

Detección del virus Epstein Barr en escolares adolescentes en la ciudad de Cali, Colombia

Sebastián Giraldo-Ocampo¹, Julio C. Osorio², Adrián Fernández³, Andres Castillo^{4,5,*}

Resumen

Objetivo: Detectar el virus Epstein-Barr en estudiantes de secundaria entre los 14 y 17 años de la ciudad de Cali, Colombia y su posible asociación con la edad, sexo y grado escolar.

Métodos: Estudio retrospectivo de corte transversal en donde se analizaron 374 muestras de saliva, tomadas entre el año 2015 y 2016, mediante PCR convencional y PCR en Tiempo real. Se evaluó la asociación entre la detección del ADN viral y las características demográficas, además de un análisis de razón de oportunidades para evaluar la medida de la asociación.

Resultados: El ADN viral fue detectado en el 45% (167/374) de las muestras orales, encontrándose una presencia viral mayor en los escolares de los grados octavo y noveno ($p=0,004$); en donde los estudiantes de 14 años presentaron un riesgo de 2,4 veces mayor para la detección del virus (IC 95%:1,12-4,9) en comparación con los estudios de más edad.

Conclusión: En el presente estudio se evidenció la exposición del VEB en la cavidad oral de estudiantes de secundaria, lo cual hace necesario que se tomen acciones de vigilancia que permitan monitorear las implicaciones de estos hallazgos en la salud de los escolares.

Palabras clave: Escolares, virus Epstein-Barr, características sociodemográficas, enjuague bucal, PCR convencional, PCR en Tiempo Real.

Detection of Epstein Barr virus in adolescent students in the city of Cali, Colombia

Abstract

Objective: To detect the Epstein Barr virus in adolescent students between 14 and 17 years old in the city of Cali, Colombia and its possible association with age, gender and school grade.

Methods: Retrospective cross-sectional study where 374 mouthwash samples collected between the years 2015 and 2016 was analyzed through conventional and real-time PCR. Association between viral DNA detection and sociodemographic characteristics were evaluated. The odds ratio analysis was used to assess the extent of this association.

Results: The viral DNA was present in 45% (167/374) of the samples, with a higher DNA detection in the students of eighth and ninth grades ($p=0.004$); where the 14 years old students present a 2.4 times higher risk of detecting the virus (IC 95%: 1,12-4.9) in comparison with older students.

Conclusion: In the present study, the Epstein Barr virus exposition in the oral cavity was evidenced, which make necessary to take actions on surveillance that allow monitoring the implications of these findings in the teenage student's health.

Keywords: Adolescent students, Epstein - Barr virus, sociodemographic characteristics, mouthwash, conventional PCR, Real-Time PCR.

Introducción

El virus de Epstein-Barr (EBV, por sus siglas en inglés), reportado por primera vez en 1964 por M.A Epstein, Y.M Barr y B.G Achong, en pacientes africanos con linfoma de Burkitt, es uno de los siete virus oncogénicos actualmente conocidos que infectan humanos¹. Pertenece a la familia Herpesviridae,

subfamilia gammaherpesvirinae; presenta ADN de doble cadena de aproximadamente 180 kilobases; una estructura formada por proteínas, entre la nucleocapside y la envoltura, llamada tegumento; además, posee tropismo hacia células B, aunque también puede infectar células epiteliales, y de forma menos habitual, otro tipo de células como linfocitos T y células dendríticas^{2, 3}.

1 Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad del Valle.

2 Escuela de Ciencias Básicas, Facultad de Salud, Universidad del Valle.

3 Escuela de Salud Pública, Facultad de Salud, Universidad del Valle.

4 Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad del Valle.

5 Laboratorio de Patología Molecular, Facultad de Salud, Universidad del Valle.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: andres.castillo.g@correounivalle.edu.co

Recibido: 15/05/2018; Aceptado: 23/09/2018

Cómo citar este artículo: S. Giraldo-Ocampo, et al. Detección del virus Epstein Barr en escolares adolescentes en la ciudad de Cali, Colombia. Infectio 2019; 23(2): 176-182

Clasificado por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) como carcinógeno del grupo 1, es ubicuo en la población mundial, presentándose una prevalencia cercana al 95% en la población adulta⁴. Diversos estudios reportan que el virus presenta un patrón bimodal en la edad de primoinfección: en los países en desarrollo, sucede en los primeros años de vida; y en los desarrollados, el contagio tiene lugar en la adolescencia, entre los 13 y 17 años. En estos últimos, entre el 50 al 70% desarrollan mononucleosis infecciosa^{5,6,7}. Sin embargo, la prevalencia varía, principalmente, de acuerdo con las características sociodemográficas y cambios culturales entre países y dentro de estos⁸.

La principal ruta de transmisión del EBV es vía oral, a través de la saliva y menos frecuentemente por medio del contacto con sangre, trasplante de células hematopoyéticas u órganos sólidos. Una vez el virus entra a la cavidad oral, este infecta y se replica en las células epiteliales adyacentes al anillo de Waldeyer; en donde, seguidamente, infecta los linfocitos B donde puede entrar en latencia o diseminarse por todo el cuerpo por el torrente sanguíneo^{4,9}. Se calcula que pueden haber hasta un millón de células infectadas en el anillo de Waldeyer, en las cuales el virus puede reactivar su replicación y aumentar su número de partículas virales periódicamente, siendo liberado a la saliva^{9,10}. Se ha propuesto que el mecanismo biológico para explicar la liberación de las partículas virales a la saliva es a través de las células B infectadas que se diferencian en células plasmáticas. Las partículas virales liberadas infectan las células epiteliales adyacentes a las amígdalas, donde ocurren varios ciclos de replicación viral antes de ser secretadas a la saliva¹¹. Por lo tanto, el virus solo será detectable en la saliva posiblemente cuando hay reactivación de partículas virales en las células B¹⁰.

El EBV es el principal causante de la mononucleosis aguda infecciosa (MI), síndrome común caracterizado por fiebre, garganta irritada, fatiga extrema y glándulas linfáticas inflamadas. Aproximadamente el 80% de los casos de MI que ocurren durante la adolescencia es causada por este agente⁴. Además, la infección del EBV se ha relacionado con una amplia variedad de patologías, como el cáncer de cuello y cabeza, desórdenes linfoproliferativos postransplantes, linfomas de células B y T, carcinoma nasofaríngeo, cáncer gástrico, cáncer de sistema nervioso central, leucoplasia vellosa oral, linfoma de burkitt y el linfoma de Hodgkin, en el 40% de los casos^{12,13,14,15} e incluso con esclerosis múltiple¹⁶. Según la organización mundial de la salud, en Colombia, para el año 2012, se presentaron cerca de 430 casos de pacientes con linfoma de Hodgkin, reportándose 0,9 casos por cada 100.000 habitantes, y cerca de 135 pacientes fallecieron por cuenta de esta enfermedad¹⁷.

En el presente estudio se realizó la detección del EBV en la cavidad oral en una población aparentemente sana de estudiantes de secundaria de la ciudad de Cali, Colombia; y se evaluó si su presencia se relaciona con la edad, sexo y el grado escolar de los participantes.

Métodos

Tipo de estudio

Este es un estudio de tipo retrospectivo de corte transversal en donde se analizaron muestras previamente recolectadas, caracterizadas y almacenadas; cada una con información sobre características demográficas y factores de riesgo de los participantes que fue recolectada mediante encuestas de auto-diligenciamiento.

Población de estudio

De acuerdo al cálculo del tamaño muestral, con un nivel de confianza del 95%, una frecuencia anticipada del 50% y un poder del 80%, se tomaron al azar 400 muestras de enjuague bucal del biobanco del Registro Poblacional de Cáncer de Cali (RPCC) de la Universidad del Valle, recolectadas durante el periodo septiembre 2015-abril 2016 en 21 colegios de la ciudad de Cali, del proyecto "Efecto de la vacunación contra la infección oral por el VPH16 en estudiantes de 14 a 17 años de edad en colegios de secundaria de la ciudad de Cali" con acta de propiedad intelectual del comité institucional de ética para la investigación con humanos de la facultad de salud de la Universidad del Valle con número de aprobación 011-014, del año 2014. Para la toma de las muestras, los estudiantes realizaron un enjuague bucal con agua destilada durante 30 segundos: 15 segundos realizando gárgaras y 15 realizando buches. Lo anterior con el fin de obtener células de la cavidad oral y de la orofaringe, que de acuerdo al Instituto Nacional de Cáncer (INC)¹⁸ de los estados unidos, la primera comprende, además de la saliva, los labios, el revestimiento interior de las mejillas y los labios, los dos tercios anteriores de la lengua, las encías superior e inferior, el piso de la boca debajo de la lengua, la parte ósea del paladar y el área pequeña detrás de las muelas del juicio; y la segunda (la orofaringe) comprende el tercio posterior de la lengua, el paladar blando, las paredes laterales y posteriores de la garganta, y las amígdalas. Los enjuagues realizados se dispusieron en tubos Falcon de 50 mL y dos viales fueron almacenados a -70°C sin conservantes hasta su procesamiento.

Extracción, pureza, calidad e integridad del ADN

El ADN de las muestras de enjuague bucal se extrajo usando el kit de extracción "PrepMan® Ultra Sample Preparation Reagent" de applied Biosystems™, siguiendo las instrucciones del fabricante. Brevemente, las muestras se centrifugaron a 4000 rpm por 5 min, se descartó el sobrenadante y se realizaron entre dos a tres lavados con suero fisiológico. A continuación, se adicionaron 50 µL del reactivo PrepMan™ Ultra y se incubaron por 20 min a 100°C. Posteriormente, se centrifugaron a 13500 rpm por 2 min y el sobrenadante con los ácidos nucleicos se almacenó en tubos Eppendorf. La concentración y pureza del ADN se evaluó usando un espectrofotómetro Nanodrop 2000 UV-Vis (TermoFisher Scientific). El ADN se almacenó a -20°C hasta análisis posteriores.

Para evaluar la presencia de inhibidores de la PCR y la degradación del ADN se realizó la amplificación de un fragmento de 110 pb del gen β-globina, usando los cebadores PCO3; 5'-ACACA ACTGT GTTCA CTAGC-3' y PCO4; 5'-CAACT TCATC

CACGT TCACC-3'. La reacción de la PCR convencional se realizó en un volumen final de 20 μ L utilizando, en concentraciones finales: buffer Green GoTaq 1X, 1,5 mM $MgCl_2$, 0,3 mM dNTP's, 0,5 μ M de cada cebador, 1 U de Taq polimerasa (BioTaq, Bioline) y agregando 1 μ L (~50 ng/ μ L) de ADN. La amplificación se realizó en un termociclador Swift TM Mini-Pro Thermal Cyclers, usando las siguientes condiciones: desnaturalización inicial a 95°C por 4 min, seguido de 40 ciclos de 95°C por 1 min, 52°C por 1 min y 72°C por 2 min; con una extensión final de 5 min a 72°C. El producto amplificado se corrió en un gel de agarosa al 1% con una concentración de 1:10000X del intercalante EZ-Vision®, mediante electroforesis por 40 min a 100 voltios, usando como buffer de corrida TBE 1X. El gel se visualizó mediante un transiluminador UV.

Detección del EBV por PCR convencional

La detección del ADN viral se realizó usando los cebadores EBV-F; 5'-CCT GGT CAT CCT TTG CCA-3' y EBV-R; 5'-TGC TTC GTT ATA GCC GTA GT-3' propuestos por Kato et al.¹⁹ La reacción de PCR convencional amplificó un fragmento de 95 pb y se llevó a cabo en un volumen final de 20 μ L con las siguientes concentraciones finales: buffer Green GoTaq 1X, 1,9 mM $MgCl_2$, 0,2 mM dNTP's, 0,25 μ M de cada cebador, 1 U de Taq polimerasa (BioTaq, Bioline) y agregando 1 μ L (~50 ng/ μ L) de ADN. La amplificación se realizó en un termociclador Swift TM MiniPro Thermal Cyclers, empleando las siguientes condiciones: desnaturalización inicial a 95°C por 2 min seguido de 40 ciclos de 95°C por 15 seg, 60°C por 15 seg y 72°C por 30 seg; con una extensión final por 2 min a 72°C. El producto amplificado se corrió en gel de agarosa al 3%, con una concentración de 1:10000X del intercalante EZ-Vision®, mediante electroforesis por 50 min a 100 voltios, usando buffer de corrida TBE 1X. El gel se visualizó mediante un transiluminador UV. Para el control negativo se adicionó agua miliQ en lugar de ADN. El límite de detección mínimo de la PCR convencional se evaluó realizando una serie de diluciones (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4}) de un control positivo para EBV que previamente había sido cuantificado y validado por secuenciación directa con el método de sanger y un análisis de porcentajes de identidad mediante el algoritmo BLASTn mediante el alineamiento con secuencias de referencia de EBV almacenadas en los repositorios del National Center for Biotechnology Information (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/taxonomy/?term=EBV>).

Detección del EBV por PCR en tiempo real

Las muestras de ADN con un resultado negativo para el análisis por PCR convencional, se evaluaron nuevamente por PCR en tiempo real con los mismos cebadores y las condiciones descritas por Kato et al.¹⁹, usando un termociclador CFX96 Touch™ Real-Time PCR (Bio-Rad): desnaturalización inicial a 95°C por 10 seg, seguido de 40 ciclos 95°C por 5 seg y 60°C por 30 seg, con una extensión final de 72°C por 5 min. La reacción se realizó en un volumen final de 20 μ L conteniendo 10 μ L de SYBR Green master Mix (por recomendación del fabricante, Bio-Rad), 0,4 μ M de cada cebador y 1 μ L (~50 ng/ μ L) de ADN. La especificidad de la amplificación se confirmó

mediante el análisis de las curvas de disociación (Melting) de las muestras. Para esta prueba igual se evaluó el límite de detección mínimo de la PCR en tiempo real con una serie de diluciones (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4}) del control positivo.

Análisis de datos

Se realizó posterior a la obtención de los resultados de detección del EBV (presencia-ausencia). Los resultados de la detección del EBV fueron correlacionados con la información brindada por los estudiantes sobre sexo, edad, y grado escolar. Las estimaciones de los porcentajes de presencia del EBV fueron reportadas y la significancia estadística entre las categorías se realizó mediante el test exacto de Fisher con una significancia estadística del 5%. Los cálculos de Razones de Oportunidad (ODD, por sus siglas en inglés) se midieron con intervalos de confianza (IC) del 95%. La variable dependiente del estudio fue la detección del EBV.

Consideraciones éticas

El presente estudio tiene aprobación del comité institucional de ética para la investigación con humanos de la facultad de salud de la Universidad del Valle, número de aprobación 008-017, del año 2017.

Resultados

De las 400 muestras, se excluyeron 26 del estudio, 15 por dar un resultado negativo en la amplificación del gen β -globina (Fig. 1) y 11 por presentar encuestas incompletas. La distribución de los escolares por sexo, edad y grado escolar se muestra en la tabla 1. Mediante la técnica de PCR convencional (Fig. 2a), el porcentaje de detección del EBV fue del 26% (96/374). Con la técnica de PCR tiempo real (Fig. 2b) se detectó el ADN viral en 71 muestras que con la PCR convencional dieron un resultado negativo (167/374). El coeficiente Kappa en el análisis de concordancia de los resultados para las técnicas fue igual a 0,42.

En los resultados obtenidos con la técnica de PCR en tiempo real se consideró como positivo para la presencia del EBV si la curva de melting generada en la detección estaba presente entre los 83 y 83,5°C (Fig. 2c).

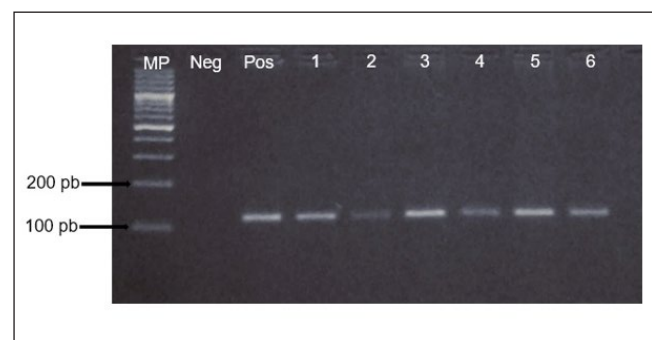


Figura 1. Resultados del análisis de β -globina. MP: marcador de peso molecular de 100 pb, Pos: control positivo, Neg: control negativo.

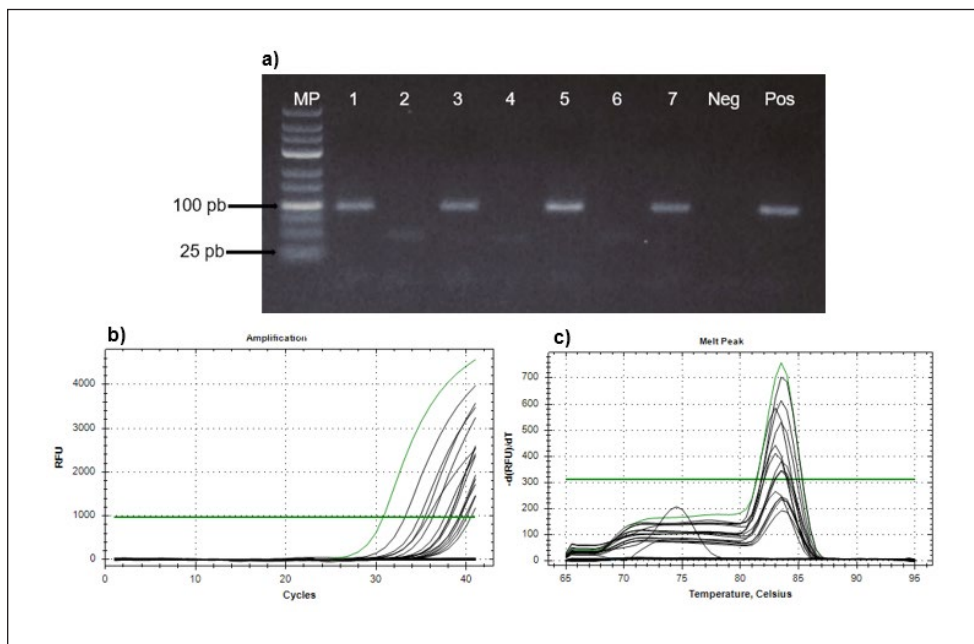


Figura 2. Resultados de: **a)** PCR convencional, **b)** PCR tiempo real, control positivo en color verde. El negativo no se observa y **c)** la curva de disociación (melting) de la PCR tiempo real, mostrando el pico del melting de los amplificados entre 83 y 83,5°C. Las curvas por debajo del umbral de fluorescencia corresponden a las muestras que amplificaron en los ciclos tardíos. MP: marcador de peso de 25 pb, Pos: control positivo, Neg: control negativo.

El control positivo del estudio presentaba una concentración de 26,6 ng/ μ L de ADN; a partir de las diluciones de este, el límite mínimo de detección de la PCR convencional se estableció en $26,6 \times 10^{-2}$ ng/ μ L de ADN (Fig. 3a). En contraste, la PCR en tiempo real presentó un límite de detección más bajo, $26,6 \times 10^{-3}$ ng/ μ L (Fig. 3b), lo que permitió una detección mayor del ADN viral.

Los hombres presentaron un mayor número de casos positivos en comparación con las mujeres; sin embargo, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas (tabla 1). Al observar la proporción de estudiantes positivos por la variable edad, se puede evidenciar que los estudiantes de 14 años son los que presentaron un mayor porcentaje de casos positivos para EBV (tabla 1).

En el grado escolar se agruparon los grados octavo y noveno, y decimo con undécimo, encontrando que el primer grupo presentaba el mayor porcentaje de casos positivos (54%). Se encontró una diferencia estadísticamente significativa en cuanto a la detección del virus entre los dos grupos de grados escolares (tabla 1, $p=0,004$).

El análisis de razón de oportunidades se realizó con las variables edad y grado escolar debido a que mostraron una tendencia a la diferencia entre grupos y una diferenciación estadísticamente significativa, respectivamente. Los estudiantes de 17 años se tomaron como grupo de referencia para el cálculo de los ODD. Se encontró que los estudiantes de 14 años tienen un riesgo de 2,4 veces más para la detección del virus con un valor de p igual a 0,01 (tabla 2). Para el análisis del grado escolar, se tomó como grupo de referencia al gru-

po conformado por los grados decimo y undécimo, encontrando que el grupo de grados escolares menos avanzados presentan 1,8 veces más riesgo de detección del EBV, con un valor de $p < 0,01$ (tabla 2).

Discusión

Existen pocos estudios alrededor del mundo que hayan determinado la infección del EBV en población aparentemente sana en cavidad oral mediante técnicas molecular como la PCR, al contrario, la mayoría reportan seroprevalencias del virus que están por encima del 76%. En Latinoamérica, por ejemplo en Chile, la seroprevalencia del EBV es del 76,7%²⁰ y en Brasil, mayor al 80%²¹. Para Colombia se reportó en 1990 una seroprevalencia para el virus del 94%²², en una población aparentemente sana, en un estudio realizado con 129 escolares de primaria y una edad promedio de 6 años. Igualmente, en algunos de estos estudios han reportado una disminución en la seroprevalencia del virus²³. En Japón se reportó para la ciudad de Tokio que, durante 1990, en niños entre 5 y 7 años superaba el 80%, disminuyendo al 59% entre el periodo 1999-2000, y luego a menos del 50% para el año 2006⁸. En Estados Unidos, en personas sanas entre los 6 y 19 años, durante el periodo 2003-2004, era del 72%, declinando al 65% entre el 2009 y el 2010²⁴. De acuerdo con el estudio realizado en los niños japoneses, la disminución de la prevalencia ocasionaría un cambio en la incidencia de las patologías asociadas al EBV⁸. Adicionalmente a esto, en Francia la primoinfección, entre 2001 y 2007 era en promedio a los 13 años, aumentando a los 15 años para el periodo 2008-2015²³. Según este estudio, el retraso en la edad de primoinfección, tendría un efecto directo en la población, debido a que una mayor parte de esta presentaría la sintomatología asociada a la MI²³.

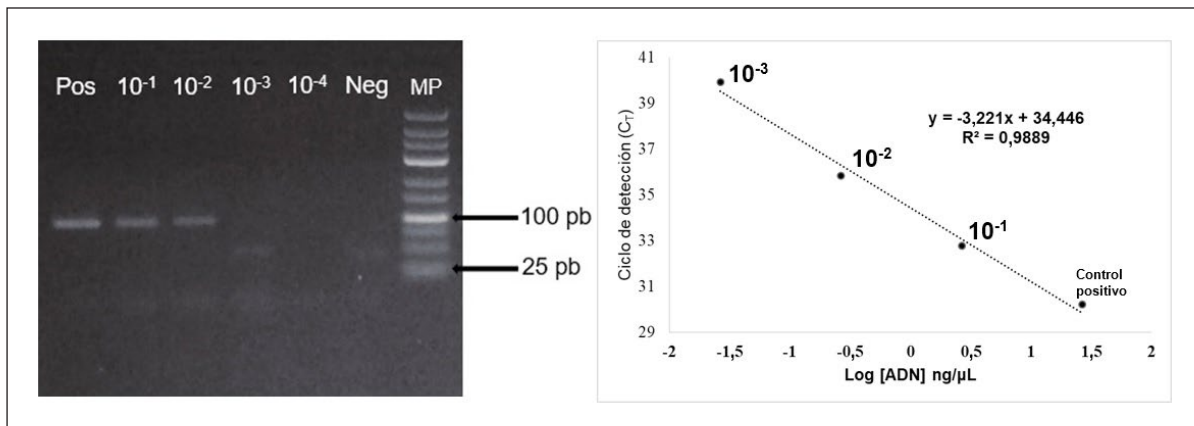


Figura 3. Curva de detección mínima de: **a)** PCR convencional y **b)** PCR en tiempo real. Pos: control positivo, 26,6 ng/μL de ADN, Neg: control negativo, MP: marcador de peso de 25 pb, 10^{-1} : $26,6 \times 10^{-1}$ ng/μL, 10^{-2} : $26,6 \times 10^{-2}$ ng/μL, 10^{-3} : $26,6 \times 10^{-3}$ ng/μL, 10^{-4} : $26,6 \times 10^{-4}$ de ADN.

En la presente investigación no se realizó la evaluación de la seroprevalencia de los virus en los escolares debido a que el objetivo principal del estudio era identificar factores de riesgo relacionados con la transmisión de las partículas virales vía oral, sin embargo, el porcentaje de detección del EBV empleando la técnica molecular de la PCR en tiempo real fue del 45%, mucho menor a lo reportado por Ossa et al.²². Aunque ambos resultados no se pueden comparar por proceder de técnicas diferentes, cabe mencionar que el porcentaje de positividad para el virus por las técnicas de PCR puede estar afectado por el número de partículas virales presentes en la muestra biológica. Una prueba de lo anterior la hallamos al calcular el índice de concordancia entre la técnica de PCR convencional con la PCR en tiempo real, cuyo valor kappa fue de 0,42, lo que indica una concordancia baja entre ambas técnicas. Para la técnica de PCR en tiempo real el límite mínimo de detección fue de $26,6 \times 10^{-3}$ ng/uL de ADN, diez veces menor al compararlo con el obtenido para la PCR convencional (Fig. 3). Igualmente, el porcentaje de detección puede ser afectado por la dinámica de infección del EBV y si está en fase de latencia o lítica. Evidencia de lo anterior se observa en un estudio de Hadinoto et al., 2009 sobre la dinámica de secreción del EBV a la saliva¹¹, en donde durante un periodo de dos años se realizaron repetidas pruebas de detección para EBV por PCR en tiempo real en participantes positivos para el virus, reportando en ocho ocasiones la no presencia del virus.

Pese a las limitaciones que pueda tener el uso de la PCR en tiempo real para el diagnóstico molecular del EBV, es una técnica no invasiva y económica para la toma de muestra y análisis del EBV en cavidad oral, que permite realizar estudios de ciencia básica y vigilancia epidemiológica en población aparentemente sana. Por ejemplo, en un estudio donde analizaron 233 niños asintomáticos con anemia de células falciforme y a sus madres de Uganda, mediante PCR en tiempo real, encontraron que el ADN viral se detectó en la saliva del 90% de los niños y en el 79% de las madres. Por otro lado, en la sangre, se detectó en el 86% de los niños y en el 72% de las madres; concluyendo que había una correlación positiva en la detección del EBV en estos dos tipos de muestras²⁵.

En cuanto a las características sociodemográficas y la detección del EBV, se encontró que había diferencias entre el grado escolar y una tendencia en la edad. Al realizar el análisis de razón de oportunidades (ODD), el grupo conformado por los grados menos avanzados presentó un riesgo de 1,8 veces más de detección del virus. Por otro lado, se encontró que a los 14 años hay un riesgo de 2,4 veces más de detectar el virus en comparación con los estudiantes de 17 años. De acuerdo a Crawford *et al.*²⁶ (2006), los individuos de menor edad son más susceptibles a la infección del EBV, en parte, porque el anillo de Waldeyer es un conjunto de estructuras que tienden a involucionar: la amígdala nasofaríngea y tubaria a los 9 años y la amígdala palatina a los 14 años; razón por la cual, los autores sugieren que la infección se puede dar más fácilmente en individuos de menor edad al necesitar una carga viral menor; y lo cual podría explicar, en parte, los resultados del presente estudio tanto para la edad como posiblemente para el grado escolar, debido a que el grupo de los grados octavo y noveno coinciden estar conformados por los estudiantes de menor edad (entre 14 y 15 años).

Tabla 1. Características sociodemográficas de la población analizada en el presente estudio, indicando los resultados de las pruebas estadísticas para cada una.

Característica sociodemográfica	No. de estudiantes	Detección del EBV		Valor-p
		Positivo (%)	Negativo (%)	
Sexo				0,603
Mujer	181	78(43)	103(57)	
Hombre	193	89(46)	104 (54)	
Edad				0,093
14 años	49	29(59)	20(41)	
15 años	109	49(45)	60(55)	
16 años	114	51(45)	63(55)	
17 años	102	38(37)	64(63)	
Grado escolar				0,004
Octavo/Noveno	151	81(54)	70(46)	
Decimo/undécimo	223	86(39)	137(61)	
Total (n)	374	167	207	

Tabla 2. Análisis de oportunidades para la edad y grado escolar, tomando como grupo de referencia (valor=1) a los estudiantes de 14 años y grado octavo, respectivamente.

Característica sociodemográfica	No. de estudiantes	Detección del EBV		ODD ratio (IC 95%)	Valor-p
		Positivo (%)	Negativo (%)		
Edad					
14 años	49	29(59)	20(41)	2,44 (1,12-4,9)	0,01
15 años	109	49(45)	60(55)	1,37 (0,79-2,4)	0,31
16 años	114	51(45)	63(55)	1,36 (0,79-2,35)	0,32
17 años	102	38(37)	64(63)	1	
Grado escolar					
Octavo/Noveno	151	81(54)	70(46)	1,84 (1,18-2,86)	<0,01
Decimo/undécimo	223	86(39)	137(61)	1	
Total (n)	374	167	207		

En conclusión, En el presente estudio se evidencio la exposición del VEB en la cavidad oral de estudiantes de secundaria, lo cual hace necesario que se tomen acciones de vigilancia que permitan monitorear las implicaciones de estos hallazgos en la salud de los escolares. Igualmente son importantes realizar estudios de seguimiento en poblaciones aparentemente sanas empleando tanto técnicas serológicas como moleculares para comprobar si efectivamente la prevalencia de EBV en el país sigue una tendencia a disminuir como lo han venido reportando algunos estudios a nivel mundial; para así poder enfocar o incentivar programas de salud pública hacia este agente patogénico.

Agradecimientos

Por el apoyo financiero en este estudio, los autores agradecen a: Colciencias (código: No.110665741213; CT-664-2014), y a la Universidad del Valle, (CI 71114 – 2017).

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

Autoría. Todos los autores participaron en el diseño del estudio, adquisición, análisis e interpretación de resultados, así como en la redacción del manuscrito y aprobaron la versión final del mismo.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Financiamiento. Colciencias (código: No.110665741213; CT-664-2014), y a la Universidad del Valle, (CI 71114 – 2017).

Conflictos de interés. Durante el periodo de ejecución del estudio los autores Gino Patrón y Claudia Vera fueron médico e interna de medicina del Hospital, respectivamente. Esto no influyó en los resultados u otra sección del artículo. Los otros autores manifiestan no tener conflictos de interés.

Referencias

- Chang Y, Moore PS, Weiss RA. Human oncogenic viruses: nature and discovery. *Phil. Trans. R. Soc. B.* 2017;372(1732):20160264.
- Paludan SR, Bowie AG, Horan KA, Fitzgerald KA. Recognition of herpesviruses by the innate immune system. *Nat Rev Immunol.* 2011;11(2):143–54. DOI: 10.1038/nri2937.
- Taylor GS, Long HM, Brooks JM, Rickinson AB, Hislop AD. Immunology of Epstein-Barr Virus – Induced Disease. *Annu. Rev. Immunol.* 2015;33(25):787–821. DOI: 10.1146/annurev-immunol-032414-112326
- IARC. Biological Agents: A review of human carcinogens. Lyon: IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans; c2012 100B: 49-92. ISBN:978-92-832-1319-2
- Xiong G, Zhang B, Huang M, Zhou H, Chen L, Feng Q, et al. Epstein-Barr virus (EBV) infection in Chinese children: a retrospective study of age-specific prevalence. *PLoS One.* 2014;9(6):e99857. DOI: 10.1371/journal.pone.0099857
- Pariante M, Bartolomé J, Lorente S, Dolores Crespo M. Distribución por edad de los patrones serológicos de infección por el virus de Epstein-Barr: revisión de resultados de un laboratorio de diagnóstico. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2007;25(2):108–10.
- Trastoy R, Costa J, Rodríguez J, Navarro D, Barbeito G, Aguilera A. Primoinfección por el virus Epstein-Barr entre los años 2006 a 2015 en el área sanitaria de Santiago de Compostela. Relación con edad y sexo. *Rev Esp Quimioter.* 2017;30(6):468-471.
- Takeuchi K, Tanaka-Taya K, Kazuyama Y, Ito YM, Hashimoto S, Fukayama M, et al. Prevalence of Epstein-Barr virus in Japan: Trends and future prediction. *Pathol Int.* 2006;56(3):112–6. DOI: 10.1111/j.1440-1827.2006.01936.x.
- Hess RD. Routine Epstein-Barr virus diagnostics from the laboratory perspective: Still challenging after 35 years. *J Clin Microbiol.* 2004;42(8):3381–7. DOI: 10.1128/JCM.42.8.3381-3387.2004.
- Huynh GT, Rong L. Modeling the dynamics of virus shedding into the saliva of Epstein-Barr virus positive individuals. *J Theor Biol.* 2012;310:105–113. DOI: 10.1016/j.jtbi.2012.05.032.
- Hadinoto V, Shapero M, Sun CC, Thorley-Lawson DA. The dynamics of EBV shedding implicate a central role for epithelial cells in amplifying viral output. *PLoS Pathog.* 2009;5(7):e1000496. DOI: 10.1371/journal.ppat.1000496.
- Kutok JL, Wang F. Spectrum of Epstein-Barr Virus-Associated Diseases. *Annu Rev Pathol.* 2006;1(1):375–404. DOI: 10.1146/annurev.pathol.1.110304.100209.

13. Fica A. Síndrome de mononucleosis infecciosa en pacientes adolescentes y adultos. *Rev. chil. infectol.* 2003;20(4):235–42. DOI: 10.4067/S0716-10182003000400003.
14. Straus MSE, Cohen DJ. Epstein-Barr Virus Infections: Biology, Pathogenesis, and Management. *Ann Intern Med.* 1993;118(1):45–58.
15. Veitia D, Liuzzi J, Correnti M, Ávila M, De Guglielmo Z, Siso S, et al. Epstein-Barr virus detection in patients with head and neck cancer. *Rev Venez Oncol.* 2015;27(3):149–55.
16. Bermudez-Morales V, Hernández-Girón C, Flores J, González-Carranza A, Madrid Marina V, Flores-Aldana M, et al. Relación de infección por virus de Epstein-Barr (EBV) en pacientes con esclerosis múltiple (EM), en México. *neurol arg.* 2016;8(2):89–95. DOI: 10.1016/j.neuarg.2016.01.007
17. Globocan 2012: Estimated Cancer Incidence Mortality and Prevalence Worldwide. [Internet]. World Health Organization [actualizado 2012, citado 9 dic 2017]. Disponible en: http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_population.aspx.
18. Diccionario de cáncer. [Internet]. Instituto Nacional del Cáncer [Actualizado 2012, citado 4 dic 2017]. Disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionario>.
19. Kato A, Imai K, Ochiai K, Ogata Y. Prevalence and quantitative analysis of Epstein-Barr virus DNA and Porphyromonas gingivalis associated with Japanese chronic periodontitis patients. *Clin Oral Investig.* 2015;19(7):1605–10. DOI: 10.1007/s00784-014-1387-y
20. Ferrés M., Prado P, Ovalle J, Fuentes R., Villarroel L, Ferreccio C, et al. Seroprevalence of Epstein Barr virus infection in a healthy population of Santiago de Chile. *Rev Med Chil.* 1995;123(12): 1447-52.
21. Figueira-Silva CM, Pereira FE. Prevalence of Epstein-Barr virus antibodies in healthy children and adolescents in Vitoria, State of Espírito Santo, Brazil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2004;37(5):409–12. DOI: 10.1590/S0037-86822004000500008.
22. Ossa JE, Arango AE., Patton J, Stewart J. Frecuencia de infección por herpesvirus en 129 niños en edad escolar en Antioquia. *IATREIA.* 1990;3(1):25-29.
23. Fourcade G, Germi R, Guerber F, Lupo J, Baccard M, Seigneurin A, et al. Evolution of EBV seroprevalence and primary infection age in a French hospital and a city laboratory network, 2000–2016. *PLoS One.* 2017;12(4):e0175574. DOI: 10.1371/journal.pone.0175574.
24. Balfour HH, Sifakis F, Sliman JA, Knight JA, Schmeling DO, Thomas W. Age-Specific prevalence of Epstein-Barr virus infection among individuals aged 6–19 years in the United States and factors affecting its acquisition. *J Infect Dis.* 2013;208(8):1286–93. DOI: 10.1093/infdis/jit321.
25. Mbulaiteye SM, Walters M, Engels EA, Bakaki PM, Ndugwa CM, Owor AM, et al. High Levels of Epstein-Barr Virus DNA in Saliva and Peripheral Blood from Ugandan Mother-Child Pairs. *J Infect Dis.* 2006;193(3):422–6. DOI: 10.1086/499277.
26. Crawford DH, Macsween KF, Higgins CD, Thomas R, McAulay K, Williams H, et al. A cohort study among university students: identification of risk factors for Epstein-Barr virus seroconversion and infectious mononucleosis. *Clin Infect Dis.* 2006;43(3):276–82. DOI: 10.1086/505400.