

AKASMERIA



ppi 201502ZU4670

Esta publicación científica en formato digital es continuidad de la revista impresa ISSN 00755222

Volumen 45. N° 1. Enero - Junio 2017

Universidad del Zulia
Facultad de Medicina
Escuela de Medicina
Departamento de Enfermedades
Infecciosas y Tropicales
Maracaibo, Venezuela

Kasmera 45(1): 52-59, Enero-Junio 2017

Detección del virus herpes simple tipo 2 en mujeres indígenas del estado Zulia

Detection of herpes simplex type 2 in indian women state Zulia

Ana Luzardo E.¹, Luciana Costa de León.², Francisca Monsalve.², María Castellanos S.², Yenddy Carrero C.³, Rita Fernández F.² Ricardo Atencio T.¹

Laboratorio Regional de Referencia Viroológica¹
Cátedra de Virología, Escuela de Bioanálisis de LUZ²
Práctica Profesional de Inmunología, Escuela de Bioanálisis de LUZ³
Autor de correspondencia: Ana Luzardo,
E-mail: anitaabratt@gmail.com

Resumen

El virus herpes simple tipo 2 (VHS-2), es una infección de transmisión sexual prevalente en el mundo a pesar de los avances diagnósticos y terapéuticos. Según estimaciones en el 2012, se calculaba que existían 417 millones de personas infectadas en todo el mundo. El objetivo de este proyecto fue detectar el VHS-2 en mujeres indígenas del estado Zulia, para ello se seleccionaron 100 mujeres de las etnias wayúu y añú sin discriminar edad y/o paridad. El médico procedió a realizar la toma de muestras con un hisopo de alginato, para el procesamiento de las mismas se utilizó el método de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para detectar el VHS-2, en muestras de origen cérvico-uterino, y el diagnóstico citológico se realizó a través de la coloración con hematoxilina-eosina. Se obtuvo un 22% de muestras positivas para VHS-2, los hallazgos obtenidos, demuestran que un porcentaje considerable de las pacientes presentan infección por el VHS- 2, siendo este de suma importancia debido a que el mismo puede contribuir a la progresión de procesos inflamatorios persistentes.

Palabras claves: Virus herpes simple tipo 2, herpes, infección de transmisión sexual.

Abstract

The herpes simplex virus type 2 (HSV-2) is a sexually transmitted infection prevalent in the world; in spite of despite diagnostic and therapeutic advances. According to estimates in 2012, it was calculated that there were 417 million people infected worldwide. The objective of this project was to detect HSV-2 in indigenous women of the Zulia state, for that 100 women of the Wayúu and Añú ethnic groups, were selected without discriminating age and/or parity. The physician proceeded to sample with an alginate swab, for the processing of the same was used the polymerase chain reaction (PCR) method to detect HSV-2 in samples of cervical-uterine origin, and cytological diagnosis was made through staining with hematoxylin-eosin. 22% of HSV-2 positive samples were obtained, the results show that a considerable percentage of patients present HSV-2 infection, which is extremely important because it can contribute to the progression of processes inflammatory agents.

Key words: Herpes simplex virus type 2, herpes, sexually transmitted infection.

Introducción

Las infecciones de transmisión sexual (ITS) son consideradas un problema de salud pública a nivel mundial, debido a su magnitud, complicaciones y secuelas.(1) Existe una preocupación en torno a la necesidad de detener el incremento anual de las ITS, tanto por su rol, como por las diferentes enfermedades que alberga este grupo de infecciones, siendo las más frecuentes: el virus de inmunodeficiencia humana (VIH), virus de papiloma humano (VPH), y virus herpes simple tipo 2 (VHS-2), este último se caracteriza por ser un marcador de conducta sexual, además de estar estrechamente correlacionado a la aparición de VPH.(2)

El VHS-2 ha sido reconocido como la causa más frecuente de úlcera genital en los países desarrollados; mientras que en Venezuela, es la segunda causa después de la Sífilis (3). Hasta un 95% de individuos con VHS-2, seropositivos, resultan ser asintomáticos, lo que facilita su transmisión, estudios recientes indican que aproximadamente el 17% de los adultos entre 14 y 49 años de los EE.UU (3) están infectados crónicamente con el VHS-2.(4) Sin embargo, dado que el VHS-2 y el VIH comparten rutas de transmisión, la seroprevalencia del primero entre las personas infectadas por el VIH es

alta, van desde 50% a 90%, con la mayor tasa de coinfección entre heterosexuales VIH/ VHS-2, en África, África subsahariana y los homosexuales en América. (5)

Smith y col (6), han afirmado que el VHS-2, es un cofactor de la etiología del cáncer cervical, mayormente en mujeres con infecciones mixtas de VPH/ VHS-2 donde la forma más viable en que el VHS-2 tenga participación en la progresión de NIC a cáncer cervical, sea por daños ocasionados en el ADN o por anomalías cromosómicas en las células epiteliales del cérvix.

El VHS-2 es la ITS más común en todo el mundo, afectando a una de cada 10 personas. El VHS-2 pasa a través de períodos de latencia y períodos de reactivación, durante este último se produce la eliminación viral desde el sitio de la infección inicial (7). La infección por VHS-2 se mantiene de por vida, no tiene curación. La mayoría de las personas infectadas no saben que son portadores del virus, pero las personas sintomáticas y asintomáticas pueden transmitirlo a otras personas. Por otra parte, la transmisión del HSV-2 de la madre al hijo durante el embarazo provoca alta morbilidad y mortalidad entre los lactantes infectados (8).

El objetivo principal de esta investigación fue detectar VHS-2 en mujeres indígenas del estado Zulia.

Materiales y Métodos

Población y Muestra

En el estado Zulia habitan distintas etnias indígenas. En esta investigación se estudiaron las etnias Wayúu y Añú. Los guajiros o Wayúu (como ellos mismos se denominan) se encuentran mayoritariamente asentados en la península Guajira del estado Zulia, sin embargo; una parte de ellos se encuentran distribuidos a lo largo del estado Zulia, donde viven en familias, clanes o comunidades (9).

La etnia Añú también llamado paraujano, pertenece a la familia lingüística arawak. Se encuentra asentadas principalmente en la laguna de Sinamaica, en las islas San Carlos, Zapara, Maraca, comunidades Santa Rosa de Agua, en Maracaibo, entre otras zonas del lago (9).

El presente estudio se realizó en la población de Nazareth, La Concepción, Barrio Panamericano ubicado en el municipio Maracaibo, Laguna de Sinamaica e Isla Maraca, mediante jornadas médicas efectuadas en el año 2013; en las cuales se tomaron muestras cervico-vaginales a 100 mujeres, sin discriminar edad, número de compañeros sexuales, ni paridad.

El proceso se llevó a cabo con el consentimiento de las autoridades de cada población, y de cada una de las pacientes. A cada paciente se le realizó una historia clínica, en la cual se obtuvieron datos socio-demográficos, clínicos y ginecológicos, siguiendo el código de ética y bioseguridad de la Universidad del Zulia y el FONACIT (Fondo Nacional para la Ciencia y la Tecnología e Innovación).

Obtención de la muestra

El examen físico ginecológico fue realizado por un médico gineco-obstetra, el cual incluyó inspección de genitales externos y colocación del espejo para la visualización del cuello uterino. Se recolectaron 100 muestras cérvico-vaginales, la toma de muestra fue llevada a cabo por el médico tratante en una sala ginecológica acondicionada para tal fin. La primera muestra se tomó con un hisopo seco y espátula de ayre para el diagnóstico citológico y una torunda de alginato para el

diagnóstico de VHS-2. Una vez tomada la muestra, la misma se trasladó en un tubo que no tenía ningún tipo de medio conservante, fue transportado al laboratorio en refrigeración, donde se conservó a -20°C para su posterior estudio a través de la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Criterios de inclusión: Pertenecer a la etnia Wayúu o Añúu y no estar recibiendo ningún tratamiento ni fármaco inmunosupresor.

Procesamiento de la muestra (PCR)

La extracción del ADN se llevó a cabo utilizando el kit de extracción de ADN QUIAGEN (QIAampR DNA Mini Kit, Qiagen, Alemania), el cual se basa en una lisis inicial del material biológico, utilizando Proteinasa K. Donde se realizan varias centrifugaciones, lo cual permite que el ADN sea selectivamente separado de agentes contaminantes y restos celulares, y lavados a través del uso de soluciones tampones, que permitan remover eficientemente proteínas y otros inhibidores.

Para la amplificación del ADN del VHS-2, se realizó una PCR de tipo nested o anidada utilizando los siguientes primers: HSV1+ (CGCATC ATCTACGGGGACCGGA) y HSV1 (ATG ACGCCGATGTACTTTTCTT), para la primera ronda, y para la segunda ronda HSV2+ (GTGTTGTGCCGCGGTCGCAC) y HSV2- (GTGAA CGTCTTTTCGAA CTC). Se usó la MASTER MIX como mezcla de PCR (400 μM dATP, 400 μM dGTP, 400 μM dCTP, 400 μM dTTP), MgCl₂, (3mM), Taq polimerasa 5 U/ul (10).

Los productos amplificados fueron sometidos a una electroforesis de agarosa al 2% el cual se preparó agregándole 30ml de TME 1X a 0.6 gramos de agarosa y 0.6ul de bromuro de etidio, con 30 segundos en microondas hasta que disuelva completamente. La fuente de energía fue programada a 100 voltios, 500 mil Amper, 250 Watt con un tiempo aproximado de 60 minutos. Se preparó un control de peso molecular, donde se agregó 2ul de colorante, 2ul del patrón de peso molecular (ADN Molecular Weight Marker VII (0,019-1,11 Kbp) de Roche, 8ul de agua libre de nucleasas, para un volumen total de 12ul.

En las figuras 1 y 2 se muestran los resultados de la electroforesis en geles de agarosa.

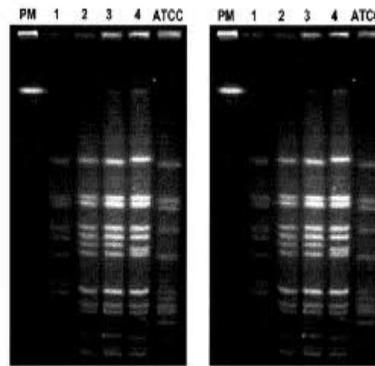


Fig. 1 Marcador de Peso Molecular

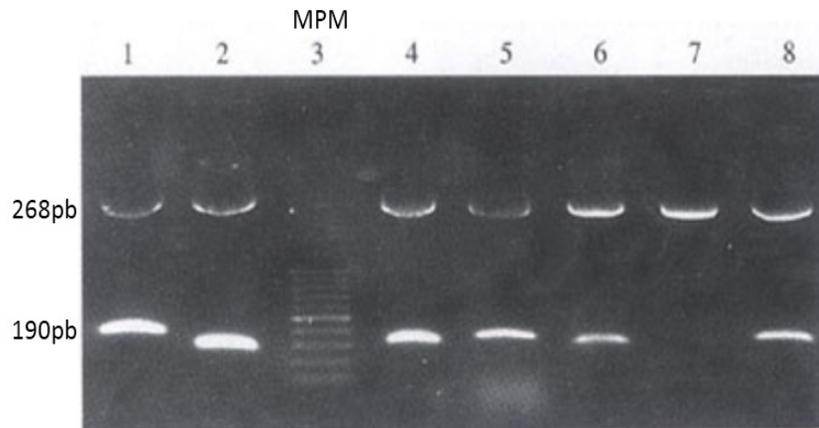


Fig. 2. Electroforesis en gel de agarosa mostrando productos amplificados de 190pb.

Se consideran muestras positivas aquellas que revelaron la presencia de una banda de 190pb correspondiente al genoma de virus herpes simple. La muestra es negativa cuando no se observa ninguna banda.

Análisis estadístico

Se utilizó el paquete estadístico SPSS (Statistical Package for the Social Sciences), los datos obtenidos se muestran en tablas de distribución de frecuencia y analizaron mediante la prueba de Chi cuadrado. Se tomó como índice de confianza el 95%, considerando como significativa toda probabilidad menor del 0,05 ($p < 0,05$).

Resultados

Del total de las pacientes estudiadas (100) de las etnias Wayuú y Añu, 22 muestras resultaron positivas mediante la detección molecular de VHS-2, representando el 22% (Figura 3). Observándose diferencia significativa ($p < 0,005$) entre las mujeres de las dos etnias, a favor de las mujeres de la etnia Wayuú.

En la tabla 1 se pueden observar las muestras positivas para HVS-2 según las etnias estudiadas, obteniendo un mayor número de pacientes positivas en la comunidad de Maracaibo (36,36%) y Nazareth (36,36%),

seguida por Maraca (18,18%) y la Laguna de Sinamaica (9,10%).

En la tabla 2 se resume la relación de los casos positivos por VHS-2 con respecto a la edad y la etnia, donde los casos positivos se encontraron en las edades comprendidas de 17-

20 (33,3%), 25-28 (33,3%) y 33-38(33,3%) años de la etnia Añú. Para la etnia Wayúu se detectó el VHS-2 en los grupos de 21-24 años (25,0%), del mismo modo se reflejó en los grupos etarios de 25-28 años y 37-40 años (25,0%).

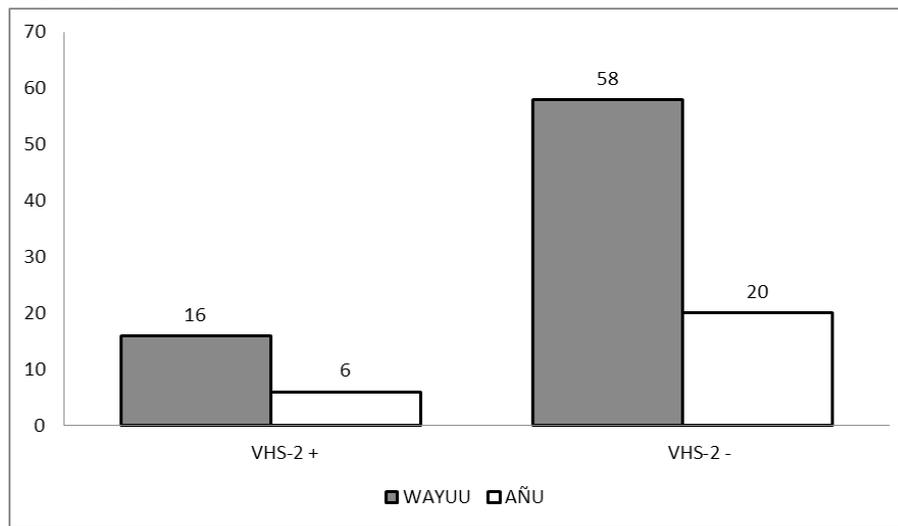
Tabla 1. Distribución de casos de acuerdo a las etnias Wayuu y Añú en mujeres del estado Zulia.

VHS-2	Wayúu						Añú					
	Maracaibo		La Concepción		Nazareth		Maraca		Laguna de Sinamaica			
	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%
VHS-2 +	22	22	8	36,36	0	0	8	36,36	4	18,18	2	9,10
VHS-2 -	78	78	12	15,38	6	7,69	40	51,28	6	7,69	14	17,96
Total	100		20		6		48		10		16	

Tabla 2. Distribución de casos de acuerdo al grupo etario y etnias Wayúu y Añú en mujeres del estado Zulia.

Grupo etario	VHS-2 +				VHS-2 -			
	Wayúu		Añuu		Wayúu		Añuu	
	F	%	F	%	F	%	F	%
17-20	0	0	2	33,3	6	10,3	0	0
21-24	4	25,0	0	0	4	6,9	8	40,0
25-28	4	25,0	2	33,3	2	3,4	0	0
29-32	0	0	0	0	10	17,2	2	10,0
33-36	2	12,5	2	33,3	6	10,3	4	20,0
37-40	4	25,0	0	0	6	10,3	6	30,0
41-44	2	12,5	0	0	10	17,2	0	0
45-48	0	0	0	0	8	13,8	0	0
49-52	0	0	0	0	2	3,4	0	0
53+	0	0	0	0	4	6,9	0	0
Total	16	100,0	6	100,0	58	100,0	20	100,00

Figura 3. Número de casos de virus herpes simple tipo 2 en mujeres indígenas Wayuu y Añú del estado Zulia



Se observó diferencia significativa ($p < 0,005$)

De las 100 muestras analizadas mediante la detección molecular del VHS-2 se obtuvieron los siguientes hallazgos citológicos: infección por *Gardnerella vaginalis* o pseudo hifas de *Candida sp.* 18,18%, estando también positivas para VHS-2, procesos inflamatorios 63,63%, Lesión Intraepitelial (LIE) de bajo riesgo (18,18%), células coilocíticas sugestivas a VPH

según el informe citológico (27,27%). Ver tabla 3.

En la Tabla 4 se muestran los factores de riesgo estudiados, asociados a las infecciones por VHS-2; entre las cuales destaca que, la población que practica relaciones sexuales de tipo genital tiene mayor índice de riesgo y por último el uso de preservativos.

Tabla 3. Distribución de casos de acuerdo al diagnóstico citológico en mujeres indígenas del estado Zulia.

VHS-2			Infección		Inflamación		Grado de Lesión		Células coilocíticas	
							LIE bajo riesgo			
	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%
Positivo	22	22	4	18,18	14	63,63	4	18,18	6	27,27
Negativo	78	78	18	23,07	42	53,84	8	10,25	10	12,82

Tabla 4. Factores de riesgo asociados a la infección por virus herpes simple tipo 2 en mujeres indígenas del estado Zulia.

VHS-2			Tipo de relaciones sexuales						Uso de preservativo					
			Genital		Orogenital		Anal		Todas		Si		No	
	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%
Positivo	22	22	20	90,90	2	9,09	2	9,09	2	9,09	0	0	22	100
Negativo	78	78	70	89,74	8	10,25	6	7,69	6	7,69	2	2,56	76	97,43

Discusión

El VHS-2 es un problema de salud mundial. Según estimaciones en el 2012, había 417 millones de personas infectadas en todo el mundo. Hay más mujeres que hombres infectados por VHS-2. Según las estimaciones de 2012, 267 y 150 millones, respectivamente. Ello se debe a que la transmisión sexual del VHS es más fácil de hombres a mujeres que de mujeres a hombres (11).

En este estudio se determinó la presencia de VHS-2 en mujeres indígenas del estado Zulia, específicamente, de la etnia Wayúu y Añuú, la positividad alcanzó un 22%, lo que nos indica que hay un número importante de pacientes infectadas con este virus en las poblaciones estudiadas, siendo el Barrio Panamericano del municipio Maracaibo (36,36%) y la población de Nazareth (36,36%) las más afectadas. Monsalve para el 2001 (12), realizó una investigación de anticuerpos contra el VHS-2 en Yukpas, donde señala que las mujeres entre 21 a 40 años, tenían una prevalencia de anticuerpos contra el VHS-2 de 66,7%.

En relación a la edad, Meylan (13), afirma que el grupo etario positivo para VHS-2, actualmente se encuentra en las personas que comprenden edades entre los 15 y 25 años de edad. Sin embargo, la población estudiada en esta investigación, resultaron positivas mujeres entre 17 y 28 años en ambas etnias y mujeres entre 37 y 40 años de edad de la etnia Wayúu, esta diferencia podría asociarse a la cultura de cada población, ya que en la etnia Wayúu y Añuú, tienen costumbres propias, y el grado de desconocimiento acerca de las infecciones de transmisión sexual es mayor en algunas familias, esto ayuda a que la incidencia del virus herpes simple tipo 2 sea mayor.

Las pacientes que resultaron positivas, tienen algún tipo de infección adicional al VHS-2, en su mayoría tenían infección con *G. vaginalis* y pseudohifas de *Candida* sp, incluyendo células coilocíticas sugestivas de infección por VPH, y son estas pacientes las que han tenido prácticas sexuales de tipo orogenital o anal, estos resultados son comparables con la hipótesis respaldada por Smith y col (6) y Atencio y col (14), quienes señalan que hay una relación importante entre la aparición de estas infecciones que son muchas veces transmitidas

por prácticas sexuales inadecuadas, y el desarrollo de una neoplasia cervical a futuro, así como la transmisión de otras infecciones por vía sexual, por la presencia del VHS- 2.

Tran-Thanh y col (15), afirman que los casos positivos de VHS- 2 se correlacionan con el grado de lesión y que guarda estrecha relación con la aparición de cáncer cervicouterino, lo que coincide con los resultados obtenidos en nuestra investigación, puesto que un 18,18 % de los casos positivos presentaban lesión intraepitelial de bajo grado, la misma puede ser debido a la presencia del VHS-2 ó a una posible infección con el VPH, ya que en algunas muestras citológicas pudo observarse células coilocíticas sugestivas de VPH.

Así mismo, las conductas sexuales de tipo orogenital y anal, han contribuido a elevar los casos de VHS- 2 a nivel mundial, el tener múltiples parejas y la falta de uso de preservativos ha permitido que se mantenga como un virus de elevada prevalencia, estas prácticas sexuales incrementan la posibilidad de contraer el virus, y otras infecciones bacterianas o micóticas (16).

Es importante mencionar que hay escasos estudios realizados en indígenas, bien sea para la detección o el seguimiento de alguna infección de transmisión sexual; en nuestro país, se han realizado muy pocos estudios acerca del VHS-2 en comunidades indígenas, ya sea por el difícil acceso a los recónditos lugares en donde se encuentran asentadas gran parte de su comunidad, su arraigada cultura que los hace una población cerrada sobre todo a la ciencia y la tecnología y los escasos recursos económicos que les imposibilita acudir a los centros de salud por atención médica.

Los hallazgos obtenidos en este estudio, demuestran que un porcentaje considerable de las pacientes presentan infección por el VHS-2. Se obtuvo un 22% de positividad para virus herpes simple tipo 2, en poblaciones indígenas Wayúu y Añú del estado Zulia. Algunas mujeres positivas para virus herpes simple tipo 2, presentaban coinfección con *G. vaginalis* y/o pseudohifas de *Candida* sp. Esto puede ser adjudicado a las prácticas sexuales orogenital y anal que al igual que otras infecciones asociadas, juegan un papel importante en el origen de lesiones pre invasivas de cuello uterino.

Referencias bibliográficas

1. Larduet A, Montoya Y, Sánchez Y, Ramos M. Intervención educativa sobre enfermedades de transmisión sexual en estudiantes de medicina, Septiembre – Febrero: MEDICIEGO 2012; 18:123-140.
2. Patterson J, Hitti J, Selke S, Huang ML, Watts DH, Brown Z, et al. Genital HSV detection among HIV-1-Infected pregnant women in labor. *Inf Dis Obstet Gynecol.* 2011:1-4.
3. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Seroprevalence of herpes simplex virus type 2 among persons aged 14-49 years - United States, 2005-2008. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2010;59(15):456-459.
4. Patel P, Bush T, Mayer K, Milam J, Richardson J, John H., Routine brief risk-reduction counseling with biannual STD testing reduces STD incidence among HIV-infected men who have sex with men in care. *Sex Transm Dis.* 2012; 39(6):470-474.
5. Barnabas RV, Celum C. Infectious co-factors in HIV-1 transmission herpes simplex virus type-2 and HIV-1: new insights and interventions. *Curr HIV Res.* 2012; 10:228-37.
6. Smith H, Bosetti C, Muñoz N, Bosch FX, Eluf-Neto J. Herpes Simplex Virus-2 As A Human Papillomavirus Cofactor In The Etiology Of Invasive Cervical Cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2002; 94: 98-112.
7. Homans J, Christensen S, Stiller T, Wang CH, Mack W, Anastos K, et al. Permissive and protective factors associated with presence, level, and longitudinal pattern of cervicovaginal HIV shedding. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2012; 60:99-110.
8. Corey L, Wald A. Las infecciones maternas y neonatales virus del herpes simple. *N Engl J Med.* 2009; 361: 1376-1385.
9. Boletín Indígena, Instituto Nacional De Estadística (INE) Vol. 1, Núm. 1, Octubre 2013
10. Yerena C E, Miñón H A; Ortiz L R, Ramírez A J. Detección del virus del papiloma humano por PCR anidada con my09/11 y gp5+/6+, en muestras endocervicales de pacientes con Papanicolaou normal, de la ciudad de Xalapa, Veracruz, México. *Asociación Mexicana de Bioquímica Clínica.* 2009. 34(1): 65.
11. OMS. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs400/es/#vhs2> Consultado el 06/02/2017.
12. Monsalve C F, Estévez J, Costa L, Salas M, Hernández M, Olaya G, et al. Seroepidemiología del virus Herpes simple 2 en una población indígena Yukpa. Estado Zulia. Venezuela. *Rev Med. Chile* 2001; 129: 45- 56.
13. Meylan P. 2011. Archivos Médicos De Actualización En Tracto Genital Inferior [AMATGI] Herpes Genital Año III.8 (5) :2-4 .
14. Atencio R. Diagnostico molecular del virus herpes simple y virus papiloma humano en mujeres con lesiones preinvasivas de cuello uterino. Estado Zulia, Venezuela. [Tesis de grado]. Escuela de Bioanálisis. Universidad del Zulia. 2008; pp. 25
15. Tran D. Rôle du virus herpès simplex type 2 (HSV-2), de *Chlamydia trachomatis* et du virus herpès humain type 6 (HHV-6) comme cofacteurs aux virus du papillome humain (HPV) dans les lésions néoplasiques du col utérin. *Am J Obstet Gynecol.* 2002; 7: 110-118.
16. Sánchez J, Crespo B, Hernando C. Herpes Genital. *Revista Clínica de Medicina de Familia.* 2010; 3: 124-126.



UNIVERSIDAD
DEL ZULIA

Kasmera

Revista del Departamento de
Enfermedades Infecciosas y Tropicales

Vol. 45 N° 1, Enero - Junio 2017

*Esta revista fue editada en formato digital y publicada
en diciembre de 2016, por el **Fondo Editorial Serbiluz,**
Universidad del Zulia. Maracaibo-Venezuela*

www.luz.edu.ve
www.serbi.luz.edu.ve
produccioncientifica.luz.edu.ve