfermedad por CMVH más grave. Un estudio reciente ha puesto también de manifiesto la elevada frecuencia de infecciones concurrentes por los tres betaherpesvirus en trasplantados hepáticos, demostradas mediante antigenemia. Esto apoyaría la existencia de interacciones entre ellos, y la posibilidad de que los síntomas clínicos clásicamente asociados con la infección por CMVH, lo estén también con el VHH6 y/o el VHH7. De forma similar, en los receptores de trasplantes renales y de progenitores hemopoyéticos se ha descrito que la coinfección de CMVH con VHH6 o VHH7 incrementa el riesgo de síndrome o enfermedad por CMVH. No obstante, no se conocen bien los mecanismos de interacción entre estos virus.

La infección por el VHH6 parece que puede predisponer al hospedador a sobreinfecciones por otros virus. Así, se ha descrito *in vitro* la reactivación del virus de Epstein-Barr en líneas celulares linfoides humanas infectadas por el VHH6. También se han descrito coinfecciones con el virus respiratorio sincitial o con adenovirus en pacientes con neumonitis por el VHH6. En un estudio reciente de pacientes que recibieron un trasplante hepático por cirrosis debida al virus de la hepatitis C se observó, en los casos con recurrencia de la infección por este virus, una relación entre la viremia por el VHH6 y una mayor fibrosis. No obstante, la verdadera importancia de estas asociaciones permanece por definir.

Investigaciones recientes han implicado la infección por el VHH6 en el rechazo agudo del injerto en el trasplante hepático y con el fallo o retraso del implante (fundamentalmente de la serie plaquetaria) en los receptores de progenitores hemopoyéticos, aunque no todos los estudios son concordantes a este respecto. También se ha correlacionado con una mayor frecuencia de enfermedad del injerto contra el huésped, aunque con resultados contradictorios entre los diferentes trabajos publicados.

El primer estudio en evaluar una posible asociación entre la infección por el VHH6 y el incremento de las infecciones oportunistas demostró que la seronegatividad para este virus antes del trasplante hepático era un predictor positivo independiente de infección fúngica. Otro estudio realizado en trasplantados hepáticos confirmaba que la infección por el VHH6 se asociaba de forma independiente con el desarrollo de infecciones fúngicas invasoras. El trabajo más reciente que ha abordado esta posible relación en los trasplantados hepáticos encontró que la infección por el VHH6, y su carga viral, eran factores de riesgo significativos para el desarrollo de infecciones oportunistas entre las que se incluyeron la enfermedad linfoproliferativa por el virus de Epstein-Barr, herpes-zóster multimetamérico o diseminado, infección neumocócica invasiva y micobacteriosis..

DIAGNÓSTICO

En la actualidad no existe una prueba de referencia para el diagnóstico de la infección por el VHH6. Se han desarrollado métodos serológicos, de aislamiento en cultivo celular y de detección de antígenos y ácidos nucleicos. Sin embargo, la interpretación de los resultados es compleja debido a la elevada seroprevalencia, a su presencia en sangre y al establecimiento de un estado de persistencia tras la primoinfección. Todavía deben desarrollarse y evaluarse convenientemente pruebas diagnósticas que puedan discriminar entre infección activa y latente. Diversos trabajos demuestran la asociación significativa entre un determinado marcador viral y el proceso patológico que se está estudiando. Esta capacidad es útil en el estudio de poblaciones, pero no se han definido los valores de corte que permitan una relación definitiva entre la infección por el VHH6 y la enfermedad de forma individual. Así, en la actualidad, a excepción de la primoinfección, los diferentes marcadores diagnósticos presentan un limitado valor predictivo positivo de enfermedad. La ausencia de

técnicas diagnósticas normalizadas y de marcadores con elevados valores predictivos positivos, conjuntamente con la falta de una definición clara de la enfermedad por el VHH6, dificulta el conocimiento de la relevancia clínica del VHH6 en el paciente trasplantado. En este sentido, un importante aspecto a tener en cuenta en el futuro es que, en el diagnóstico de las complicaciones directas e indirectas por el VHH6 en el paciente trasplantado, deberán descartarse el resto de betaherpesvirus, en especial el CMVH, pero también el VHH7.

Diagnóstico serológico

Probablemente, es el método de elección durante la primoinfección. Diversos formatos de inmunoensayo han sido adaptados para la detección de anticuerpos específicos, aunque, en la mayoría de los casos, se emplean técnicas de inmunofluorescencia indirecta (IFI) y en menor proporción de enzimoensayo (EIA) en microplaca.

La infección primaria en los niños induce el desarrollo de anticuerpos frente al VHH6 durante los primeros 3-7 días del comienzo de la fiebre. El pico de IgM se produce en la segunda semana tras la infección y persisten positivas durante dos meses, siendo de destacar que un número importante de niños con aislamiento vírico positivo no desarrolla una respuesta detectable de IgM. Adicionalmente, hasta un 5% de los adultos sanos pueden ser IgM positivos. El pico de anticuerpos IgG se produce en las dos primeras semanas y persisten positivas de por vida en el 95% de los adultos que han sido infectados. En los receptores de trasplante, la utilidad de la serología se limita al estudio serológico previo. Además, se han descrito reacciones cruzadas con el VHH7, por lo que deben absorberse previamente los anticuerpos frente a este virus.

Un criterio diagnóstico que se ha utilizado como indicador de infección reciente, en algunos estudios retrospectivos, es el incremento de cuatro veces del título de anticuerpos IgG medidos por IFI o un aumento de 1,6 veces de los anticuerpos medidos por EIA. Sin embargo, la distinción entre infección primaria y reactivación en estas circunstancias puede ser difícil si no se tienen datos previos al trasplante. Adicionalmente el significado clínico de la detección de IgM en adultos es menos claro, puesto que pueden producirse IgM tanto en infecciones primarias como en reactivaciones. La determinación de la avidéz de la IgG parece útil con este propósito. Finalmente, en los pacientes inmunodeprimidos, no puede descartarse la posibilidad de falsos negativos a consecuencia de una deficiente respuesta inmune de tipo humoral.

Aislamiento en cultivo celular

El VHH6 pueden ser aislado a partir del cultivo de los linfocitos del paciente, solos o conjuntamente con linfocitos de cordón umbilical. En cualquier caso se requiere de la activación linfocitaria con fitohemaglutinina y mantenimiento con IL2. La técnica es laboriosa, de elevado coste y requiere entre 5-21 días (mediana de 11 días) para generar un resultado. La variante A puede crecer en células HSB-2 y la variante B crece mejor en células Molt-3 y MT-4. El exantema súbito es el único cuadro clínico en el que el aislamiento del VHH6 permite un diagnóstico de certeza. Son mucho más difíciles de interpretar los resultados positivos del cultivo obtenidos a partir de pacientes con inmunodeficiencia, debido a que la actividad viral puede no hallarse relacionada con el evento clínico en curso. El VHH6 también puede detectarse, según un grupo de investigación, por cultivo en *shell-vial* utilizando fibroblastos fetales humanos con posterior tinción, a las 24h-48h, con anticuerpos monoclonales. Sin embargo, esta técnica no parece haber sido reproducida por otros grupos de investigación.

Detección de antígenos

En las muestras de biopsia o necropsia puede demostrarse la presencia del VHH6 mediante la utilización de métodos inmunohistoquímicos con anticuerpos monoclonales específicos dirigidos especialmente frente a las proteínas p101, p105, p109 y p116. Recientemente se ha descrito un ensayo de antigenemia para el VHH6 sobre células mononucleares de sangre periférica, similar al ampliamente utilizado para el CMVH, habiéndose observado una asociación entre el rechazo del injerto y la positividad de la antigenemia. Sin embargo, como ya se ha citado para otras pruebas, la interpretación de los resultados es compleja y se requieren estudios prospectivos amplios que permitan determinar la relevancia de esta metodología en el diagnóstico precoz de la enfermedad por el VHH6 a través de la monitorización del paciente trasplantado.

Amplificación de ácidos nucleicos

Las técnicas de amplificación de DNA han demostrado ser las más sensibles para la detección del VHH6 en el periodo postrasplante. Entre sus ventajas se encuentra la rapidez del diagnóstico, el empleo de muestras no invasoras, su elevada sensibilidad y la capacidad de determinar con certeza el momento de comienzo de la infección si se monitoriza al paciente durante el postrasplante. Sin embargo, debido al estado de latencia viral en los sujetos previamente infectados, la técnica debe permitir distinguir entre infección latente y activa. Por ejemplo, utilizando 1 ug de DNA extraído a partir de sangre y una técnica altamente sensible, PCR anidada, el VHH6 puede detectarse en el 45% de la población. Así, mientras la detección de DNA viral mediante PCR en muestras acelulares como el plasma o el suero es un marcador de replicación viral, su detección en células sanguíneas o tejidos tiene un valor limitado en el diagnóstico de infección activa. La detección en LCR parece poseer un buen índice de correlación con el diagnóstico etiológico de la meningoencefalitis por el VHH6; sin embargo, son necesarios estudios más amplios.

El desarrollo de métodos de cuantificación del DNA del VHH6 en sangre y tejidos, facilitado por las actuales técnicas de PCR a tiempo real, permitirá evaluar la monitorización del grado de replicación viral y establecer su correlación con las manifestaciones y la respuesta clínica. Sin embargo, los resultados preliminares publicados hasta la actualidad son contradictorios, además de haberse realizado en series pequeñas con un limitado tiempo de seguimiento.

CONCLUSIONES

El impacto de los diferentes betaherpesvirus en el paciente trasplantado parece ser mayor en el caso del CMVH que en el del VHH6, y el de éste mayor que el del VHH7, dependiendo la importancia de estos dos últimos virus del tipo de trasplante. Mientras que se ha desarrollado un número importante de ensayos comercializados para el diagnóstico de la infección y enfermedad por el CMVH, en la actualidad no existen ensayos comerciales evaluados clínicamente para el VHH6 o el VHH7. Así, cualquier centro que desee diagnosticar la infección por estos dos virus deberá desarrollar sus propias técnicas diagnósticas, fundamentalmente de PCR cuantitativa o de antigenemia. Sin embargo, no debe olvidarse que el principal objetivo es el diagnóstico de la infección y la enfermedad por el CMVH, debido a su elevada morbilidad y mortalidad en el paciente trasplantado. Por otro lado, actualmente es difícil recomendar tratamientos antivíricos agresivos basados en la positividad de la PCR para el VHH6 en sangre sin que exista evidencia suficiente de manifestaciones clínicopatológicas.

Para poder determinar el impacto clínico real de la infección por el VHH6 durante el período postrasplante, son necesarios estudios prospectivos amplios que utilicen métodos de detección sensibles, pero con capacidad para discriminar los estados de latencia y que evalúen la participación individual de cada uno de los betaherpesvirus: CMVH, VHH6 y VHH7.

BIBLIOGRAFÍA

- BRAUN DK, DOMÍNGUEZ G, PELLET PE. Human herpesvirus 6. *Clin Microbiol Rev* 1997; 10:521-567.
- CAMPADELLI-FIUME G, MIRANDOLA P, MENOTTI L. Human herpesvirus 6: an emerging pathogen. *Emerg Infect Dis* 1999; 5:353-366.
- CASERTA MT, MOCK DJ, DEWHURST S. Human herpesvirus 6. *Clin Infect Dis* 2001; 33:829-833.
- CLARK DA. Human herpesvirus 6. *Rev Med Virol* 2000; 10:155-173.
- CLARK DA, GRIFFITHS PD. Human herpesvirus 6: Relevance of infection in the immunocompromised host. *Br J Haematol* 2003; 120:384-395.
- DOCKRELL DH, PAYÁ CV. Human herpesvirus-6 and -7 in transplantation. *Rev Med Virol* 2001; 11:23-36.
- EMERY VC. Human herpesviruses 6 and 7 in solid organ transplant recipients. *Clin Infect Dis* 2001; 32:1357-1360.
- GRIFFITHS PD, CLARK DA, EMERY VC. Betaherpesviruses in transplant recipients. *J Antimicrob Chemother* 2001; 45:29-34.
- LJUNGMAN P. Beta-herpesvirus challenges in the transplant recipient. *J Infect Dis* 2002; 183(supl 1):S99-109.
- SALAHUDDIN SZ, ABLASHI DV, MARKHAM PD, *et al.* Isolation of a new virus, HBLV, in patients with lymphoproliferative disorders. *Science* 1986; 234: 596-601.
- STOECKLE MY. The spectrum of human herpesvirus 6 infection: from roseola infantum to adult disease. *Annu Rev Med* 2000; 51:423-430.
- YAMANISHI K, OKUNO T, SHIRAKI K, *et al.* Identification of human herpesvirus-6 as a causal agent for exanthem subitum. *Lancet* 1988; 1:1065-1067.