

DIAGNOSTICO DE LA INFECCION POR VIRUS DE EPSTEIN BARR

Cocho Gomez P. Grupo de patología infecciosa AEPap. Diagnostico de la infección por Virus de Epstein-Barr. Junio 2014. Disponible

<http://aepap.org/grupos/grupo-de-patologia-infecciosa/contenido/documentos-del-gpi>

INTRODUCCION E IMPORTANCIA DEL PROBLEMA

El virus de Epstein Barr (VEB) es el herpes virus tipo 4. Produce una infección de alta prevalencia, hasta un 95% de la población adulta presenta marcadores de infección pasada (1). En un estudio realizado en Albacete objetivaron una distribución bimodal según la edad con un pico de incidencia entre los 2-4 años y otro entre los 14-18 años (2) En otro estudio publicado en el año 2001 y realizado en alumnos españoles entre 13-14 años de Guadalajara la prevalencia de anticuerpos frente al virus de Epstein-Barr fue de 73,5% (IC: 67,9%-78,5%), no se encontraron diferencias significativas según el sexo (3).

La infección por el VEB cursa con una fase aguda, cuya manifestación típica es la mononucleosis infecciosa y otra latente, permaneciendo en las células reservorio de por vida (1). Asimismo está implicado en la patogénesis de diferentes neoplasias, del síndrome linfoproliferativo postransplante y es una causa conocida del síndrome hemofagocítico. Las inmunodeficiencias congénitas sobre todo el síndrome de Duncan pueden desarrollar infecciones fatales y trastornos linfoproliferativos por este virus. Ocasionalmente se ha relacionado con cuadros neurológicos (Guillain –Barre, mielitis transversa, etc) y con la afectación de cualquier otro órgano de nuestra economía (1,5,6).

El hombre es el único reservorio conocido. La vía de transmisión más frecuente es por contacto con las secreciones orales, menos frecuente por contacto con la sangre y también tras un trasplante de células hematopoyéticas u órganos sólidos. No se ha comprobado la transmisión por vía genital ni por transmisión intrauterina (4). Aunque se han aislado virus de Epstein Barr en la leche materna no es una vía de transmisión significativa (1). No se han recuperado VEB de los fómites.

El periodo de incubación es de 4-8 semanas (1).

Inicialmente el virus infecta las células del compartimento oral, primero las células epiteliales y posteriormente los linfocitos B del tejido linfoide. Estos son los responsables de la diseminación del virus por todo el sistema reticuloendotelial. La

eliminación de virus en la saliva se prolonga durante varios meses, incluso hasta 6m, tras la infección aguda.

Asimismo las células del epitelio oral y los linfocitos B son el reservorio en la fase de latencia y tras su reactivación pueden producir contagio(4).

RESPUESTA INMUNE ADAPTATIVA

- Respuesta humoral: El primer anticuerpo que se detecta es la Ig M contra el antígeno de la cápside viral. (Se detecta en el 90% de los casos) Puede detectarse desde los momentos iniciales de los síntomas y desaparece a los 2-6 meses. Todos los casos (100%) presentan la IgG-ACV que aparece entre la 2ª semana y el 2º mes de la infección aguda y alcanza su máximo nivel a los 4 meses manteniéndose positivo durante toda la vida.

A los 3-6 meses de la enfermedad aguda aparecen los IG G contra el antígeno nuclear, y una vez aparecen generalmente persisten durante toda la vida.

- Respuesta celular: La infección por virus de Epstein Barr da lugar a una respuesta intensa de los linfocitos T tanto CD4 como CD 8. Inicialmente predomina la respuesta de los CD8 que son cruciales para controlar la fase lítica inicial y reducir el virus a su fase latente. La linfocitosis característica de la mononucleosis infecciosa es a expensas de los CD8 y asimismo son responsables de los síntomas clásicos de MNI. Por último la ausencia de esta respuesta como ocurre en los pacientes inmunodeprimidos da lugar a los procesos linfoproliferativos y a la infección severa post-trasplante (4).

DIAGNOSTICO

El diagnóstico de la infección por VEB en los niños es difícil por varias razones(7,8):

- La infección cursa de forma atípica: La infección en niños menores de 10 años cursa de forma asintomática o con síntomas muy escasos, aunque se puede presentar en la forma de mononucleosis clásica. Solo el 10% de los niños que adquieren la infección presenta algún tipo de síntoma, predominantemente

respiratorios. Los adolescentes y adultos jóvenes presentan síntomas típicos de mononucleosis en un 50% de los casos (4).

- Los ac heterófilos tienen una sensibilidad muy baja en los menores de 2 años y baja en los menores de 4 años.
- La serología también es más difícil de interpretar y da resultados dudosos en los niños, con mayor frecuencia de falsos negativos (1,6) .

Sospecha clínica

La sensibilidad y especificidad de los síntomas no son suficientes para realizar el diagnóstico de infección por VEB, por lo que se precisa estudios de laboratorio y en niños, a veces, no se puede llegar a confirmar la sospecha clínica (4).

Test de laboratorio no específico

- Hematología: Leucocitosis en un 40-70% de los casos con valores entre 10.000 -20.000 cel/ml con linfocitosis relativa y más de un 10% de linfocitos atípicos o cel. de Downey- Linfocitos grandes con núcleo poco denso -, son linfocitos T-CD8. Están presentes siempre en la infección por VEB, aunque también están presentes en otras infecciones como CMV (4). Un 25-50% de los pacientes presentan una plaquetopenia leve(6).

- Bioquímica: la elevación de la GOT, GGT y LDH aparece en el 95% de los pacientes . La GGT puede persistir elevada durante un año.

- Anticuerpos heterófilos: Son anticuerpos tipo Ig M que aglutinan hematíes de otras especies de mamíferos. Aparecen en la fase aguda de la infección con un pico a las 2-5 semanas. Es muy útil para el diagnóstico en niños mayores, adolescentes y adultos, ya que la sensibilidad es de 85-90%, 50% en la primera semana y un 60-90% en la segunda y tercera semana de enfermedad y una especificidad de 98-100%(9,10). Las debilidades del test son (4):

1. Solo un 50% de niños menores entre 2 - 4 años con serología positiva son positivos para ac heterofilos. En menores de 2 años baja a 10-30% (9).
2. Aunque su especificidad es muy elevada pueden estar presentes en otras infecciones víricas, enfermedades autoinmunes y malignas .
3. Pueden persistir positivos hasta un año tras la infección aguda.

La fortaleza del test es su simplicidad y economía.

Serología específica

Las técnicas utilizadas de forma rutinaria en los laboratorios son (9):

- Análisis de inmunofluorescencia (IFAs)
- Enzima-inmuno análisis (EIAs) y ELISA
- Inmunoanálisis de quimioluminiscencia (CLIAs)
- Inmunoanálisis múltiple de flujo (Novedoso)

De forma rutinaria y en pacientes inmunocompetentes se realiza la siguiente serología:

-Ig M anti ACV- antígeno de cápside viral, Ig G anti ACV- antígeno de cápside viral: Ambas suelen estar presentes desde el inicio de la enfermedad debido a su largo periodo de incubación. La Ig M desciende a partir de las 4-6 semanas del inicio de la clínica y desaparece alrededor del tercer mes (5). Por tanto es un buen marcador de infección aguda. La debilidad de la Ig M consiste en que es poco específica y las infecciones por otros virus del grupo herpes pueden inducir la aparición de este anticuerpo. Así mismo las enfermedades con gran activación inmune también pueden producir su aparición. Por tanto es importante la correlación con la clínica.

La Ig M anti ACV aparece en el 60% de los niños menores de 2 años, en comparación con el 90% de los niños mayores y adultos, siendo su pico máximo de menor magnitud(7).

La Ig G anti ACV aparece en el 100% de los casos y se mantiene de por vida. Es un marcador de haber padecido infección por Epstein Barr.

-Ig G anti EBNA- antígeno nuclear de Epstein Barr: Aparece entre las 6-12 semanas del inicio de los síntomas y generalmente persiste de por vida. Si aparece en una serología inicial indica que los síntomas no se pueden atribuir a una infección aguda por VEB.

Según la evaluación publicado por Bruu et al de 6 test la sensibilidad y la especificidad de la serología en la población general es de 95-100% y de 86-100% respectivamente (10).

Interpretación de la serología en pacientes inmunocompetentes (9)

Ig M ACV	Ig G ACV	Ig G EBNA	INTERPRETACION
Negativo	Negativo	Negativo	No infección
Positivo	Positivo	Negativo	Infección aguda
Negativo	Positivo	Positivo	Infección pasada
Positivo	Negativo	Negativo	Infección aguda o no específico*(a)
Negativo	Positivo	Negativo	Infección aguda o pasada*(b)
Positivo	Positivo	Positivo	Infección reciente o reactivación*(c)
Negativo	Negativo	Positivo	No específico*(d)

*precisa más estudios.

(a)-Ig M anti ACV positivo aislado: Indica un estadio muy inicial de infección reciente. Hay que descartar un falso positivo por la presencia de factor reumatoide u otros autoanticuerpos. También hay que descartar la reacción cruzada con la Ig M anti CMV y anti Parvovirus B19 (9).

(b)-Ig G anti ACV positivo aislado: Podría ocurrir en la fase aguda de la infección en la que ya no se detecte la Ig M, porque el pico alcanzado es bajo o porque ya ha descendido a niveles no detectables. A veces la Ig M aparece 2 semanas tras la aparición de la Ig G. También podría encontrarse en un caso de infección pasada, sin producción de Ig G anti AN, lo que ocurre en un 5% de los pacientes, o con pérdida del nivel de este último anticuerpo, lo que ocurre frecuentemente en pacientes inmunodeprimidos aunque también puede ocurrir en inmunocompetentes. (9).

(c)- Presencia simultánea de Ig M-Ig G anti ACV e Ig G anti AN: Puede indicar una infección reciente, esto es en los últimos 3 meses.

También puede indicar la reactivación de la infección, este supuesto es raro, de corta duración y con poca relevancia clínica en sujetos inmunocompetentes, no así en los inmunodeprimidos.

Habría que descartar la elevación inespecífica de la Ig M por otras infecciones o enfermedades autoinmunes. Se puede realizar el estudio de afinidad para la Ig G y

valorar estudio por inmunoblotting y estudio de Ig G anti antígenos tempranos o por métodos más sensibles para diferenciar la reactivación de la infección reciente.

(d): presencia aislada de Ig G anti AN: En principio es un patrón que no se puede dar, aunque un 1.7% de las positividades para IG G anti AN son aisladas. Habría que investigar mediante inmunoblotting y/o DNA viral para poder valorar si es una infección pasada o es un falso positivo, en cuyo caso el paciente sigue siendo susceptible a la infección por VEB

Recientemente un grupo del Hospital Clínico de Valencia ha desarrollado un test rápido y fácil de realizar que mediante la técnica de inmunofiltración (IMFA) detecta la Ig M contra la proteína ZEBRA. Estos anticuerpos se producen en la fase aguda de la infección primaria y son muy útiles para el diagnóstico de la infección en los pacientes inmunocompetentes. Han evaluado la técnica en población infantojuvenil, y han obtenido una sensibilidad del 92,5% y una especificidad de 97,3%. Valoraron la sensibilidad en el grupo con serología compatible con infección aguda pero con anticuerpos heterófilos negativos (media de edad 4,5 años) y obtuvieron una sensibilidad del 86,2%. Estos resultados les han llevado a sustituir la determinación de anticuerpos heterófilos por esta técnica en niños menores de 5 años (11)

Otros anticuerpos que no se determinan de forma rutinaria y que se deben valorar en los casos con serología atípica:

Ig G anti-antígeno temprano: Aparecen en la fase aguda y posteriormente descienden los niveles hasta hacer indetectables a los 3-6 m. Indican infección activa. (CDC)

Ig A anti antígenos líticos tempranos: pendiente más estudios para establecer su uso en la clínica.

Métodos de laboratorio para estudiar casos dudosos o patología severa:

-Inmunotransferencia o inmunoblotting: Mediante una electroforesis en gel se separan los distintos antígenos virales y mediante las técnicas habituales (ELISA, IFA) se detecta la unión ag-ac. La Ig G anti-p23, anti-p55 y anti-p138 se detectan en la infección aguda. La Ig G anti-p18, anti-p72 y anti-p23 se detectan en la infección antigua. Además la Ig G anti-p18 no se pierde en los pacientes inmunodeprimidos.

Esta técnica es muy útil para los casos con positividad aislada de la Ig G anti ACV. Las debilidades son el coste de la técnica y la existencia de variación individual en la producción de anticuerpos contra los distintos antígenos virales (9).

-Test de avidéz de Ig G: La avidéz es baja en las fases agudas de la enfermedad y aumenta al madurar la respuesta inmune. La avidéz se valora mediante IFA o EIA o Inmunotransferencia. Se obtienen dos alícuotas del suero a estudiar, una tratada con urea 8M que disocia los inmunocomplejos y otra sin tratar. La disociación depende de la avidéz, así según la relación de las dos alícuotas se puede calcular la avidéz y por tanto valorar si esta es aguda o pasada. La debilidad es que no es útil en neonatos y que existe mucha variación individual en el proceso de maduración de la respuesta inmune (9).

-Detección de DNA viral mediante PCR a tiempo real: Es muy sensible y muy útil en pacientes inmunodeprimidos con riesgo de desarrollar patología grave relacionada con este virus. También es útil en los tumores relacionados con VEB y en pacientes que han recibido transfusiones o Igs de forma reciente (9) .

Bibliografía

1. Aronson MD, Auwaerter PG. Infectious mononucleosis in adults and adolescents. Last updated: Feb 26,2013. Literature review current through:Mar 2014. <http://www.uptodate.com>
2. Pariente M, Bartolome J, Lorente S, Crespo MD. Distribución por edad de los patrones serológico de infección por el virus de Epstein-Barr: Revisión de resultados de un laboratorio de diagnóstico. Enferm Infecc Microbiol Clin 2007;25(2):108-110.
3. Martinez JA, Gimeno C, Gonzalez A, Calvo MJ, Caballero LL. Seroprevalencia de tres tipos de virus hepatotropos en población adolescente de la provincia de Guadalajara. Rev Salud Publica 2001;75:151-158
4. Oumade O, Kristin A, Hogquist H, Balfour A. Progress and problems in understanding and managing primary Epstein-barr virus infections. Clin. Microbiol.Rev. Jan 2011:193-209
5. Epstein-Barr virus and infectious mononucleosis CDC <http://www.cdc.gov/Epstein-barr.html>
6. Bennet NJ. Pediatric mononucleosis and Epstein-Barr virus infection. <http://emedicine.medscape.com/article/963894>

7. Horwitz CA, Henle W, Goldfarb M. Clinical and laboratory evaluation of infants and children with Epstein-Barr virus-induced infectious mononucleosis: Report of 32 patients (ages 10-48 m). *Blood* 1981;57:933-938.
8. Sullivan JL. Clinical manifestations and treatment of Epstein-Barr virus infection. Last updated: Mar 18, 2013. Literature review current through: Mar 2014.
<http://www.update.com>
9. Paschale M, Clerici P. Serological diagnosis of Epstein-Barr virus infection: Problems and solutions. *World J Virol* 2012 Feb 12;1(1):31-43.
10. Bruu AL, Hjetland R, Holter E, Mortensen L, Natas O, Petterson W et al. Evaluation of 12 commercial tests for detection of Epstein-Barr virus-specific and heterophile antibodies. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2000;7(3):451-456.
11. Bravo D, Muñoz-Cobo B, Costa E, Clari MA, Tormo N, Navarro D. Evaluation of an Immunofiltration Assay that detects immunoglobulin M antibodies against the ZEBRA protein for the diagnosis of Epstein-Barr virus infectious mononucleosis in immunocompetent patients. *Clin Vaccine Immunol.* 2009;16:885-8