

# UTILIDAD DE LA REACCION EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR) PARA LA DETECCION DE HERPES SIMPLEX VIRUS I Y II EN LESIONES MUCOCUTANEAS DE PACIENTES TRASPLANTADOS.

## RESUMEN

En individuos inmunosuprimidos, la infección por virus pertenecientes a la familia herpesviridae es una complicación frecuente. En estos pacientes las infecciones mucocutáneas provocadas por el herpes simple I y II (HSV I y II) son atípicas, lo que retarda su diagnóstico y tratamiento.

Evaluamos la utilidad de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la detección temprana de HSV I y II en pacientes inmunosuprimidos durante el período post-trasplante renal. Durante un año se realizaron en nuestro Hospital, 84 trasplantes renales. El Protocolo de inmunosupresión consistió en Ciclosporina A, Azatioprina, Prednisona y Nifedipina. EL DNA se extrajo a partir de las lesiones por el método de lisis alcalina. Los oligonucleótidos utilizados se encuentran dirigidos hacia el gen que codifica la DNA polimerasa viral. Se incluyeron controles positivos y negativos. De 84 pacientes trasplantados, 9 presentaron lesiones mucocutáneas; 7 provocadas por HSV con PCR positiva. La clínica fue variada con lesiones típicas y atípicas. Estos pacientes fueron tratados con Acyclovir respondiendo favorablemente al tratamiento entre el 3º y 6º día.

Consideramos a la PCR como un método útil y específico para la confirmación de HSV I y II de lesiones mucocutáneas atípicas que se presentan en pacientes inmunosuprimidos.

Lic. Susana Albano <sup>(1)</sup>; Lic. Valeria Mas <sup>(2)</sup>; Dr. Alejandro Ruiz Lascano <sup>(3)</sup>; Dra. Teresita Alvarellos <sup>(4)</sup>; Dr. Ricardo Campana <sup>(5)</sup>; Dr. Constancio Giraudo <sup>(6)</sup> y Dra. Graciela de Boccardo <sup>(7)</sup>.  
Laboratorio de Histocompatibilidad e Inmunogenética  
Servicio de Dermatología  
Hospital Privado - Centro Médico de Córdoba

## SUMMARY

Herpesvirus infection in immunocompromised hosts is an frequent complication.

The unusual lesions caused by HSV I and II involves skin an mucosa. We evaluated the utility of the polimerase chain reaction (PCR) for early detection of HSV I and II immunocompromised hosts in the post-transplant period.

We studied 84 renal transplant. The immunosuppression protocol was CyA, Azathioprine, Prednisone and Nifedipine.

DNA samples were extracted by alkaline lysis method from the lesions. The PCR primers were complementary to the HSV DNA polymerase gene. We included positive and negative controls.

From 84 transplanted patients, 9 developed atypical skin lesions with 7 PCR positive for HSV. Samples were studied from the skin lesions by PCR. These patients received Acyclovir therapy and all of them responded to the treatment in 3 to 6 days.

This data show that PCR could be a useful and specific method for early detection of HSV I and II from unusual lesions present in immunocompromised hosts.

## INTRODUCCION

Infecciones provocadas por virus pertenecientes a la familia herpesviridae son una complicación frecuente en individuos inmunosuprimidos. En la actualidad, se conocen 8 herpesvirus humanos. Tabla N° 1.

Cada una de ellas posee diferentes patrones de neutralización y síntomas clínicos.

Estas familias se encuentran separadas en

1-2. Bioquímicas adjuntas interinas. Lab. de Histocompatibilidad e Inmunogenética. Hospital Privado.

3. Servicio de Dermatología. Hospital Privado.

4. Jefa del Departamento de Laboratorios. Hospital Privado.

5. Fellow en Dermatología. Hospital Privado.

6. Jefe del Laboratorio de Histocompatibilidad. Hospital Privado.

7. Directora del Programa de Trasplantes Renales. Hospital Privado.

términos de secuencia genómica y proteínas, pero existe similitud en estructura del virion y organización del genoma. <sup>(1)</sup>

El prototipo de la familia es HERPES SIMPLEX VIRUS (HSV): 160 kbp, cuya secuencia completa es conocida. Existen dos tipos antigénicos, HSV I y HSV II.

FAMILIA HERPESVIRIDAE	
Alphaherpesvirus	Simplex virus (Herpes I y II) Varicelovirus (Herpes 3 o VZV)
Betaherpesvirus	Citomegalovirus (Herpes 5 o CMV) Muromegalovirus Roseolovirus (Herpes 6 y 7)
Gamaherpesvirus	Linfocriptovirus (Herpes 4 o EBV) Rhadinovirus (Herpes 8 o HHV8)

**Tabla 1:** Clasificación de la familia de los Herpesviridales.

Las lesiones mucocutáneas provocadas por el HSV en pacientes con SIDA o en el período post-trasplante, son habitualmente atípicas y de difícil interpretación. Esta situación muchas veces retarda el diagnóstico y, consecuentemente el tratamiento.

La (PCR) es un método a través del cual se amplifican exponencialmente segmentos específicos de DNA. <sup>(2)</sup> La misma ha sido introducida para diagnóstico de encefalitis por herpes virus, también asociado a infecciones orofaríngeas y queratoconjuntivitis, mientras que HSV-2 comúnmente produce infecciones genitales. <sup>(3)</sup> El objetivo de nuestro trabajo fue evaluar la utilidad de la PCR para la detección temprana de herpes virus I y II en lesiones mucocutáneas atípicas de pacientes inmunosuprimidos.

## MATERIAL Y METODOS

Durante el período 1995-1996, se realizaron 84 trasplantes renales (54 hombres y 30 mujeres), cuya edad promedio fue de 36 años (8-66). El protocolo de inmunosupresión se desarrolló de

acuerdo al programa de trasplantes del Hospital Privado de Córdoba. Brevemente consistió en CyA, Azatioprina, Prednisona y bloqueantes cálcicos.

Para la detección de HSV, utilizamos (PCR) a partir de material extraído de las lesiones cutáneas atípicas con hisopo en condiciones estériles. El mismo fue procesado para la extracción del DNA viral con el método de lisis alcalina en Na (OH) 0.4 N.

Cada DNA extraído fue amplificado por duplicado, con controles positivos, negativos y blanco de reacción en cada caso.

Los primeros empleados fueron dirigidos hacia el gen que codifica el DNA de la polimerasa viral, específico para HSV I y II. Cuarenta ciclos de PCR consistieron en desnaturalización 1' a 95° C, annealing 1' a 51° C y extensión 1' a 72° C. El fragmento así amplificado, corresponde a una banda de 92 pares de base (bp) visualizada por electroforesis en gel de agarosa 3 % en bromuro de ethidium.

Se utilizó un grupo control de 9 pacientes inmunosuprimidos con lesiones ampollares no correspondientes a HSV.

Se utilizó un grupo control de 9 pacientes inmunosuprimidos con lesiones ampollares no correspondientes a HSV.

## RESULTADOS

De los 84 pacientes trasplantados, nueve (4 mujeres y 5 hombres, edad promedio 40 años) presentaron lesiones mucocutáneas entre los 7 y 60 días post-trasplante (promedio 2,5 días).

La amplificación por PCR para HSV, fue positiva en 7 de estas lesiones estudiadas, cuya clínica fue variada, desde lesiones típicas de HSV (vesículas en ramillete) y gingivoestomatitis severa a grandes y profundas úlceras anogenitales y glúteas con compromiso del estado general. (Fotos 1 y 2).

Los dos pacientes restantes tuvieron lesiones no correspondientes a HSV.

Aquellos que presentaron PCR (+) fueron tratados con acyclovir en dosis ajustadas a su fun-

ción renal (creatinina sérica) respondiendo favorablemente al tratamiento entre el 3º y 4º día.

El grupo control tuvo PCR negativa para HSV y no presentó reacciones cruzadas.

## CONCLUSIONES

Las infecciones herpéticas en el período post trasplante renal, de pacientes seropositivos son comunes.

En nuestra serie de casos, el 10 % de ellos desarrollaron lesiones mucocutáneas, porcentaje que es, incluso menor al publicado por otros grupos (4).

Los resultados de este trabajo nos permiten comprobar la utilidad de la reacción en cadena de la polimerasa para la detección de lesiones atípicas en piel, por su rapidez, sensibilidad y especificidad, esta última comprobada por ausencia de reacciones cruzadas con otros miembros de la familia herpesviridae, que también reactivan su estado de latencia en individuos inmunosuprimidos.

De este modo, la posibilidad de diagnóstico precoz es, sobre todo de gran ayuda en el tratamiento y evolución de estos pacientes trasplantados.

## BIBLIOGRAFIA

1. Ward and Roizman. Herpes simplex genes. TIG 1994. Vol. 10.
2. Kessler, Dierer et al. Detection of Herpes simplex virus DNA from cerebrospinal fluid by PCR and a rapid, Nonradiative hybridization technique. J. of C. Microbiology 1994. Vol. 32 N° 8.
3. Stoffel, Squiffel, Pirson. Effectiveness of oral Acyclovir Profilaxis in Renal Trasplant recipients. Trasplantation Proceedings, Vol. 19.
4. Griffin, Colbert, Williamsom et al. Oral Acyclovir profilaxis of Herpes Infections in Renal Trasplant Recipients. Trasplantation Proceedings Vol. 17.
5. Tenser, Edris, Gaydos A. Secondary HSV latent infection in trasplanted ganglia. J Virology 1994. Vol. 68 (11).



Foto 1



Foto 2