

Utilidad de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para enterovirus en el diagnóstico de la meningitis aséptica. Análisis de un brote con 17 casos confirmados

MANUEL DAZA LÓPEZ, EULALIA CABOT DE VEGA, FRANCESC CASARRAMONA LOBERA, JOSEP BASSA REAL, JORDI BIGAS FARRERES, CARLES MIRET MAS

Servicio de Urgencias. Hospital de Mataró, Barcelona. España.

CORRESPONDENCIA:

Dr. Manuel Daza López
C/ Cirera, s/n
08304 Mataró. Barcelona
E-mail: mdaza@csdm.cat

FECHA DE RECEPCIÓN:

28-8-2009

FECHA DE ACEPTACIÓN:

23-12-2009

CONFLICTO DE INTERESES:

Ninguno

Objetivo: Describir la utilidad de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en el diagnóstico de las meningitis por enterovirus (EV), sus implicaciones terapéuticas y dar a conocer la experiencia obtenida a través de un brote en nuestro servicio de urgencias (SU).

Metodología: Análisis retrospectivo y descriptivo de las características clínicas, bioquímicas y el resultado de los análisis de PCR realizados en el brote de meningitis aséptica en el SU entre el 28 de junio y 26 de julio de 2007.

Resultados: Brote de 21 casos de meningitis aséptica. El 52% fueron varones (11 pacientes), la edad de 22 años (rango 4-39), todos eran inmunocompetentes; 7 pacientes eran menores de edad (33%) con media de edad de 7 años (rango 4-10). El promedio de sintomatología fue de 2 días (4 días en adultos). Los síntomas predominantes fueron: cefalea (100%), fiebre (95%), vómitos (87%) y signos meníngeos (48%). La cifra media de leucocitos en sangre fue de 9.206/ μ l (R: 3.180-15.000/ μ L), con predominio de linfocitos en tres pacientes (14,2% de casos). El recuento leucocitario mediano en LCR fue de 144 células por ml; en 2 casos (9,5%) con predominio de polinucleares. La glucorraquia media fue de 58 mg/dl y la proteinorraquia de 50 mg/dl. La PCR de LCR confirmó 17 casos de meningitis por EV (81%). En 4 pacientes (19%) la PCR para EV fue negativa, pero también el cultivo de virus en LCR. Todos los pacientes ingresaron, y la media fue de 3 días. Recibieron inicialmente tratamiento antibiótico y/o antiviral 3 pacientes (14%). Ninguno presentó complicaciones o secuelas.

Conclusiones: Disponer del test de la PCR en el diagnóstico de las meningitis por EV permite hacer el diagnóstico de una forma rápida y fiable. Evita instaurar tratamientos antibióticos y antivirales de forma empírica y permite optimizar los recursos sanitarios de forma segura, y evitar hospitalizaciones y medidas terapéuticas fútiles/innecearias. Se confirma la benignidad de este tipo de infecciones. [Emergencias 2010;22:199-202]

Palabras clave: Meningitis vírica. Enterovirus. PCR. Brote.

Introducción

Disponer del test de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) permite optimizar el diagnóstico y el manejo de las meningitis asépticas (MA)¹. Aunque la sospecha clínica se realiza en base a la clínica y el análisis del líquido cefalorraquídeo (LCR), clásicamente se realizaba el cultivo de virus y tratamientos empíricos en espera de resultados definitivos. En la actualidad, la realización de este test permite obtener el diagnóstico rápido y fiable, y optimizar el manejo clínico de estos pacientes, así como poder aventurar un pronóstico de benignidad.

La MA es un proceso inflamatorio de las leptomeninges sin signos de encefalitis o mielitis² y LCR claro con pleocitosis (> 5 leucocitos/ml), sin gérmenes en la tinción de Gram y cultivos rutinarios negativos. Las técnicas de PCR han identificado a los enterovirus (EV) no polio como el agente causante del 85%-95% de los casos³⁻⁶ (Tabla 1).

Los EV son picornavirus y se clasifican en 2 clases: poliovirus (tipo 1, 2 y 3) y no poliovirus (coxsackie, echovirus y enterovirus no clasificados). El humano es el único reservorio. En la meningitis por EV están implicados mayoritariamente Coxsackievirus A (tipos 1, 2, 4, 11, 16, 18) y B (tipos 1-6)

Tabla 1. Diagnóstico diferencial de la meningitis séptica

Virus
Frecuentes: Enterovirus. Arbovirus. VIH. VHS-2.
Menos frecuentes: VHS-1. VCML. Virus de parotiditis. <i>Mycobacterium tuberculosis</i> . Fúngicas.
Raros: Adenovirus. CMV. Virus influenza a, b. Virus del Sarampión. Virus Parainfluenza. Virus de la Rubeola. VVZ.
Espiroquetas
<i>Treponema Pallidum</i> . <i>Leptospira ssp</i> . <i>Borrelia Burgdorferi</i> .
Protozoos y Helmintos
<i>Naegleria fowlevi</i> . <i>Strongyloides Stercoralis</i> . <i>Angiostrongylus cantonensis</i> .
Otros síndromes infecciosos
Infección Parameningea. Sd. viral postinfeccioso. Endocarditis Infecciosa. Postvacuna (sarampión, pertussi, polio, rabia).
Medicamentos
Carbamazepina. Antimicrobianos (cotimoxazol, ciprofloxacino, penicilina, isoniazida). Inmunoglobulina. Azatioprina. Antiinflamatorio no esterooidal (ibuprofeno, naproxeno). Citosina Arabinosa.
Enfermedad sistémica
Lupus eritematoso sistémico. Sd. Vogt-Koyanagi-Harada.
Procedimientos
Neurocirugía. Inyección Intratecal. Anestesia espinal.

Sd: síndrome.

y los Echovirus (tipos 4, 6, 9, 11, 16, 30), y en España, el Echovirus es el serotipo más frecuente⁷. En nuestro entorno la vacunación para virus polio prácticamente ha erradicado esta entidad.

Las infecciones por EV suelen presentarse en brotes en primavera y verano⁸. La transmisión es fecal-oral y menos frecuentemente respiratoria. El receptor del virus es la superficie celular gastrointestinal y se replica en el tejido linfático local. Aproximadamente al tercer día penetra en el sistema circulatorio y causa la primera viremia e invaden diferentes órganos, entre ellos el sistema nervioso central (SNC)^{2,4}. La población infantil es más susceptible a la infección^{7,8}, pero son también la principal causa de MA en el adulto². Los síntomas aparecen de 3 a 6 días tras la exposición^{2,3,9-11} y en general tienen buen pronóstico¹².

La clínica depende de la edad, el estado inmunológico, las condiciones del huésped y la virulencia del agente. En la mayoría de casos suele autolimitarse y, en general, más del 90% presentan fiebre, con pródromo viral, cefalea, fotofobia y síntomas gastrointestinales^{3,13}. Las alteraciones neurológicas focales son infrecuentes. El diagnóstico se realiza por punción lumbar (PL). La pleocitosis se encuentra en rangos de 100-1.000 cel/mm³, inicialmente con predominio polimorfonuclear (PMN) y, a las 8-48 horas vira a linfocitario. Aunque infrecuente, pueden existir hipoglicorraquia e hiperproteínorraquia de intensidad menor¹⁰.

Los pacientes ingresan para control evolutivo, y reciben algunos antibióticos iv., principalmente en el periodo temprano (predominio PMN en LCR), hasta confirmar cultivo bacteriano negativo.

El método diagnóstico clásico ha sido aislar al virus en LCR, técnica compleja, costosa y de baja sensibilidad (65%-75%)³. Además, si el título de EV es bajo, la obtención de los resultados puede oscilar entre 3,7 a 8,2 días^{2,3}. La PCR es un método más rápido y útil en la práctica clínica, con una sensibilidad hasta de un 100% y una especificidad de 94%^{10,14-16}.

Describimos las características epidemiológicas, clínicas y microbiológicas de un brote de 21 casos de MA, en la zona de influencia de nuestro hospital entre el 28 de junio y 26 de julio de 2007, con 17 casos confirmados de meningitis por EV y pretendemos demostrar la utilidad del test de la PCR en LCR para EV en el diagnóstico diferencial de las MA, y corroborar que permite el diagnóstico precoz de forma fiable y reduce tratamientos innecesarios.

Método

Revisión retrospectiva de las historias clínicas de los pacientes diagnosticados de MA entre el 28 de junio y 26 de julio de 2007. Analizamos los datos sociodemográficos, epidemiológicos, clínicos, de laboratorio (en sangre: recuento y fórmula leucocitaria; en LCR: recuento y fórmula leucocitaria, glucorraquia y proteinorraquia), microbiológicos (PCR para enterovirus en LCR) y terapéuticos. Consideramos caso confirmado de meningitis por EV la positividad de la PCR o del cultivo de virus en LCR. Las muestras fueron enviadas al laboratorio de microbiología del Hospital de Sant Pau de Barcelona y la técnica de PCR fue la PCR cuantitativa o PCR en tiempo real.

El procesamiento de los datos se ha realizado usando el paquete estadístico SPSS versión 11.

Resultados

Se describe un brote de 21 casos de MA con afectados de 10 municipios, agrupados en 30 días entre junio y julio de 2007. De ellos, 9 de Mataró y el resto de pueblos próximos. El 52% eran varones (11 pacientes) con media de edad de 22 años (rango: 4-39), todos inmunocompetentes. El 33% (7 pacientes) eran menores de 14 años, con una media de edad de 7 años (rango: 4-10) y el 66% restante (14 pacientes) con edad media de 30,5 (rango 18-39 años). La evolución media de los síntomas fue de 2 días si analizamos todos los casos y de 4 días si analizamos exclusivamente los adultos. Los síntomas predominantes fueron cefa-

Tabla 2. Hallazgos clínicos en los 21 casos de meningitis aséptica

Síntoma/signo	n (%)
Cefalea	21 (100%)
Fiebre	20 (95%)
Temperatura superior a 39°C	5 (24%)
Vómitos	17 (81%)
Meningismo	10 (48%)
Diarrea	4 (19%)
Exantema	2 (9,5%)

lea (100%), fiebre (95%), temperatura superior a 39° (24%), vómitos (87%) y signos meníngeos (48%) (Tabla 2).

El hemograma mostró entre 3.180 y 15.000 leucocitos μ L (media de 9.206) con predominio de linfocitos en el 14% de casos. El recuento leucocitario en LCR osciló entre 10 y 1.171 células por mL (promedio de 144) y en 2 casos (9,5%) existía predominio de PMN. La glucorraquia fue normal en todos los casos y osciló entre 33 y 75 mg/dl (media 58 mg/dl) y la proteinorraquia entre 23 y 99 mg/dl (media de 50 mg/dl) (Tabla 3).

La PCR de LCR se determinó antes de 24 horas excepto en fin de semana. En 17 pacientes (81%) confirmó el diagnóstico de meningitis por EV, entre ellos los 2 casos con predominio de polinucleares en LCR. En 4 pacientes (19%) fue negativa (en dos casos positiva en familiares). El cultivo de virus en LCR se realizó en 13 pacientes (62%), entre ellos a los pacientes con PCR negativa y en los 4 casos el cultivo resultó también negativo. Solo se determinó la positividad pero no el serotipo de EV. A destacar que de los pacientes a los que se solicitó cultivo de virus en LCR, en 2 casos resultó negativo mientras que el resultado por PCR fue positivo.

Ingresaron todos los pacientes con una mediana de hospitalización de 3 días. Recibieron inicialmente algún tipo de tratamiento antibiótico 3 pacientes (14%), de los cuales un paciente recibió tratamiento antimicrobiano, un paciente aciclovir y 1 paciente antimicrobiano y aciclovir. Todos los pacientes evolucionaron con la resolución completa del cuadro.

Tabla 3. Hallazgos de laboratorio

Parámetro	Media	Rango
Sangre		
Leucocitos/ μ L	9.206	3.180-15.000
Neutrófilos (%)	68,5	24-90
Líquido cefalorraquídeo		
Células/mL	144	10-1.171
Linfocitos (%)	83	13-100
Glucosa (mg/dL)	58	33-75
Proteínas (mg/dL)	50	23-99

Discusión

Conforme a la literatura, se confirma la estacionalidad y benignidad del brote de meningitis por EV^{8,12}. Ingresaron todos los pacientes, con estancia hospitalaria breve y evolución favorable sin complicaciones en el 100% de casos. El paciente tipo es joven, sin diferencia entre sexos, y los datos clínicos también se ajustan a la bibliografía y destacan la cefalea, fiebre y frecuentemente vómitos. Destacar que menos de la mitad presentaron meningismo^{2,3,13}.

A pesar que suele afectar mayoritariamente a niños y adolescentes, en el brote descrito sólo 7 eran menores de 10 años y los 14 restantes (67%) mayores de 18 años. Por ubicación, 9 pacientes (43%) eran de Mataró y el resto de localidades próximas sin que se haya podido investigar si había existido contacto entre ellos.

Análíticamente la media de leucocitos en sangre resultó de 9.200 μ L, 144 células por mL en LCR (83% linfocitos), glucorraquia de 58 mg/dL y proteínas de 50 mg/dL, con PCR de LCR positivo a EV en el 81% de los casos. En el LCR objetivó predominio de PMN en dos pacientes (9,5%) que muy probablemente correspondieron a fases iniciales de la infección aunque no se repitió la punción lumbar para demostrar el viraje linfocitario. Sin embargo, el resto de los datos citobioquímicos fueron característicos de meningitis vírica¹⁰.

Sólo recibieron antibioterapia el 9,5% de los pacientes (aquéllos que tenían predominio de PMN en LCR). Probablemente esta circunstancia, e identificar rápidamente el brote gracias a la determinación de PCR para EV, favorecieron esta actitud. La fiebre alta y la cefalea pueden comportar dudas acerca del nivel de vigilia del paciente en una primera valoración y barajarse la posibilidad de tratar una posible encefalitis a pesar de no existir factores aparentes de inmunosupresión, hecho que justificaría que dos pacientes recibiesen inicialmente tratamiento con aciclovir.

El diagnóstico mediante técnicas basadas en la PCR resulta útil, fiable y rápido (menos de 24 horas teniendo en cuenta que la técnica no se realizó en nuestro hospital) para obtener un diagnóstico precoz^{1,3,10,14-16}, y evitar estancias hospitalarias y tratamientos antibióticos prolongados y/o innecesarios. Los métodos de PCR han ido suplantando el aislamiento de virus en LCR^{2,3} que resulta más caro, laborioso, de menor sensibilidad, más tardío (7-10 días) y de menor rendimiento clínico. Finalmente, a pesar que la técnica se conoce y está estandarizada desde hace años, consideramos de interés poner de manifiesto su detección y manejo,

en especial en urgencias, que es donde los pacientes realizan el primer contacto y, en la mayoría de las ocasiones, donde se completa el diagnóstico e incluso, dada la benignidad del cuadro, se da de alta al paciente.

Bibliografía

- 1 Ramers C, Billman G, Hartin M, Ho S, Sawyer MH. Impacto of a Diagnostic Cerebrospinal Fluid Enterovirus Polymerase Chain Reaction Test on Patient Management. *JAMA*. 2000;283:2680-5.
- 2 Harley A, Rotbart MD. Viral Meningitis. *Sem Neurol*. 2000;20:277-92.
- 3 Rotbart HA. Viral meningitis and aseptic meningitis syndrome. In: Scheld WM, Whitley RJ, Durack DT. (Eds). *Infections of the central nervous system*. Filadelfia: Lippincott—Raven; 1997:23-46.
- 4 Tunkel AR, Scheld WM. Acute meningitis. En: Mandell G, Bennett J, Dolin R. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. Nueva York: Churchill Livingstone; 2000: pp. 959-89.
- 5 Maxson S, Jacobs RF. Viral meningitis. Tips to rapidly diagnose treatable causes. *Postgrad Med*. 1993;93:153-66.
- 6 Severien C, Heinz K, Schoenemann W. Marked pleocytosis and hypoglycorrachia in Coxsackie Meningitis. *Pediatr Infect Dis J*. 1994;13:322-3.
- 7 Trallero G, Casas I, Tenorio A, Echevarria KJE, Castellanos A, Lozano A, Breña PP. Enteroviruses in Spain: virological and epidemiological studies over 10 years (1988-97). *Epidemiol. Infect.* 2000;124:497-506.
- 8 Morens DM, Pallansch MA. Epidemiology. In: Rotbart H, ed. *Human Enterovirus Infections*. Washington: American Society of Microbiology; 1995: pp. 3-23.
- 9 Mowad M. Enteroviral Infections. December 20, 2002. (Consultado 1 Julio 2008). Disponible en: <http://www.Emedicine.com>.
- 10 Nigrovic L. What's new with enteroviral infections? *Curr Op Pediatr*. 2001;13:89-94.
- 11 Pallansch MA, Roos RP. Enteroviruses: polioviruses, coxsackieviruses, echoviruses, and newer enteroviruses. En: D. M. Knipe PMH, D. E. Griffin, R. A. Lamb, M. A. Martin, B. Roizman & S. E. Straus., ed. *Fields Virology*. 4th ed. Filadelfia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001: pp. 723-76.
- 12 Solomon T, How OM, Beasley D, Macpherson M. West Nile Encephalitis. *BMJ*. 2003;326:865-9.
- 13 Rotbart HA. Viral meningitis and the aseptic meningitis syndrome. En: Scheld WM, Whitley RJ, Durack DT, eds. *Infections of the Central Nervous System*, 2.^a ed. Filadelfia: Lippincott-Raven; 1997: p. 23-46.
- 14 Rotbart HA. Enteroviral infection of central nervous system. *Clin Infect Dis*. 1995;20:971-81.
- 15 Huang C, Chatterjee NK, Grady LJ. Diagnosis of viral infections of the central nervous system. *N Engl J Med*. 1999;340:483-4.
- 16 Kilpatrick DR, Nottay B, Yang CF. Group-specific identification of polioviruses by PCR using primers containing mixed-base or deoxyinosine residue at positions of codon degeneracy. *J Clin Microbiol*. 1996;34:2990-6.

Utility of enterovirus polymerase chain reaction testing in the diagnosis of aseptic meningitis: analysis of an outbreak with 17 confirmed cases

Daza López M, Cabot de Vega E, Casarramona Lobera F, Bassa Real J, Bigas Farreres J, Miret Mas C

Objective: To describe the use of enterovirus polymerase chain reaction (PCR) testing in the diagnosis of meningitis and discuss the therapeutic implications.

Methods: Retrospective, descriptive analysis of clinical and laboratory findings as well as the result of PCR analysis during an emergency department outbreak between June 28 and July 26, 2007.

Results: Twenty-one cases of aseptic meningitis were treated during the outbreak: 11 patients (52%) were men, the mean age was 22 years (range, 4-39 years), and all patients were immunocompetent. Seven were pediatric patients (mean age, 7 years; range, 4-10 years). Symptoms lasted 2 days on the average (4 days in adults). The main symptoms were headache (100%), fever (95%), vomiting (87%), and signs of meningeal infection (48%). The mean white blood cell count in whole blood was 9206/ μ L (range, 3180-15 000/ μ L) with a predominance of lymphocytes in 3 patients (14.2%). The mean white blood cell count in cerebrospinal fluid (CSF) was 144/mL; in 2 cases (9.5%) there was predominance of polynuclear cells. The mean glucose concentration in CSF was 58 mg/dL; the mean protein concentration was 50 mg/dL. PCR testing in CSF confirmed that 17 of the meningitis cases were due to enterovirus (81%). In 4 patients (19%), the enterovirus PCR was negative but the virus grew in CSF cultures. All patients were hospitalized (average stay, 3 days). Three patients (14%) initially received antibiotic and/or antiviral treatment. None developed complications or sequelae.

Conclusions: Enterovirus PCR testing facilitates the rapid, reliable diagnosis of meningitis. Empirical treatment with antibiotics and antiviral drugs can be avoided. Testing is an aid to optimal, safe use of health resources as unnecessary admissions and fruitless treatment are avoided. Our experience confirms the benign nature of this type of infection. [Emergencias 2010;22:199-202]

Key words: Viral meningitis. Enterovirus. Polymerase chain reaction. Outbreak.