



Encefalitis herpética neonatal: valor de la clínica *versus* la biología molecular

Giannina Izquierdo, José Cofré, J. Pablo Torres, Gerardo Venegas, Alejandra Vergara y Mauricio Farfán

Universidad de Chile, Santiago.

Facultad de Medicina,
Programa de Formación en
Infectología Pediátrica (GI).
Departamento de Pediatría y Cirugía
Infantil, Campus Oriente, Hospital
Dr. Luis Calvo Mackenna
Centro de Estudios Moleculares
(AV, MF).

Hospital Dr. Luis Calvo
Mackenna, Santiago, Chile.
Unidad de Infectología Pediátrica
(JC, JPT).
Unidad de Neonatología (GV).

Recibido: 8 de noviembre de 2011

Aceptado: 17 de mayo de 2012

Correspondencia a:

Giannina Izquierdo Copiz
gianninai@yahoo.es

Neonatal herpes simplex encephalitis: clinical profile *versus* molecular biology

Herpes simplex encephalitis is a diagnostic challenge and causes high morbidity and mortality in children. Early suspicion of the disease and a rapid, safe and useful diagnostic test are relevant because up to 70% of the cases may die. We report the case of a newborn girl aged 25 days, who presented with a clinical picture that was compatible with herpes simplex encephalitis where the confirmation of the etiological diagnosis was delayed. Only by repeated real-time polymerase chain reaction it was possible to confirm the presence of herpes simplex virus type 1 in the cerebrospinal fluid.

Key words: Herpes simplex encephalitis, newborn, diagnosis, polymerase chain reaction.

Palabras clave: Encefalitis herpética, neonato, diagnóstico, reacción de polimerasa en cadena.

Introducción

La infección por virus herpes simplex (VHS) en recién nacidos es poco frecuente, describiéndose un caso por 3.200 recién nacidos vivos¹; clásicamente 75% de los casos corresponde a VHS tipo 2 y el principal mecanismo de contagio es perinatal (85%)^{2,3}.

El compromiso del sistema nervioso central (SNC) por VHS causa una significativa mortalidad y secuelas a largo plazo⁴; en aproximadamente 30% de los casos encierra dificultades diagnósticas, ya que en el neonato los síntomas son inespecíficos y el líquido cefalorraquídeo (LCR) obtenido en etapas precoces puede resultar normal o con mínimos cambios inflamatorios. Es por este motivo, que para el diagnóstico de esta afección se requiere de una sospecha clínica precoz y de una prueba diagnóstica útil, rápida y segura. Sin tratamiento oportuno y adecuado, fallecen más de 70% de los pacientes⁵.

La identificación del virus en tejido neuronal por cultivo celular o por inmuno-histoquímica en la biopsia cerebral se ha considerado el estándar de oro para el diagnóstico de encefalitis por VHS. A pesar de que la sensibilidad de la biopsia es cercana a 99% y su especificidad a 100%⁶, representa un procedimiento invasor y de alto riesgo. Esta situación ha estimulado el desarrollo de técnicas de biología molecular, como la reacción de polimerasa en cadena en tiempo real (RPC-TR) para detectar el VHS en LCR, siendo establecida hoy en día como la primera herramienta diagnóstica de la encefalitis herpética. Comparada con la biopsia cerebral se describe para la RPC una sensibilidad de ~90% y una especificidad que varía entre 92 y 100%^{7,8}.

Un resultado falsamente negativo de la RPC-TR para VHS en un paciente con encefalitis herpética puede de-

berse a la toma de una muestra precoz en la evolución de la enfermedad, a la presencia de inhibidores de la RPC o a una inadecuada manipulación o almacenamiento de la muestra⁸. En consecuencia, la RPC-TR negativa para VHS no permite descartar la etiología herpética en un paciente con manifestaciones clínicas, electroencefalograma o estudios de neuro-imágenes altamente sugerentes de esta entidad. La interpretación de una RPC positiva o negativa debe ser siempre realizada en el contexto clínico del paciente y el tratamiento antiviral debe ser iniciado frente a la sospecha diagnóstica de encefalitis herpética, cuya mayor precocidad ha demostrado disminuir la mortalidad^{1,2}.

Presentamos a continuación el caso de un neonato con encefalitis herpética, cuya etiología sólo vino a certificarse con el estudio de una tercera muestra de LCR.

Caso clínico

RNT de sexo femenino, gestación de 38 semanas, AEG, peso de nacimiento 3.510 gr y talla 50 cm. Apgar 9-10, segunda hija de padres sanos. Nació por cesárea electiva por una cesárea anterior. La madre tenía antecedentes de un embarazo fisiológico, una infección urinaria en el primer trimestre de gestación y detección de portación recto-vaginal de *Streptococcus agalactiae* en el tercer trimestre del embarazo.

Inició a los 25 días de vida, movimientos mioclónicos del hemicuerpo izquierdo estando en vigilia; la madre la notó somnolienta y con disminución de la demanda por alimentos.

Fue llevada al servicio de urgencia (SU) para su evaluación. Al ingreso estaba febril, en relativas buenas



condiciones generales, sin movimientos anormales, fontanela con tensión normal, ausencia de lesiones en la piel y mucosas y su examen segmentario era normal. Signos vitales: FC 177 por min, FR 52 por min, T° 38,3° C axilar, P. arterial 91/55 mm/Hg, P. arterial media 62 mm/Hg, saturación de O₂ 97%. Exámenes de laboratorio iniciales: leucocitos 6.800/mm³ (52% linfocitos), hematocrito 40,7%, PCR: 0 mg/L, perfil bioquímico con leve hiperbilirubinemia de predominio indirecto. Examen de orina y radiografía de tórax normales. Durante la observación en el SU evolucionó con respiración irregular, piel reticulada y movimientos mioclónicos en el hemicuerpo derecho que no cedían a la contención. Por su condición clínica se le indicó apoyo con oxígeno, solución salina isotónica (NaCl 9 ‰) 20 ml/kg en bolo, lorazepam 0,1 mg/kg i.v., iniciándose tratamiento antimicrobiano empírico con ampicilina + cefotaxima i.v. luego de obtener hemocultivos y las muestras de LCR. El análisis citológico del LCR fue normal y la tinción de Gram directa no evidenció la presencia de bacterias (muestra 1, Tabla 1). Un ml adicional de LCR se guardó a 4°C para estudios posteriores de biología molecular.

Se trasladó a la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales para su monitorización. A las 24 h de internación, nuevamente presentó fiebre, hiporreactividad, y un episodio de fijación de la mirada con repetición de la crisis convulsiva focal. Se plantearon como posibles diagnósticos una meningitis bacteriana aguda inicial o una encefalitis herpética por los que se decidió repetir el estudio del LCR y adicionar a la terapia antimicrobiana, aciclovir i.v. 60 mg/kg/día fraccionado cada 8 h. En el análisis citológico del segundo LCR destacó la presencia de 190 leucocitos/mm³ con predominio mononuclear (79%), 170 eritrocitos/mm³, glucorraquia y proteínorraquia normales. La tinción de Gram directa no evidenció la presencia de bacterias (muestra 2, Tabla 1). Se solicitó una RPC de LCR cualitativa para VHS tipos 1 y 2 (*herpes simplex virus 1/2 Real Time PCR kit*, InsideGen® Bioscan, Chile) sin lograrse la detección de ADN viral. Pese al resultado negativo de RPC-TR a las 24 h de iniciado el cuadro clínico, se mantuvo el tratamiento con aciclovir i.v. ya que la paciente permanecía con compromiso de conciencia y crisis focales.

Una TAC cerebral, al segundo día de hospitalización, fue normal y en el electroencefalograma destacaba una lentitud hipovoltada difusa y ocasionales paroxismos agudos multifocales. Se le administró fenobarbital 15 mg/kg i.v. y luego 5 mg/kg/día v.o. como dosis de mantención. Los cultivos bacteriológicos del primer y segundo LCR y de sangre fueron negativos.

Evolucionó con persistencia del compromiso de conciencia, posturas anormales en reposo, crisis clónicas multifocales múltiples y debido a la alta sospecha clínica de encefalitis herpética, se decidió realizar una tercera

Tabla 1. Evolución de los hallazgos en el LCR de neonato con encefalitis herpética

LCR/h de evolución de la sintomatología	Muestra 1 (12 h)*	Muestra 2 (24 h)*	Muestra 3 (48 h)*	Muestra 4 (20 días)**
Aspecto	Trasparente	Tinte icterico	Tinte icterico	Transparente
Glucosa (mg/dL)	39	43	50	36
Proteínas (mg/dL)	83	97	189	98
Leucocitos/mm ³	0	190	36	58
Eritrocitos/mm ³	0	170	3.900	0
Fórmula diferencial		79% MN 21% PMN	53% MN 47% PMN	MN 99% 1% PMN
RPC VHS 1 - 2	Negativa	Negativa	Positiva VHS-1	Negativa

*desde inicio de los síntomas. **de tratamiento con aciclovir. MN: mononucleares. PMN: Polimorfonucleares.

RPC-TR en LCR para VHS 1 y 2 a las 48 h de iniciado el cuadro clínico y a 24 h de comenzar el tratamiento con aciclovir, la que fue positiva para VHS 1 (muestra 3, Tabla 1).

Las funciones hepática y renal fueron normales, al igual que la evaluación oftalmológica. Las manifestaciones convulsivas persistieron hasta el tercer día de hospitalización. De allí en adelante, se le apreció alerta, con succión vigorosa, sin nuevas crisis, destacando sólo un síndrome tembloroso de la extremidad superior izquierda.

Una RM de cerebro efectuada al día 10 de internación evidenció lesiones hiperintensas subcorticales en la región peri-rolándica bilateral, frontomedial e insular derecha, con impregnación leptomeníngea focal, hallazgos compatibles con una meningo-encefalitis.

Al obtener el resultado de la RPC-TR positiva para VHS 1, se reinterrogó a la madre dirigidamente quien relató que el padre habría presentado una erupción labial sugerente de herpes labial dos semanas antes de enfermar la niña y tenía recurrencia de la misma.

A los 20 días de tratamiento antiviral se controló el LCR certificándose la negatividad de la RPC-TR para VHS 1 y 2 en LCR. Completó 21 días con aciclovir, sin complicaciones.

Desde su alta, la paciente se controló en forma sistemática en las Policlínicas de Infectología y Neurología infantil. En nuestra última evaluación, a los 5 meses de vida, se constató una lactante eutrófica con un significativo retraso del desarrollo psicomotor.

Discusión

La encefalitis por VHS es un tópico ampliamente difundido tanto en la literatura científica nacional⁹⁻¹¹ como internacional^{1,3,5,6}. El objetivo de dar a conocer este caso,

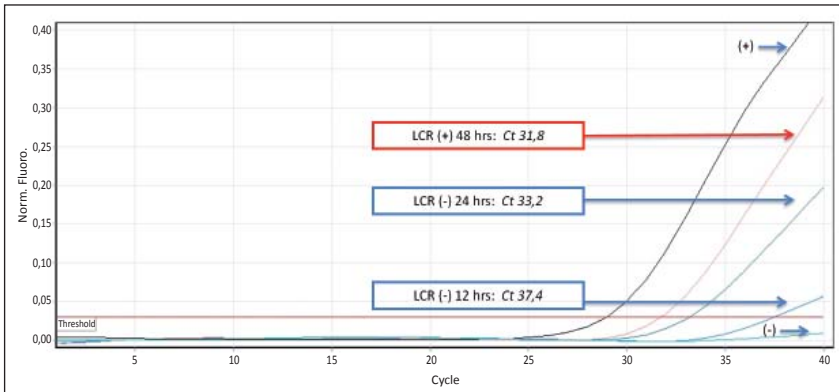


Figura 1. Curvas de reacción de polimerasa en cadena en tiempo real para VHS en el tiempo. (+): control positivo. (-): control negativo.

es recalcar la necesidad de una adecuada interpretación de los resultados de los exámenes de biología molecular en base a las características clínicas de los pacientes y la importancia del contacto entre el médico tratante y el laboratorio de biología molecular.

Nuestra paciente inició a la tercera semana de vida, un cuadro clínico compatible con una infección del SNC. En un estudio de Kimberlin y cols² los síntomas y signos más frecuentemente observados en encefalitis herpética fueron: convulsiones focalizadas (57%), letargia (49%) y fiebre (44%). Si analizamos las características de los exámenes citoquímicos de LCR obtenidos en distintos momentos de la enfermedad (Tabla 1), destaca que el primero, con menos de 12 h de evolución, fue normal, lo que ha sido descrito en la literatura médica⁵. En el segundo LCR, obtenido a las 24 h, se apreció una pleocitosis con predominio de mononucleares, glucorraquia normal y aumento leve de las proteínas y eritrocitos¹².

La detección de ADN de VHS en el LCR mediante RPC confirma el diagnóstico de encefalitis herpética; sin embargo, se han descrito reportes de RPC-TR negativa al inicio de la infección herpética^{7,8}. En pacientes adultos se ha detectado ADN de VHS en el LCR recién al cuarto a séptimo día de evolución y no en determinaciones más precoces^{7,13}. También en escolares con síntomas neurológicos sugerentes de encefalitis viral, una primera RPC de LCR efectuada precozmente en el curso de la enfermedad, resultó negativa para VHS y sólo fue positiva a los 4 días de evolución^{7,8}. En una búsqueda sistemática de comunicaciones acerca de este fenómeno en neonatos no encontramos casos similares en la literatura médica. La precocidad con que se obtenga una muestra de LCR podría ser determinante de la negatividad de este ensayo, lo que podría atribuirse a un número de copias virales bajo el umbral de detección. Una explicación alternativa para estos falsos negativos sería la presencia de inhibidores de la RPC o un inadecuado almacenamiento de la

muestra. Si la muestra se va a procesar antes de 48 h de ser obtenida, puede mantenerse a 4°C pero si el análisis será posterior, es recomendable congelar a -70°C para no disminuir la sensibilidad¹⁴. La sensibilidad y especificidad atribuidas al *kit* utilizado en este caso son de 100 y 97%, respectivamente.

En esta paciente se realizaron tres punciones lumbares (Figura 1) a las 12, 24 y 48 h de evolución. En la primera punción lumbar (12 h de síntomas) no se solicitó RPC-TR para VHS, ya que existía la sospecha de una infección bacteriana invasora, dado su expresión clínica y los antecedentes maternos de portación de *S. agalactiae*, pero se tomó la precaución de guardar el LCR para estudios de biología molecular posteriores. La segunda muestra de LCR (24 h de evolución), realizada por persistencia de los síntomas y la sospecha de encefalitis herpética, fue analizada mediante RPC-TR para VHS 1 y 2 siendo informada como negativa. La tercera punción lumbar (48 h de evolución) obtenida con posterioridad al inicio de aciclovir sí detectó ADN de VHS 1. En todas las muestras de LCR se utilizó el mismo protocolo de extracción de ácidos nucleicos y se utilizó el mismo *kit* de amplificación, obteniéndose en cada reacción controles negativos y positivos adecuados.

Debido al especial interés en el caso de la paciente, se realizó en forma diferida una RPC para VHS 1 y 2 de la muestra guardada del primer LCR, tomado a las 12 h de evolución. Como se observa en la Figura 1, todas las muestras de LCR obtenidas de la paciente, tanto a las 12 como a las 24 y 48 h de evolución, tuvieron una curva de amplificación con una disminución progresiva de la Ct (*cycle threshold*; 37,4; 33,2 y 31,8, respectivamente). Pese a estar recibiendo aciclovir, el umbral de detección para esta técnica (Ct < 32) fue superado en la muestra obtenida a las 48 h.

Con esta experiencia se reafirma la recomendación de repetir el estudio de RPC-TR para VHS 1 y 2 ante la sospecha clínica de encefalitis herpética¹⁵.

Es importante que el médico tratante mantenga un contacto estrecho con el laboratorio de biología molecular en casos como éste, ya que el análisis en conjunto de los resultados de laboratorio puede anticipar y facilitar la mejor toma de decisiones con el paciente. Así también, es recomendable guardar rutinariamente una muestra de LCR para estudios posteriores de biología molecular cada vez que se realice una punción lumbar diagnóstica, considerando que frente a la sospecha clínica de una encefalitis herpética, de inmediato, se debe instaurar el tratamiento antiviral con aciclovir a pesar de que el estudio molecular resulte negativo.

Una RPC de VHS 1 y 2 en sangre podría haber ayudado a aclarar el mecanismo patogénico pero considerando la sensibilidad descrita para esta prueba (67%) un resultado negativo no descarta el diagnóstico¹⁶.



Un hecho interesante de destacar en este caso, es que se trató de una infección por VHS-1, que contrasta con lo publicado en la literatura médica^{2,5,17} en que más de 75% de las infecciones neonatales corresponden a VHS-2. Cuando la infección es post-natal (10%) la incidencia relativa entre estos dos virus tiende a igualarse porque adquieren importancia las lesiones orales y las lesiones de tipo panadizo herpético en el personal que los atiende o en sus contactos cercanos. Este caso es concordante con una infección post-natal donde aumenta la frecuencia de VHS-1, sustentado además por la edad de la paciente al presentar sintomatología (25 días) y por el antecedente de que el padre habría presentado dos semanas antes del inicio del cuadro clínico, una probable lesión herpética labial.

Las secuelas neurológicas en las encefalitis herpéticas con compromiso de SNC aislado son cercanas al 70%, por lo que el compromiso neurológico de esta paciente podría ser explicado sólo por este hecho^{6,18}. Dado las características propias del virus herpes se ha planteado la reactivación periódica como causa de mayor deterioro neurológico pero aún el uso de aciclovir oral como terapia supresora, es controversial^{19,20}.

En conclusión, frente a la sospecha clínica de encefalitis

herpética neonatal se deben tomar muestras de LCR e iniciar el tratamiento con aciclovir lo antes posible, ya que esta forma de proceder disminuye significativamente la morbi-mortalidad. En este contexto, una RPC-TR para VHS 1 y 2 en LCR negativa no permite excluir terminantemente el diagnóstico de infección de SNC por VHS por lo que se recomienda repetir el análisis del LCR en las siguientes 24 a 48 h de evolución.

Resumen

La encefalitis herpética genera un desafío diagnóstico y es causa de alta morbi-mortalidad en niños. Se requiere de una sospecha clínica precoz y una prueba diagnóstica útil, rápida y segura, ya que sin tratamiento oportuno y adecuado, hasta 70% de los casos puede fallecer. Comunicamos el caso de una recién nacida de 25 días de vida, que presenta un cuadro clínico compatible con encefalitis herpética, donde el diagnóstico etiológico tardó en ser confirmado y sólo la técnica de reacción de la polimerasa en cadena en tiempo real (RPC-TR) aplicada de forma repetida permitió certificar la presencia de virus herpes simplex tipo 1 en el LCR.

Referencias bibliográficas

- Kimberlin D W. Neonatal herpes simplex infection. *Clin Microbiol Rev* 2004; 17: 1-13.
- Kimberlin D W, Lin C Y, Jacobs R F, Powell D A, Frenkel L M, Gruber W C, et al. Natural history of neonatal herpes simplex virus infections in the acyclovir era. *Pediatrics* 2001; 108: 223-9.
- Kimberlin D W. Management of HSV encephalitis in adults and neonates: Diagnosis, prognosis and treatment. *Herpes* 2007; 14: 11-6.
- Whitley R J, Soong S J, Hirsh M S, Karchmer A W, Dolin R, Galasso G, et al. Herpes simplex encephalitis: vidarabine therapy and diagnostic problems. *N Engl J Med* 1981; 304: 313-8.
- Gutiérrez K M, Whitley R J, Arvin A M. Herpes simplex virus infections. En: *Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant*. Remington JS, Klein JO, Wilson CB, Nizet V, Maldonado YA, eds. 7th Ed, 2011. Philadelphia: Elsevier Saunders pp. 813-33.
- Whitley R J, Lakeman F. Herpes simplex virus infections of the central nervous system: therapeutic and diagnostic considerations. *Clin Infect Dis* 1995; 20: 414-20.
- Weil A A, Glaser C A, Amad Z, Forghani B. Patients with suspected herpes simplex encephalitis: Rethinking an initial negative polymerase chain reaction result. *Clin Infect Dis* 2002; 34: 1154-7.
- Fathi A, Lenoir A. PCR negative herpes simplex encephalitis: A case presentation. *Int Pediatr* 2001; 16 (2): 1-4.
- Fica A, Pérez C, Reyes P, Gallardo S, Calvo X, Salinas A M. Encefalitis herpética. Serie clínica de 15 casos confirmados por reacción de polimerasa en cadena. *Rev Chilena Infectol* 2005; 22: 38-46.
- Conca N, Labraña Y, Bercovich M, Cienfuegos G, Santolaya M E. Encefalitis herpética neonatal: dos gemelas, dos casos. *Rev Chilena Infectol* 2011; 28: 257-26.
- Ruiz-Esquide F, Peña M, Pinuer E, Henríquez M, Hernández A, Larrañaga C. Encefalitis herpética neonatal. Caso clínico y revisión del tema. *Rev Chil Pediatr* 2002; 73: 152-8.
- Caviness A C, Demmler G J, Selwyn B J. Clinical and laboratory features of neonatal herpes simplex virus infection: a case-control study. *Pediatr Infect Dis J* 2008; 27: 425-30.
- Studhal M, Bergstrom T, Hagsberg L. Acute viral encephalitis in adults- a prospective study. *Scand J Infect Dis* 1998; 30: 215 -20.
- Ferrés M. Diagnóstico Viral. En: *Avendaño L, Ferrés M, Spencer E. Virología Clínica*. 1ª ed, 2011. Ed. Mediterráneo, Santiago, Chile. pp 77-89.
- Kimberlin D W, Whitley R J. Neonatal herpes: What have we learned. *Semin Pediatr Infect Dis* 2005; 16: 7-16.
- Diamond C, Mohan K, Hobson A, Frenkel L, Corey L. Viremia in neonatal herpes simplex virus infections. *Pediatr Infect Dis J* 1999; 18: 487-9.
- Kimberlin D W. Herpes simplex virus infections in the newborn. *Semin Perinatol*. 2007; 31:19-25.
- Willoughby R, Long S. Encephalitis, meningoencephalitis, acute disseminated encephalomyelitis and acute necrotizing encephalopathy. En: Long S, Pickering L, Prober C. ed, *Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases*, 3th ed, 2008. Churchill Livingstone Elsevier, New York. pp 310 -7.
- Kimberlin D W, Whitley R J, Wan W, Powell D A, Storch G, Ahmed A, et al. Oral acyclovir suppression and neurodevelopment after neonatal herpes. *N Engl J Med* 2011; 365: 1284-92.
- Fonseca-Aten M, Messina A F, Jafri H S, Sánchez P J. Herpes simplex virus encephalitis during suppressive therapy with acyclovir in a premature infant. *Pediatrics* 2005; 115: 804-9.