

ARTÍCULO ORIGINAL

Incidencia de los agentes virales en líquido cefalorraquídeo. Experiencia de un año

Incidence of viral agents in cerebrospinal liquid. One-year experience.

Hasta, Nicolás Agustín^{1*}; Avellaneda, Micaela²

¹Laboratorio de Biología Molecular, Hospital Interzonal de Agudos Dr. D Paroissien

²Laboratorio central, Hospital de Agudos Especializado en Pediatría Sor María Ludovica

*Contacto: Hasta, Nicolás Agustín. Laboratorio de Biología Molecular, Hospital Interzonal General de Agudos Dr. D Paroissien, Isidro Casanova, Buenos Aires, Argentina, Av. Brigadier General Juan Manuel de Rosas 6000; nico.hasta@gmail.com

Resumen

Introducción: Más de 100 virus causan encefalitis por vía hematogena y/o traumática. La incidencia aumenta con el tratamiento con inmunosupresores y la mayor supervivencia de pacientes con el virus de la inmunodeficiencia adquirida (HIV). Los síntomas incluyen fiebre, cambios en la conciencia y convulsiones. El diagnóstico se realiza mediante biología molecular y neuroimagen. **Objetivos:** Evaluar la incidencia de infecciones virales del sistema nervioso central (SNC) mediante muestras de líquido cefalorraquídeo (LCR) y analizar la relación del estado inmune y la positividad viral. **Materiales y métodos:** Se llevó a cabo un análisis retrospectivo, descriptivo en muestras de LCR de 71 pacientes con sospecha de encefalitis/meningoencefalitis viral. Se utilizó RT-qPCR (Cobas Z480 Roche) y se evaluó estadísticamente con SPSS 27.0. **Resultados:** 15 muestras positivas para los virus estudiados: virus herpes *simplex* 1 (HSV-1), 1,5%; virus herpes *simplex* 2 (HSV-2), 1,5%; virus de varicela - zóster (VZV), 0%; enterovirus humanos no polio (hEV), 1,47%; citomegalovirus (CMV), 7,7%; virus Epstein-Barr (EBV), 23,1%. Un 36,6% (26/71) de los pacientes era inmunocompetente y 63,3% (45/71), inmunosuprimido (32 HIV, 11 recién nacidos, 2 con tratamiento inmunosupresor). Mediante el test de Fisher, se analizó la asociación entre el estado inmunológico del paciente y cada virus, y se encontró asociación para CMV (p-valor 0,400), EBV (p-valor 0,316), pero no así para HSV-1 HSV-2 (p-valor 0,621) y hEV (0,647) **Discusión:** Se halló 21,1% de positividad, porcentaje similar a Argentina y Brasil, menor que en Suiza (44,18%). La variabilidad destaca la importancia de considerar la población y el entorno. Debido al limitado número de muestras positivas, se requiere realizar más investigaciones para corroborar la hipótesis.

Palabras clave: incidencia, inmunosupresión, HSV-1, HSV-2, VZV, hEV, CMV, EBV.

Abstract

Background. Hematogenous and/or traumatic encephalitis is caused by more than 100 viruses. The incidence increases with treatment with immunosuppressants and the increased survival of patients with the acquired immunodeficiency virus (HIV). Symptoms include fever, changes in consciousness, and seizures. The diagnosis is made by molecular biology and neuroimaging. **Objectives:** To evaluate the incidence of viral infections of the central nervous system through samples of cerebrospinal fluid (CSF) and to analyze the relationship between the immune status and viral positivity. **Materials and methods:** Retrospective descriptive analysis of CSF samples from 71 patients with suspected viral encephalitis/meningoencephalitis. RTqPCR (Cobas Z480 Roche) was used and statistically evaluated with SPSS 27.0. **Results:** Fifteen samples were positive for the viruses studied: Herpes simplex virus 1 (HSV-1): 1.52%, herpes simplex virus 2 (HSV-2): 1.52%, Varicella Zoster Virus (VZV): 0%, non-polio human enterovirus (hEV): 1.47%, Cytomegalovirus (CMV): 7.69%, and Epstein-Barr virus (EBV): 23.1%. About 36.6% of the patients (26/71) were immunocompetent and 63.3% (45/71) were immunosuppressed (32 HIV, 11 new-borns, 2 with immunosuppressive treatment). The association between the patient's immune status and each virus was analyzed using Fisher's test. An association was found for CMV (p-value 0.400), EBV (p-value 0.316), but not for HSV-1, HSV-2 (p-value 0.621) or hEV [0.647]. **Discussion:** Results showed 21.1% positivity, similar to that previously found in Argentina and Brazil, but lower than that found in Switzerland (44.18%). The variability highlights the importance of considering the population and the environment. Due to the limited number of positive samples, further investigation is required to corroborate the hypothesis.

Key words: Incidence, Immunosuppression, HSV-1, HSV-2, VZV, hEV, CMV, EBV.

Introducción

Existen más de 100 virus pertenecientes a diversas familias que pueden ocasionar encefalitis / meningoencefalitis en los seres humanos. Afortunadamente, la encefalitis es una complicación poco frecuente de las enfermedades virales, que, en su mayoría, son benignas.

La patogenia en la infección viral se produce de dos formas distintas: por acción viral aguda primaria, que tiene lugar cuando el virus invade y se replica en el cerebro; y por la encefalitis posinfecciosa, que se considera una consecuencia de la respuesta inmunitaria anormal a la infección, ya que no se detectan componentes virales en el cerebro^{1,2}.

Los virus utilizan dos vías principales para llegar al cerebro. En la encefalitis viral aguda primaria, el ingreso de los virus al sistema nervioso central (SNC) se produce mayormente por diseminación hematógena. Los monocitos infectados atraviesan el endotelio del plexo coroideo y llegan al epitelio coroideo. Allí, la replicación viral conduce a la liberación de partículas infecciosas en el líquido cefalorraquídeo (LCR) y a la diseminación a través de las vías ventriculares^{1,2}.

La incidencia anual de encefalitis es de 5 a 10 casos por cada 100.000 habitantes, y puede duplicarse en los menores de un año. En los últimos años, la etiología de la encefalitis ha experimentado cambios en los países desarrollados debido a los programas de vacunación universal, que han logrado erradicar causas comunes de encefalitis como la polio, la rubéola, el sarampión y la parotiditis. A pesar de estos avances, la incidencia de la enfermedad se ha mantenido constante, ya que otros virus emergentes han ocupado su lugar, como el virus de varicela - zóster (VZV), los virus herpes simplex 1 y 2 (HSV-1, HSV-2) y los enterovirus humanos no polio (hEV). Además, esta incidencia puede variar aún más según la ubicación geográfica y la estación del año, sumándose a ello los arbovirus, el virus del Nilo Occidental, el virus de la encefalitis equina, los virus respiratorios y los adenovirus^{1,6}. En los últimos años, la incidencia de encefalitis ha experimentado un aumento significativo, relacionado con el uso de tratamientos de inmunosupresores de manera crónica y el aumento de la supervivencia de pacientes oncológicos. Además, se ha observado una mayor supervivencia en pacientes con VIH gracias a los avances en los tratamientos antirretrovirales.

Los signos y síntomas que presenta el paciente dependen de la gravedad y localización del proceso inflamatorio en curso. La mayoría de las encefalitis virales se caracterizan por un desarrollo agudo con presencia de fiebre, alteraciones variables de la conciencia como confusión, letargo e incluso coma. También pueden aparecer convulsiones focales o generalizadas y signos neurológicos focales^{2,5}

Los pacientes que sufren de encefalitis a menudo requieren cuidados intensivos para garantizar una adecuada oxigenación, protección de las vías respiratorias y estabilidad hemodinámica. Además, es necesario proporcionar terapia dirigida a los efectos directos de la inflamación cerebral, como el edema cerebral, el aumento de la presión intracra-

neal o las convulsiones generalizadas. En cuanto al tratamiento específico, se recomienda de manera estricta el uso de aciclovir en el caso de encefalitis causada por HSV. Por otro lado, existen dos guías que sugieren el uso de ganciclovir o foscarnet en casos de encefalitis causada por CMV y HHV-6, aunque la evidencia, en este caso, es de calidad moderada y se basa en la opinión de expertos. En el caso de la encefalitis causada por EBV o VZV, no hay un tratamiento específico y no existe evidencia sólida que respalde el uso de glucocorticoides como terapia adyuvante^{3,4}.

El diagnóstico específico de la encefalitis, generalmente, se basa en la punción lumbar. Además, el electroencefalograma y las imágenes neurológicas juegan un papel importante en el proceso diagnóstico⁵.

En el caso de pacientes inmunocompetentes con encefalopatía aguda, se realizan determinaciones virológicas de rutina, como la PCR y la RT-PCR, para detectar la presencia de virus como el HSV-1, HSV-2, VZV y los enterovirus (hEV). Si estos análisis no logran establecer un diagnóstico definitivo, se pueden realizar pruebas adicionales para detectar otros virus, como CMV, EBV, HHV-6, HHV-7 y HIV. La detección de la presencia de anticuerpos IgM en el líquido cefalorraquídeo puede ser útil para diagnosticar la encefalitis causada por arbovirus, VZV, EBV y sarampión. Por otro lado, la realización de la RT-PCR en muestras obtenidas de la garganta y la nasofaringe puede ayudar a establecer el diagnóstico de infecciones por adenovirus, influenza o sarampión. Además, la detección de la presencia del virus en las heces puede ser útil para diagnosticar una infección por enterovirus⁴.

El objetivo de este estudio fue evaluar la incidencia de los agentes virales en muestras clínicas de líquido cefalorraquídeo obtenidas de pacientes con sospecha clínica de meningoencefalitis que concurrieron al hospital durante el año 2022, y, además, evaluar la existencia y determinar el grado de asociación entre el estado inmune de los pacientes y la proporción de positivos de los agentes virales presentes en las muestras.

Materiales y Métodos

Se realizó un análisis retrospectivo, descriptivo utilizando muestras de líquido cefalorraquídeo de pacientes que concurrieron al nosocomio con síntomas de infección en el SNC durante el período de enero a diciembre de 2022. En total, se examinaron 71 pacientes con sospecha de encefalitis/meningoencefalitis viral. Para extraer el material genético, se usó el kit de extracción viral MagCore, utilizando el equipamiento MagCore® **Automated Nucleic Acid Extractor Plus II** de Bioars. La amplificación del material se llevó a cabo mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT- qPCR/qPCR) utilizando el equipo automatizado Cobas Z480 de Roche. Se utilizaron los reactivos Elitech MGB Kit (HSV 1 y 2, CMV, EBV, VZV) y TiomolBiol para hEV. Todos los procedimientos se llevaron a cabo siguiendo rigurosamente las recomendaciones del fabricante. Para analizar las posibles asociaciones entre

Tabla I. Pacientes detectados/no detectados según estado inmunológico.

No		Inmunodepresión		Total analizado No	Inmunodepresión %		Porcentaje de positividad
		Si			Si		
HSV-1	No detectable	25	40	66	37,88%	60,61%	1,52%
	Detectable	0	1		0,00%	1,52%	
HSV-2	No detectable	25	40	66	37,88%	60,61%	1,52%
	Detectable	0	1		0,00%	1,52%	
VZV	No detectable	15	30	45	33,33%	66,67%	0,00%
	Detectable	0	0		0,00%	0,00%	
No		Inmunodepresión		No	Inmunodepresión %		Porcentaje de positividad
		Si			Si		
CMV	No detectable	10	26	39	25,6%	66,67%	7,69%
	Detectable	0	3		0,00%	7,69%	
EBV	No detectable	8	22	39	20,5%	56,41%	23,08%
	Detectable	1	8		2,56%	20,51%	
hEV	No detectable	24	43	68	35,3%	63,24%	1,47%
	Detectable	0	1		0,00%	1,47%	

► HSV-1, virus herpes simplex-1; HSV-2, virus herpes simplex-2; VZV, virus de varicela - zóster; CMV, citomegalovirus; EBV, virus Epstein-Barr; hEV, enterovirus humano.

variables, se emplearon técnicas estadísticas utilizando el programa SPSS 27.0. Se realizaron estudios de frecuencia y pruebas de asociación de variables categóricas mediante el test de Fisher. Además, se analizó la fuerza de asociación con coeficientes phi y V de Cramer.

Resultados

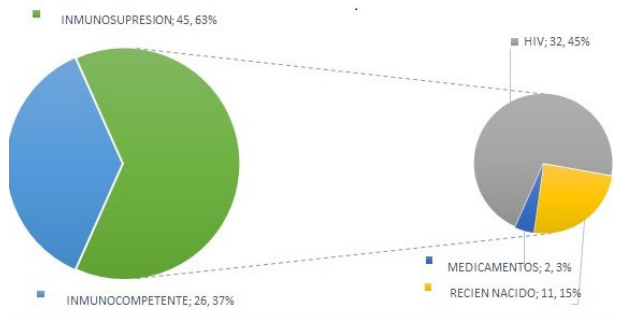
Se analizaron 71 muestras de LCR de pacientes con sospecha de encefalitis/meningoencefalitis viral. Éstas muestras correspondieron a 37 hombres y 34 mujeres. El rango etario de los pacientes analizados fue de 0 a 89 años con una mediana de 36 años. La población de mayor frecuencia fue la de recién nacidos, con 12 muestras. La mediana fue de 36 años con el percentilo 25 en 15 años y el percentilo 75 en 53 años. Durante el estudio, se detectó la presencia de virus en 15 de las muestras analizadas. No todas las muestras fueron analizadas para todos los virus debido a la existencia de patógenos primarios (HSV-1; HSV-2; hEV, VZV) y patógenos secundarios (EBV y CMV) de acuerdo con el algoritmo planteado en el estudio de KL, Tyler⁴. Los resultados obtenidos indicaron una baja tasa de positividad [muestras con resultado detectable para determinado agente viral / muestras analizadas para ese agente viral] de los virus HSV-1, HSV-2, VZV y hEV, con tasas de positividad del 1,52% para HSV-1 y HSV-2, 0% para VZV y 1,47% para hEV. Sin embargo, se encontró una mayor positividad en las muestras para los virus CMV y EBV, con tasas de positividad del 7,69% y 23,08%, respectivamente [Tabla 1].

Al examinar la distribución de los pacientes según su estado inmunológico, se demostró que el 63% de los casos

presentaba algún nivel de inmunosupresión, con una mayoría de ese porcentual con VIH (45%) (Figura 1).

Se utilizó el programa estadístico SPSS STATISTICS 27.0 para evaluar la asociación entre el estado inmunológico de los pacientes y cada virus en estudio. Se aplicó la prueba exacta de Fisher, y se evaluó la fuerza de dicha asociación mediante los coeficientes phi y V de Cramer. Los resultados indicaron una asociación significativa entre el estado inmunológico y los virus CMV (p-valor: 0,400, : 0,170) y EBV (p-valor: 0,316, : 0,156). Sin embargo, no se encontró una asociación estadísticamente significativa para los virus HSV-1 y HSV-2 (p-valor: 0,621) ni para el virus hEV (p-valor: 0,554) [Tabla II].

Figura 1. Distribución de los pacientes según su estado inmunológico.



Discusión

En comparación con otros estudios anteriores, este estu-

Tabla II. Prueba de Fisher y fuerza de asociación .

No		Inmunodepresión		Total	Test de Fisher	Hipótesis nula	Asociación
		Si					
HSV-1	No detectable	25	40	65	0,621	Acepto	0,097
	Detectable	0	1	1			
HSV-2	No detectable	25	40	65	0,621	Acepto	0,097
	Detectable	0	1	1			
VZV	No detectable	15	30	45			
	Detectable	0	0	0			
No		Inmunodepresión		Total	Test de Fisher	Hipótesis nula	Asociacion
		Si					
CMV	No detectable	10	26	36	0,400	Rechazo	0,17
	Detectable	0	3	3			
EBV	No detectable	8	22	30	0,316	Rechazo	0,156
	Detectable	1	8	9			
hEV	No detectable	24	43	67	0,647	Acepto	0,097
	Detectable	0	1	1			

► phi / V de Cramer HSV-1, virus herpes simplex-1; HSV-2, virus herpes simplex-2; VZV, virus de varicela - zóster; CMV, citomegalovirus; EBV, Virus Epstein-Barr; hEV, enterovirus humano.

dio mostró un porcentaje de muestras positivas del 21,1%, inferior al informado por A. Ungureanu en Suiza [44,18%]. En ese estudio, el virus más frecuentemente aislado fue el **Tick-borne Encephalitis Virus**, transmitido por garrapatas. En Brasil, LL. León encontró una incidencia del 35%, siendo los virus del dengue y zika los más comunes. Por otro lado, en Venezuela, Zambrano y colaboradores detectaron una positividad del 28,8% en 322 pacientes estudiados. La variabilidad en la incidencia resalta la importancia de conocer la población en estudio, así como la epidemiología y el estado sanitario de cada región. En un estudio realizado por SP Di Bella, donde se analizan solamente los mismos virus que en nuestro estudio, se obtuvo una incidencia del 26%, similar a nuestros resultados^{6,7 8 9}.

Al comparar específicamente los virus estudiados, todos los trabajos presentan una incidencia similar, en línea con el algoritmo diagnóstico planteado por Tyler KL, donde se detectan inicialmente HSV-1, HSV-2, hEV y VZV, y, si estos son negativos, se procede a analizar CMV y EBV⁴ de modo de confirmar que el algoritmo de trabajo seleccionado es el correcto.

Nuestro estudio reveló que el estado inmunológico no afecta la detección de HSV-1, HSV-2, hEV y VZV, pero existe una asociación entre el estado inmunológico y CMV y EBV. Es importante destacar que el nivel de asociación es bajo (: 0,17 y : 0,156), pero esto no descarta su existencia. Esta conexión más débil puede atribuirse al bajo número de muestras positivas en nuestro estudio, lo que destaca la necesidad de investigaciones adicionales para confirmar las hipótesis planteadas.

Conclusión

El análisis de las muestras de líquido cefalorraquídeo reveló en general una baja incidencia de los virus HSV-1, HSV-2, VZV y hEV, mientras que se encontró una mayor positividad para los virus CMV y EBV. Además, se demostró una alta proporción de pacientes con algún nivel de inmunosupresión, de los cuales los pacientes con VIH fueron la mayoría. Los resultados de las pruebas estadísticas indicaron una asociación significativa entre el estado inmunológico y los virus CMV y EBV. Sin embargo, no se encontraron asociaciones significativas para los virus HSV-1, HSV-2 y hEV.

Este estudio proporciona información relevante sobre la incidencia de infecciones virales en el sistema nervioso central y su relación con el estado inmunológico de los pacientes. Los resultados resaltan la importancia de considerar tanto factores epidemiológicos (virus neurotrópicos sumados a virus circulantes en la región que, potencialmente, pueden afectar el sistema nervioso central) como factores individuales (según nuestro estudio es de suma importancia conocer el estado inmunológico) para analizar y correlacionar correctamente los resultados.

Es necesario realizar futuras investigaciones ampliando el número de pacientes analizados para obtener conclusiones más sólidas y robustas.

Agradecimientos

Expresamos un sincero agradecimiento a las integrantes del personal técnico del laboratorio de Biología Molecular,

Brenda Cisterna y Vanina Ghirardi, por su constante disposición para abordar nuevos proyectos y su apoyo continuo.

Conflictos de interés

Los autores declaran no poseer conflictos de interés.

Referencias Bibliográficas

1. Téllez de Meneses M, Vila MT, Barbero Aguirre P, Montoya JF. Encefalitis virales en la infancia. *Medicina*. 2013; 73(suppl 1):83-92, <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24072056/>
2. Costa BKD, Sato DK. Viral encephalitis: a practical review on diagnostic approach and treatment. *J Pediatr (Rio J)*. 2020; 96 (Suppl 1):12-19, <https://doi.org/10.1016/j.jped.2019.07.006>
3. Venkatesan A, Murphy OC. Viral encephalitis. *Neurol Clin*. 2018; 36(4):705-724, <https://doi.org/10.1016/j.ncl.2018.07.001>
4. Tyler KL. Acute viral encephalitis. *N Engl J Med*. 2018; 379(6):557-566, <https://doi.org/10.1056/nejmra1708714>
5. Marí JMN, Ruiz MP, Anza DV. Diagnóstico de laboratorio de las meningitis infecciosas. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2010; 28(Suppl1):56-61, <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/ibc-179480>
6. Ungureanu A, van der Meer J, Bivic A, Abbuehl L, Chiffi G, Jaques L, et al. Meningitis, meningoencephalitis and encephalitis in Bern: an observational study of 258 patients. *BMC Neurol*. 2021; 21(1):474-485, <https://doi.org/10.1186/s12883-021-02502-3>
7. Leon LL, Lima RG de, Boffi LC, Bindilatti RN, Garlipp CR, Costa SCB, et al. Arbovirus, herpesvirus, and enterovirus associated with neurological syndromes in adult patients of a university hospital, 2017-2018. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2021; 54-64, <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0127-2021>
8. Di Bella S P, Gattelli A, Insaugarat V, Ercole R. Prevalencia de los agentes virales detectados en líquido cefalorraquídeo de pacientes con sospecha de infecciones en sistema nervioso central. *Infectologia.info*. Disponible en: <https://infectologia.info/abstracts/prevalencia-de-los-agentes-virales-detectados-en-liquido-cefalorraquideo-de-pacientes-con-sospecha-de-infecciones-en-sistema-nervioso-central/>
9. Zambrano Y, Chiarello A, Soca A, Villalobos I, Marrero M, Soler M, et al. Utilización de la Reacción en Cadena de la Polimerasa para el diagnóstico de infecciones del Sistema Nervioso Central. *Invest Clin*. 2006;47(4):337-347, https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0535-51332006000400003



Esta obra está bajo la licencia Creative Commons Atribución -No Comercial - Compartir Igual 4.0 Internacional - Permite compartir (copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato) y adaptar (remezclar, transformar y crear, a partir del material, otra obra) siempre que: se cite la autoría y la fuente original de su publicación (revista, editorial y URL de la obra), no sean utilizados para fines comerciales y que se respeten los mismos términos de la licencia.