

Seroprevalencia de anticuerpos frente al virus Seoul en grupos laborales de riesgo

Lourdes Lledó, María Isabel Gegúndez, José Vicente Saz y María Beltrán

Departamento de Microbiología y Parasitología. Facultad de Medicina. Universidad de Alcalá. Alcalá de Henares. Madrid. España.

Se diseñó un estudio de seroprevalencia para conocer la proporción de personas expuestas al virus Seoul, en el que se incluyeron 226 sujetos, cuyas actividades laborales podrían considerarse de alto riesgo de exposición a los reservorios del virus (biólogos y policías). La detección de anticuerpos específicos de tipo inmunoglobulina G (IgG) se realizó por inmunofluorescencia indirecta y Western-blot. Se detectó un positivo entre los biólogos (4,54%). Este trabajo confirma la presencia de exposición al virus Seoul en uno de los grupos.

Palabras clave: Grupos de riesgo. Epidemiología. Hantavirus. Virus Seoul.

Seroprevalence of antibodies to Seoul virus in employment risk groups

A seroprevalence study was performed to determine the percentage of people exposed to Seoul virus among biologists and police officers (n = 226), whose work might put them into contact with viral reservoirs. Detection of specific IgG antibodies was performed by indirect immunofluorescence and western-blot. There was one positive result among the biologists (4.54%). This study confirms Seoul virus exposure in one of the employment groups studied.

Key words: Risk groups. Epidemiology. Hantavirus. Seoul virus.

Introducción

Los Hantavirus, familia *Bunyaviridae*, son universalmente reconocidos como los agentes etiológicos de diversas enfermedades humanas, desde infecciones inaparentes a graves síndromes clínicos como la fiebre hemorrágica renal (Europa y Asia) o el síndrome pulmonar por Hantavirus (América)¹. Los roedores son el principal

reservorio de la infección. Normalmente cada especie vírica se mantiene en un tipo particular de roedor y es la distribución del roedor lo que determina la distribución geográfica del virus. Las ratas *Rattus rattus* y *R. norvegicus* son el principal reservorio para el virus Seoul (perteneciente a este género), por lo que este virus en concreto presenta una distribución universal como sus reservorios. La transmisión se produce por inhalación de los aerosoles formados a partir de la orina, excretas y saliva de los roedores, y con menos frecuencia tras la mordedura del roedor.

En España se han realizado diversos estudios epidemiológicos^{2,3} en la población general en diferentes zonas geográficas a lo largo de los últimos años con resultados variables según las técnicas más o menos específicas empleadas, demostrando la circulación de estos virus en España. Sin embargo, no se ha realizado ningún estudio, hasta el momento, en grupos de población que por sus actividades, bien laborales o lúdicas, tengan una elevada exposición a roedores y, por tanto, un mayor riesgo de padecer enfermedades producidas por Hantavirus.

Con este trabajo queremos contribuir a mejorar el conocimiento de la epidemiología de las infecciones producidas por Hantavirus en nuestro país.

Métodos

Población

La población analizada en este estudio pertenecía a dos grupos que teóricamente pueden considerarse de riesgo para adquirir estas infecciones por mantener contacto laboral con roedores: biólogos que realizaban estudios de campo o en el laboratorio con roedores salvajes y miembros del Cuerpo Nacional de Policía, que pertenecían a unidades que realizaban trabajos de vigilancia en el subsuelo y a unidades de caballería. Procedían de todas las comunidades autónomas del país. La muestra comprendió 22 sueros de biólogos (8 mujeres, 14 varones), de edades comprendidas entre los 22 y 49 años; y 204 sueros de policías (15 mujeres, 189 varones), cuyas edades oscilaban entre los 21 y 50 años.

El estudio se realizó con el consentimiento de los individuos incluidos en el estudio y fue autorizado por el Comité de Ensayos Clínicos e Investigación de la Universidad de Alcalá, y de acuerdo con los criterios éticos de la Declaración de Helsinki de 1975, revisada en 1983.

Métodos

En primer lugar las muestras se analizaron mediante inmunofluorescencia indirecta (IFI) como técnica de cribado, y posteriormente se realizó *Western-blot* (WB) como técnica de confirmación.

Inmunofluorescencia indirecta

Se realizó según el procedimiento descrito por Lee y Lee⁴ en 1976. Como antígeno se emplearon células Vero E6 infectadas con el virus

Correspondencia: Dra. L. Lledó.
Departamento de Microbiología y Parasitología.
Universidad de Alcalá. Campus Universitario.
Ctra. Madrid-Barcelona, km. 33,6. 28871 Alcalá de Henares. Madrid. España.
Correo electrónico: lourdes.lledo@uah.es

Manuscrito recibido el 26-3-2003; aceptado el 8-9-2003.

Seoul (cepa 80/39). Los sueros se estudiaron a una dilución inicial 1:32 para la detección de IgG, y se incubaron con las láminas a 37 °C durante 30 min. Tras el lavado se incubaron con el conjugado (inmunoglobulinas de conejo anti-IgG humana de Sigma, St. Louis, MO) a 37 °C durante 30 min. Posteriormente se lavaron, secaron y se observaron en un microscopio Olympus con el objetivo de 40 × 10.

Se consideraron positivos los sueros con un patrón de fluorescencia puntiforme amarillo-verdoso brillante distribuido por el citoplasma de las células infectadas (aproximadamente en el 50% de las células), a títulos iguales o superiores a 1:32⁴; y cuando se observó un patrón atípico sin punteado claro que afectaba aproximadamente a la mitad de las células del pocillo, se reseñó el resultado como dudoso.

Western-blot

Se utilizaron proteínas recombinantes de la nucleocápside del virus Seoul. La obtención de estas proteínas se realizó a partir del gen N expresado en el vector 23b (Novagen, Madison, WI, USA), insertado en *Escherichia coli* BL21 (Novagen) siguiendo el protocolo de Jenison et al⁵. El antígeno se aplicó a geles 4-12% de SDS-poliacrilamida (Bio-rad, Hercules, CA) mediante electroforesis, y se transfirió a filtros de PVDF (Bio-rad, Hercules, CA). Estos fueron incubados durante una noche a 4 °C con las muestras diluidas a 1:400. Después de lavar se incubaron 2 h a temperatura ambiente con inmunoglobulina de cabra/fosfatasa alcalina frente a inmunoglobulinas humanas IgG (Sigma). Después de lavar se aplicó NBT/BCIP (Sigma) como sustrato. La reactividad se estimó visualmente, detectando la presencia de la banda específica, dándole un valor a la intensidad de la banda en una escala de cuatro cruces.

Tratamiento estadístico

El análisis estadístico de los resultados se realizó empleando la prueba χ^2 o la prueba exacta de Fischer, mediante el programa Stat View 2.1.

Resultados

En el cribado, mediante IFI, se detectó un suero positivo a un título 1:32 y un suero dudoso (título 1:32), ambos pertenecientes al grupo de los biólogos. Posteriormente, sólo se confirmó el suero positivo al realizar el WB (fig. 1). El suero reactivo pertenecía a un varón de Santander, que desde hacía 3 años mantenía contacto con roedores de laboratorio (*Rattus* spp.) y en una ocasión había sufrido una mordedura por uno de ellos; no tenía historia previa de ninguna enfermedad relacionada con las causadas por Hantavirus.

La seroprevalencia detectada en el grupo de biólogos fue del 4,54% (1/22), y en el grupo de policías del 0% (0/204). La prevalencia en el grupo de biólogos para hombres fue de 7,1% (1/14) y de 0% (0/8) para mujeres. No se encontraron

diferencias estadísticamente significativas ni entre ambos grupos de riesgo ni por sexos.

Discusión

Este es el primero de una serie de trabajos epidemiológicos proyectados en diversas poblaciones de riesgo, tanto por actividades laborales como lúdicas, para intentar conocer la epidemiología de estos virus en nuestro medio. La elección, en primer lugar, del virus Seoul como antígeno se debió al desconocimiento de que cepas de Hantavirus pueden estar circulando en España, ya que todavía no se ha aislado ninguno, ni de los reservorios ni a partir de muestras clínicas. Por lo tanto, elegimos al virus Seoul porque al menos teóricamente este virus podría existir en España, ya que su reservorio principal son especies de *Rattus*, las cuales están presentes en nuestro medio. Además, debido a las reacciones cruzadas que presentan los Hantavirus, podíamos detectar anticuerpos frente a virus relacionados con este serotipo.

Los resultados demuestran la presencia de anticuerpos frente al virus Seoul en uno de los grupos, a pesar del pequeño número de individuos incluidos en el estudio. La prevalencia encontrada en este grupo es inferior a la comunicada por Nuti et al⁶ en Italia para estos mismos profesionales (biólogos), que es del 10%; y es superior a la detectada para otros grupos laborales, el 1,5% en basureros y el 3,45% en cuidadores de animales en Taiwan⁷, y para otros grupos de población con un 0,5% en personas sin hogar⁸ en Los Ángeles (USA). En el grupo de policías la prevalencia ha sido de 0%, resultado similar al encontrado en Italia por Nuti et al⁶ para grupos presuntamente de riesgo como bomberos, personal de empresas de control de roedores, trabajadores en muelles de ríos (policías, descargadores, etc.).

Los datos obtenidos en grupos de riesgo comparados con los hallados en población general en diversos estudios, como en la Comunidad de Madrid con una seroprevalencia del 0,3%³ y en la ciudad de Baltimore (USA), con cifras que oscilan según los diferentes autores entre un 0,25%⁹ y 0,7%¹⁰, confirman que la prevalencia frente al virus Seoul es superior en algunos grupos de riesgo con respecto a la población general.

Finalmente, con la publicación de este trabajo se pretende, además de informar de los primeros datos obtenidos en un estudio epidemiológico, transmitir la importancia de la vigilancia sobre las diversas infecciones emergentes, porque aunque hasta el momento no han ocasionado un problema de salud en España, está demostrada su presencia en áreas geográficas cercanas a nuestro medio, y su potencial para provocar enfermedades graves en el hombre. En nuestro país, desde enero de 2003 existe una red de vigilancia epidemiológica, frente a infecciones virales transmitidas por artrópodos y roedores, que cuenta con la tecnología y el personal adecuado para la vigilancia y diagnóstico de estas infecciones.

Agradecimientos

A los Dres. Carlos Godas y Javier Palomo por su colaboración en la obtención de muestras. Este estudio se realizó con la ayuda económica de la Universidad de Alcalá (proyecto n.º E048/2001).

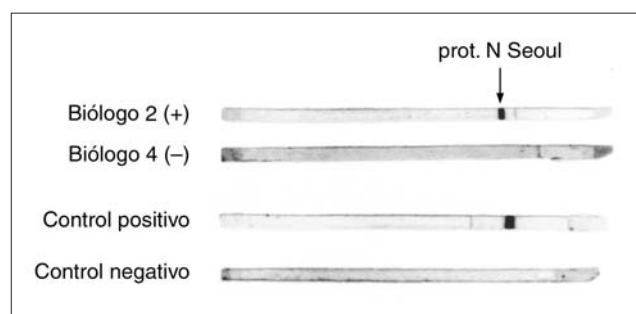


Figura 1. Resultado de las muestras analizadas por Western-blot.

Bibliografía

1. Lee JS. Clinical manifestations and treatment of HFRS and HPS. En: Lee HW, Calisher Ch, Schmaljohn C, editors. Manual of hemorrhagic fever with renal syndrome and hantavirus pulmonary syndrome. WHO Collaborating Center for Virus Reference and Research (Hantaviruses) Seoul, Asan Institute for Life Sciences, 1999;18-38.
2. Gegúndez MI, Saz JV, Alves J, Merino FJ, Filipe A, Beltrán M. Infección por Hantavirus en España: estudio seroepidemiológico en la provincia de Soria. *Med Clin (Bar)* 1996;106:131-3.
3. Lledó L, Gegúndez MI, Saz JV, Alves J, Beltrán M. Serological study of hantavirus in man in the Autonomous Community of Madrid, Spain. *J Med Microbiol* 2002;51:861-5.
4. Lee HW, Lee PW. Korean hemorrhagic fever I. Demonstration of causative antigen and antibodies. *Korean J Intern Med* 1976;19:371-83.
5. Jenison S, Yamada T, Morris C, Anderson B, Torrez-Martínez N, Keller N, et al. Characterization of human antibody responses to Four Corners Hantavirus infection among patients with Hantavirus Pulmonary Syndrome. *J Virol* 1994;68:3000-6.
6. Nuti M, Amadeo D, Autorino GL, Crovatto M, Crucil C, Ghionni A, et al. Seroprevalence of antibodies to Hantaviruses and Leptospirae in selected Italian population groups. *Eur J Epidemiol* 1992;8:98-102.
7. Chen HL, Yang JY, Chen HY, Lin TH, Wang GR, Horng CB. Surveillance of anti-hantavirus antibodies among certain high-risk groups in Taiwan. *J Formos Med Assoc* 1998;97:69-72.
8. Smith HM, Reporter R, Rood MP, Linscott AJ, Mascola LM, Hogrefe W, et al. Prevalence study of antibody to ratborne pathogens and other agents among patients using a free clinic in downtown Los Angeles. *J Infect Dis* 2002;186:1673-6.
9. Childs JE, Glass GE, Ksiazek TG, Rossi CA, Oro JG, Leduc JW. Human-rodent contact and infection with lymphocytic choriomeningitis and Seoul viruses in an inner-city population. *Am J Trop Med Hyg* 1991;44:117-21.
10. Diglisic G, Rossi CA, Doti A, Walshe DK. Seroprevalence study of Hantavirus infection in the community based population. *Md Med J* 1999;48:303-6.