

Métodos diagnósticos complementarios: ¿cuál es su utilidad clínica real en las encefalitis herpéticas?

J.A. Costa, F.J. Cambra, I. Jordán, C. Muñoz¹, A.M. Cueto, A. Palomeque, J. Campistol²
Servicio de Cuidados Intensivos Pediátricos. ¹Servicio de Microbiología. ²Servicio de Neuropediatría.
Unidad Integrada Hospital Sant Joan de Déu-Clínica. Universitat de Barcelona

Resumen

Objetivos: Caracterizar la forma de presentación clínica de la encefalitis herpética y comprobar la utilidad de las diferentes exploraciones complementarias en su manejo.

Material y métodos: Revisión retrospectiva de los casos de encefalitis herpética, diagnosticados mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) cuantitativa, que requirieron ingreso en unidades de cuidados intensivos pediátricos. Se recogieron datos acerca de la evolución clínica y la sensibilidad de los diferentes métodos diagnósticos complementarios. En 7 casos se reevaluó el líquido cefalorraquídeo (LCR) mediante cuantificación de ADN por PCR y se correlacionó la carga viral con los diferentes datos clínicos.

Resultados: En total se detectaron 16 casos. El rango de edad osciló entre los 19 días y los 12 años (edad media: 34 meses). La forma de presentación clínica fue indistinguible de la presentada por otras encefalitis, y predominó la existencia de fiebre (en un 81% de los casos), convulsiones (68%), vómitos (62%) y disminución del nivel de conciencia (50%). La sensibilidad de la neuroimagen y los estudios neurofisiológicos fue inferior al 80% (e inferior al 50% en las primeras 24 horas del cuadro). Observamos una excelente sensibilidad de la PCR cuantitativa en el diagnóstico y la detección de la carga viral. Se correlacionó positivamente de forma estadísticamente significativa la carga viral con la edad del paciente, el número de leucocitos en el LCR y el tiempo de evolución del cuadro. No hubo correlación entre la carga viral y el pronóstico de la enfermedad.

Conclusiones: Ni la presentación clínica, ni la neuroimagen ni los estudios neurofisiológicos disponen de una sensibilidad suficiente como para orientar el diagnóstico. Por el contrario, la PCR cuantitativa a tiempo real sí es sensible para el diagnóstico de la encefalitis herpética. No se ha correlacionado la carga viral con el pronóstico, aunque son necesarios más estudios para evaluar la utilidad clínica de esta técnica.

Palabras clave

Encefalitis herpética, niños, PCR cuantitativa, carga viral

Abstract

Title: Complementary diagnostic methods: which is their actual clinical utility in herpetic encephalitis?

Objectives: Depict the form of the clinical manifestation of the herpetic encephalitis and prove the utility of the different complementary explorations in its use.

Material and methods: Retrospective revision of the herpetic encephalitis cases diagnosed through quantitative PCR which required to be admitted in UCIP (Intensive Care and Pediatric Urgencies). There was a collection of data regarding the clinical evolution and the sensitivity of the different complementary diagnostic methods. In the 7 cases the LCR was reevaluated through DNA quantification by means of PCR and the viral load was correlated with the different clinical data.

Results: 16 cases altogether. Their ages ranged between 19 days and 12 years (mean age: 34 months). The clinical manifestation was undistinguishable of the presented by other encephalitis. Main symptoms were fever (81% of the cases), convulsions (68%), vomiting (62%) and diminished level of consciousness (50%). Imaging tests and neurophysiological studies sensitivity were less than 80% (being less than 50% in the first 24 hours since the symptoms onset). Quantitative PCR is the gold standard for the detection of viral load. Viral load was positively correlated with age, number of leukocytes in CSF and time since beginning of the clinical manifestation. There was no correlation between viral load and disease prognosis.

Conclusions: Neither the clinical presentation or neuroimaging or neurophysiological studies have enough sensitivity for helping diagnosis. On the contrary, we have found that real-time quantitative PCR is useful for the diagnosis of herpetic encephalitis. There was no association between viral load and illness prognosis. The viral load has not been correlated with the clinical picture. However, more studies are needed to evaluate the clinical utility of this technique.

Keywords

Herpetic encephalitis, children, quantitative PCR, viral load

Introducción

Los tipos 1 y 2 del virus del herpes simple (VHS) son los agentes causantes de la mayoría de las encefalitis agudas graves. Su incidencia actual en la población general es de alrededor de 2-4/1.000.000 habitantes al año^{1,2}, y un tercio de ellas se producen en pacientes menores de 20 años³.

A pesar de que la introducción del aciclovir ha reducido significativamente la mortalidad y las secuelas neurológicas atribuibles a esta entidad^{4,5}, éstas siguen siendo considerables¹. El pronóstico depende en gran medida de la precocidad en el inicio del tratamiento. Este hecho, junto con la inespecificidad de las manifestaciones clínicas, condiciona la necesidad de un método diagnóstico precoz y fiable. En los últimos años, la detección cualitativa de ADN para VHS mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en el líquido cefalorraquídeo (LCR), gracias a una sensibilidad y especificidad superior al 95%, se ha convertido en el método diagnóstico de elección⁶⁻¹⁴. Sin embargo, la utilidad clínica de la determinación de la carga viral mediante PCR cuantitativa a tiempo real aún está por determinar.

Realizamos una revisión retrospectiva, cuyo propósito fue caracterizar la forma de presentación clínica de la encefalitis herpética, estudiar la utilidad de los diferentes métodos diagnósticos y definir el papel de la detección cuantitativa de ADN para VHS mediante PCR en el diagnóstico y la caracterización de la encefalitis por VHS.

Material y métodos

Estudio retrospectivo de los casos de encefalitis herpética grave diagnosticados y tratados en la Unidad de Cuidados Intensivos Pediátricos del Hospital Sant Joan de Déu durante el periodo comprendido entre 1991 y 2003.

El diagnóstico de todos los casos se estableció a través de la detección de ADN para VHS en el LCR por hibridación colorimétrica mediante la utilización del equipo de PCR ELISA DIG detection® (Boehringer Mannheim), empleando la sonda biotinilada: 5'-GAGTTTGTCTCACCGCCGAAGTGGAGCAG. Ningún paciente recibió tratamiento con aciclovir previamente al estudio mediante PCR en el LCR.

Se recogieron datos acerca de la edad, la forma de presentación, la evolución clínica y la sensibilidad de los diferentes métodos diagnósticos complementarios (neuroimagen, electroencefalograma [EEG] y bioquímica del LCR). Se consideraron como datos sugestivos de encefalitis de etiología herpética en los estudios de neuroimagen y el EEG la existencia de lesiones focales temporales y/o temporofrontales. En especial, la existencia de descargas unilaterales o bilaterales periódicas o el enlentecimiento focal de predominio frontotemporal en el EEG, así como la presencia de lesiones de necrosis focal temporal en la resonancia magnética (RM).

En 7 casos se reevaluó el LCR mediante cuantificación de ADN por PCR. Para ello, se utilizó una PCR cuantitativa a tiempo

TABLA 1

Sensibilidad de los estudios de neuroimagen y EEG

	Primeras 24 h	Posterior a las primeras 24 h
Tomografía computarizada craneal	28% (3/11)	78% (7/9)
Resonancia magnética craneal	NR	78% (11/14)
EEG	50% (4/8)	70% (7/10)

EEG: electroencefalograma; NR: no realizado.

po real, desarrollada por nuestro servicio de microbiología, mediante una sonda fluorescente TapMan® y primers específicos para la detección del gen de la glucoproteína G y D en el VHS 1 y 2, respectivamente.

Resultados

En total se revisaron 16 casos diagnosticados de encefalitis herpética grave. Todos los casos, excepto uno en el periodo neonatal producido por el VHS 2, fueron secundarios al VHS 1. El rango de edad osciló entre los 19 días y los 12 años, con una edad media de 34 meses. Un 47% de los casos se dieron en pacientes menores de 1 año. No hubo diferencias en la incidencia por sexos.

El tiempo medio de evolución del cuadro desde el inicio hasta el ingreso fue de $3 \pm 2,1$ días. El cuadro clínico más frecuente consistió en fiebre (en un 81% de los casos), convulsiones (68%), vómitos (62%) y disminución del nivel de conciencia (50%); en éstos, la puntuación de Glasgow media fue de 11. Otros síntomas registrados fueron los siguientes: alteración del comportamiento (18%), focalidad neurológica (12%), hipocactividad (6%) y apneas (6%). Tan sólo en 2 casos (12%) se detectaron, en el momento del inicio o en los días previos, lesiones vesiculosas cutaneomucosas asociadas.

En cuanto a las exploraciones complementarias, la bioquímica y la citología del LCR realizado al ingreso fue normal en el 25% de los casos. Sin embargo, transcurridas 48 horas desde el inicio de la sintomatología, todos los análisis de LCR practicados pusieron de manifiesto alteraciones en la bioquímica y la citología. En los casos en que la bioquímica y/o la citología resultó patológica, los hallazgos fueron inespecíficos: leucorraquia media 136 ± 170 /mL (polimorfonucleares $34 \pm 20\%$, mononucleares $66 \pm 20\%$), glucoorraquia media $67,7 \pm 14$ mg/dL (normal) y proteinorraquia media 67 ± 61 (discreta elevación). En el 47% de los casos se detectó hiperproteinorraquia; no se detectó hipoglucoorraquia.

En la tabla 1 se detalla la sensibilidad de las técnicas de neuroimagen y del EEG para mostrar datos sugestivos de VHS. Como podemos observar, la sensibilidad aumenta considerablemente una vez transcurridas las primeras 24 horas. Los hallazgos más frecuentemente encontrados en las técnicas de neuroimagen fueron el edema y la necrosis de las áreas temporales.

En todos los casos se inició aciclovir i.v. en dosis de 20 mg/kg/8 h, una vez se obtuvo la muestra de LCR. El tratamiento se mantuvo durante 21 días.

La gravedad del cuadro queda reflejada en la morbimortalidad: mortalidad del 12% y tasa de secuelas al alta del 81% (un 56% de deterioro cognitivo, un 43% de alteraciones motoras, un 43% de casos de epilepsia y un 37% de alteraciones neurosensoriales). La gravedad no mostró diferencias significativas según la edad. Se detectó un caso de recidiva transcurridos 5 días de la finalización del tratamiento con aciclovir i.v. en dosis correctas durante 21 días. En este caso se reinició una pauta de 21 días de aciclovir i.v., con buena respuesta clínica.

Se realizó de forma retrospectiva la cuantificación del ADN para VHS por PCR en muestras de LCR guardadas de 7 de estos pacientes. En todos los casos fue positiva, con un rango de carga viral de 3.229 a >1.5000.000. La carga viral en el LCR se correlacionó positivamente con la edad del paciente ($p < 0,05$), la presencia de más de 100 leucocitos en el LCR ($p = 0,02$) y el tiempo de evolución del cuadro ($p < 0,05$). Respecto a este último comentario, la carga viral media fue de 15.107 copias si el estudio se había realizado en las primeras 24 horas y de 7.750.000 copias si se realizó tras 5 días del inicio del cuadro clínico ($p = 0,01$). No pudimos evidenciar una asociación estadística entre la carga viral y el grado de depresión de conciencia (valorado por la puntuación de Glasgow adaptada a la edad pediátrica). Tampoco hubo correlación entre la carga viral y el pronóstico de la enfermedad valorado por la existencia de mortalidad y secuelas.

Discusión

Tras la introducción del aciclovir en el manejo terapéutico de las encefalitis herpéticas se ha producido un descenso de la mortalidad, del 70% en los casos no tratados y del 19% en los casos tratados con aciclovir³. Este beneficio es tanto mayor cuanto más precoz sea su inicio¹⁵⁻¹⁷. Pero, como hemos corroborado en nuestro estudio, las manifestaciones clínicas y las alteraciones detectadas en el análisis bioquímico del LCR en los casos de encefalitis herpética son totalmente indistinguibles de las halladas en las encefalitis no herpéticas. Ese hecho condiciona la necesidad de emplear un método diagnóstico precoz y altamente sensible. Dentro de las exploraciones complementarias realizadas en el ámbito clínico en el manejo de las encefalitis se encuentran las técnicas de neuroimagen y neurofisiología³. Sin embargo, a tenor de nuestros resultados, ni los métodos de neuroimagen ni el EEG presentan una sensibilidad suficientes como para orientar la etiología, especialmente durante las primeras 24 horas tras el inicio del cuadro clínico. Son especialmente llamativos los datos referentes a la sensibilidad de la RM cerebral. Pese a que diferentes autores señalan una buena sensibilidad de esta técnica, incluso en etapas incipientes¹⁸, en nuestra serie su sensibilidad no ha superado el 80% una vez transcurridas las primeras 24 horas del inicio del cuadro.

Sí pudimos constatar una excelente sensibilidad de la PCR cuantitativa para el diagnóstico y el seguimiento de la carga viral. Esta capacidad puede tener, en un futuro, una gran utilidad en el manejo de las encefalitis herpéticas¹⁹. Aunque no disponemos de datos al respecto, tal vez el seguimiento de la carga viral en el LCR en el caso que recidivó hubiese indicado la necesidad de prolongar o modificar la pauta terapéutica. De ser así, debería plantearse la inclusión en la práctica habitual de la medición de la carga viral en el LCR antes de la retirada del tratamiento.

Encontramos una correlación positiva entre el número de leucocitos y la carga viral en el LCR; este hecho justifica que la sensibilidad de la PCR en el LCR para el VHS es mayor cuanto mayor es la leucocitosis en el LCR, como ya se ha descrito²⁰. En contra de lo referido por otros autores²¹⁻²³, no pudimos demostrar una correlación entre la carga viral y el pronóstico del cuadro; sin embargo, entendemos que nuestro contingente es reducido y son necesarios más estudios para evaluar este hecho. La ausencia de correlación entre la carga viral y el pronóstico de la enfermedad podría indicarnos que la magnitud de las lesiones no sólo depende de la carga viral, sino también de la propia reacción inflamatoria secundaria a la infección.

A pesar del tratamiento, la morbimortalidad detectada en nuestra serie y otras³ sigue siendo considerable. Este hecho obliga a seguir investigando en el manejo de estos pacientes.

Como conclusiones finales, cabe comentar que ni la presentación clínica, ni la neuroimagen ni los estudios neurofisiológicos disponen de una sensibilidad suficiente como para orientar el diagnóstico; especialmente en los momentos iniciales del cuadro. Por ello, ante la sospecha de encefalitis, aun sin filiar la etiología, debe iniciarse tratamiento con aciclovir. Por el contrario, la PCR cuantitativa a tiempo real sí ha demostrado ser sensible en el diagnóstico de la encefalitis herpética. No se ha correlacionado la carga viral con el pronóstico, aunque son necesarios más estudios para evaluar el potencial de esta técnica. ■

Bibliografía

1. Scarpelli A. Infecciones del SNC. Revisión del Grupo de Microbiología del Instituto Carlos III (Majadahonda). En: Nogales A, director. Monografías de Pediatría. 1997: 1-5.
2. Lahat E, Barr J, Barkai G, Paret G, Brand N and Barzilai A. Long-term neurological outcome of herpes encephalitis. Arch Dis Child. 1999; 80: 69-77.
3. Whitley RJ, Kimberlin DW. Herpes simplex encephalitis: children and adolescents. Semin Pediatr Infect Dis. 2005; 16(1): 17-22.
4. Whitley RJ, Alford CA, Hirsch MS, Schooley RT, Luby JP, Aoki FY, et al. Vidarabine versus acyclovir therapy in herpes simplex encephalitis. N Engl J Med. 1986; 314: 144-149.
5. Gnann JW, Barton NH, Whitley RJ. Acyclovir: developmental aspects and clinical applications. Evaluations of new drugs. Pharmacotherapy. 1983; 3: 275-283.
6. Rowley A, Whitley R, Lakeman FD, Wolinsky SM. Rapid detection of herpes simplex virus DNA in cerebrospinal fluid of patients with herpes simplex encephalitis. Lancet. 1990; 335: 440-441.

7. Aurelius E, Johansson B, Skoldenberg B, Staland A, Forsgren M. Rapid diagnosis of herpes simplex encephalitis by nested polymerase chain reaction assay of cerebrospinal fluid. *Lancet*. 1991; 337: 189-192.
8. Aurelius E, Johansson B, Skoldenberg B, Forsgren M. Encephalitis in immunocompetent patients due to herpes simplex virus type 1 or 2 as determined by type-specific polymerase chain reaction and antibody assays of cerebrospinal fluid. *J Med Virol*. 1993; 39: 179-186.
9. Puchhammer-Stockl E, Heinz FX, Kundi M, Popou-Kraupp T, Grimm G, Millner MM, et al. Evaluation of the polymerase chain reaction for diagnosis of herpes simplex virus encephalitis. *J Clin Microbiol*. 1993; 31: 146-148.
10. Shoji H, Koga M, Kusuhara T, Kaji M, Ayabe M, Hino H, et al. Differentiation of herpes simplex virus 1 and 2 in cerebrospinal fluid of patients with HSV encephalitis and meningitis by stringent hybridization of PCR-amplified DNAs. *J Neurol*. 1994; 241: 526-530.
11. Sakrauski A, Weber B, Kessler HH, Pierer K, Doerr HW. Comparison of two hybridization assays for the rapid detection of PCR amplified HSV genome sequences from cerebrospinal fluid. *J Virol Methods*. 1994; 50: 175-184.
12. Lakeman FD, Whitley RJ. Diagnosis of herpes simplex encephalitis: application of polymerase chain reaction to cerebrospinal fluid from brain biopsied patients and correlation with disease. *J Infect Dis*. 1995; 172: 857-863.
13. DeBiasi RL, Tyler KL. Polymerase chain reaction in the diagnosis and management of central nervous system infections. *Arch Neurol*. 1999; 56: 1.215-1.219.
14. Fodor PA, Levin MJ, Weinberg A, Sandberg E, Sylman J, Tyler KL. Atypical herpes simplex virus encephalitis diagnosed by PCR amplification of viral DNA from CSF. *Neurology*. 1998; 51: 554-559.
15. Muñoz-Almagro C, González-Cuevas A, Cambra FJ, Juncosa T, Mira A, Latorre C. Diagnóstico rápido de la meningoencefalitis herpética mediante PCR. *Microbiol Clin*. 2002; 20(3): 110-112.
16. Malm G, Forsgren M. Neonatal herpes simplex virus infections: HSV DNA in cerebrospinal fluid and serum. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 1999; 81: 24F-29F.
17. Whitley R, Arvin A, Prober C, Burchett S, Corey L, Powell D, et al. Predictors of morbidity and mortality in neonates with herpes simplex virus infections. *N Engl J Med*. 1991; 324: 450-454.
18. Schlesinger Y, Buller RS, Brunstrom JE, Moran CJ, Storch GA. Expanded spectrum of herpes simplex encephalitis in childhood. *J Pediatr*. 1995; 126: 234-241.
19. Muñoz-Almagro C, Jordan I, Cambra FJ, Esteban E, Urrea M, García-García JJ, et al. Quantitative real-time PCR in paediatric patients with herpes simplex infections of the central nervous system. *J Virol Methods*. 2007; 147(2): 297-300.
20. De Tiege X, Heron B, Lebon P, Ponsot G, Rozenberg F. Limits of early diagnosis of herpes simplex encephalitis in children: a retrospective study of 38 cases. *Clin Infect Dis*. 2003; 36(10): 1.335-1.339.
21. Domingues RB, Fink MC, Tsanaclis AM, De Castro CC, Cerri GG, Mayo MS, et al. Diagnosis of herpes simplex encephalitis by magnetic resonance imaging and polymerase chain reaction assay of cerebrospinal fluid. *J Neurol Sci*. 1998; 157: 148-153.
22. Domingues RB, Lakeman FD, Mayo MS, Whitley RJ. Application of competitive PCR to cerebrospinal fluid samples from patients with herpes simplex encephalitis. *J Clin Microbiol*. 1998; 36: 2.229-2.234.
23. Domingues RB, Lakeman FD, Pannuti CS, Fink MC, Tsanaclis AM. Advantage of polymerase chain reaction in the diagnosis of herpes simplex encephalitis: presentation of 5 atypical cases. *Scand J Infect Dis*. 1997; 29: 229-231.