



Infectio

Asociación Colombiana de Infectología

www.elsevier.es/infectio



REPORTE DE CASO

Utilidad de la reacción en cadena de la polimerasa en el diagnóstico de infección congénita por citomegalovirus: a propósito de un caso de meningitis aséptica



Yolanda Cifuentes-Cifuentes^{a,*} y Tania Granadillo-Vásquez^b

^a Departamento de Pediatría, División de Neonatología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Instituto Materno Infantil Hospital La Victoria, Bogotá, Colombia

^b Servicio de Neonatología, Instituto Materno Infantil Hospital La Victoria, Bogotá, Colombia

Recibido el 25 de agosto de 2014; aceptado el 20 de febrero de 2015

Disponible en Internet el 19 de abril de 2015

PALABRAS CLAVE

Citomegalovirus;
Trombocitopenia;
Meningitis aséptica

KEYWORDS

Cytomegalovirus
infections;
Thrombocytopenia;
Aseptic meningitis

Resumen Se informa del caso de un recién nacido que presentó trombocitopenia, hematuria y proteinuria. En el líquido cefalorraquídeo tenía aumento de proteínas y leucocitos, VDRL no reactiva. La madre tenía historia de sífilis gestacional. Las determinaciones de IgM para citomegalovirus, rubéola, *Toxoplasma*, herpes I y II fueron negativas por lo que se consideró caso de sífilis congénita con compromiso de sistema nervioso central. Por persistir la trombocitopenia después del tratamiento, se tomó muestra de sangre para PCR para citomegalovirus, encontrándose 181.171 copias/ml. Se dio tratamiento con ganciclovir intravenoso 12 mg/kg de peso durante 21 días y solución al 10% de inmunoglobulina humana hiperinmune para citomegalovirus administrada así: 4 ml/kg de peso los días 0, 4 y 8, seguido de 2 ml/kg de peso los días 12 y 16. La evolución fue satisfactoria. Se evidenció la utilidad de PCR en el diagnóstico de infección congénita por citomegalovirus.

© 2014 ACIN. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Polymerase chain reaction in the diagnosis of congenital infection cytomegalovirus: A purpose of a case of aseptic meningitis

Abstract We report a case of a newborn with persistent thrombocytopenia, hematuria, proteinuria, as well as increased proteins and leukocytes in cerebrospinal fluid, with a non-reactive VDRL. His mother had history of gestational syphilis. IgM levels against cytomegalovirus, rubella, toxoplasma, herpes I and II were negative, which led to suspicion

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: mycifuentesd@unal.edu.co (Y. Cifuentes-Cifuentes).

of congenital syphilis with central nervous system involvement. A polymerase chain reaction test for cytomegalovirus showed 181.171 copies/ml in serum. The newborn was treated with intravenous ganciclovir at 12 mg per kg body weight for 21 days and a 10% solution of human cytomegalovirus hyperimmune immunoglobulin, administered as follows: 4 ml per kg body weight on days 0, 4 and 8, followed by 2 ml per kg weight on days 12 and 16. The clinical outcome was satisfactory. This study highlights the usefulness of PCR for the diagnosis of congenital CMV infection.

© 2014 ACIN. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introducción

La infección congénita, que es una infección intrauterina transplacentaria, es ocasionada por múltiples agentes: *Toxoplasma*, *Treponema pallidum*, herpes simple, parvovirus B19, varicella-zoster, citomegalovirus (CMV), rubéola, virus de la inmunodeficiencia humana, virus de hepatitis B y bacilo de la tuberculosis, entre otros¹.

La causa más frecuente de infección viral congénita es el CMV; esta infección puede originar secuelas permanentes como sordera neurosensorial, alteración visual y retardo mental. A partir de una revisión de 15 estudios en los que se reunieron 117.986 niños, la prevalencia estimada de la infección fue del 0,7% y la frecuencia de casos sintomáticos al nacer fue del 12,7%. En esta misma revisión, se estima que desarrollarán secuelas permanentes el 40-58% de los casos sintomáticos y el 13,5% de los asintomáticos².

Las manifestaciones clínicas en los sintomáticos incluyen: restricción de crecimiento en el 23% de los casos, microcefalia en el 23%, ictericia en el 47%, hepatoesplenomegalia en el 76%, petequias en el 41%, coriorretinitis en el 12%, hipoacusia en el 41% y calcificaciones intracraneales en el 35%; las alteraciones de laboratorio más frecuentes son trombocitopenia en el 40%, anemia en el 53%, hiperbilirrubinemia en el 30% y aumento de aminotransferasas en el 35% de los casos³.

La mortalidad varía del 4-12% en las primeras semanas de vida y puede llegar al 30% en el primer año ocasionada por el compromiso hepático o por las infecciones bacterianas asociadas resultantes de la alteración del sistema inmunológico causada por la infección viral⁴.

El diagnóstico de la infección congénita debe hacerse en las 3 primeras semanas de vida por aislamiento del virus en cultivo de orina o por detección del ADN viral mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a partir de muestras de sangre, orina, saliva o líquido cefalorraquídeo (LCR) o por la detección del antígeno PP65 en sangre o por determinación de IgM específica en sangre^{4,5}.

La sensibilidad del cultivo varía entre el 80 y el 90% con especificidad de más del 95%⁶, la sensibilidad de la PCR varía entre el 80 y 100%, la sensibilidad del antígeno p65 oscila entre el 35 y 50% con una especificidad del 100%^{5,6} y la sensibilidad de la IgM oscila entre el 25 y el 40% con una especificidad del 100%³, por lo que la PCR en suero y orina es el método diagnóstico posnatal de elección^{3,5,6}.

En el recién nacido la infección por CMV también puede ser adquirida por contacto con secreciones cervicales maternas durante el parto, por ingestión de leche materna de la madre infectada, por contaminación en salas de neonatos o por fluidos biológicos de personas infectadas o por administración de derivados sanguíneos⁷. En estos casos, cuando el diagnóstico de la infección se hace en un niño de más de 3 semanas de vida, el diagnóstico de infección congénita por CMV se puede realizar por PCR en la muestra de sangre seca tomada en papel de filtro del tamizaje neonatal para enfermedades metabólicas, que es una muestra que se toma entre el tercero y el cuarto día de vida^{4,8}.

Presentación del caso

Recién nacido masculino, a término, peso 2.775 g, talla 48 cm, perímetro cefálico 34 cm, Apgar 6, 7 y 8 a 1, 5 y 10 min. Madre de 21 años, segunda gestación, rotura prematura de membranas de 13 h. La madre tuvo un antecedente de óbito en la primera gestación por sífilis, con un resultado durante esa primera gestación, de un VDRL materno de 1:64. La madre recibió tratamiento para sífilis, la pareja no.

Durante el presente embarazo la mamá volvió a presentar un VDRL 1:2 a las 8 semanas de gestación; la gestante y su pareja recibieron tratamiento con 3 dosis de penicilina benzatínica. Luego, el VDRL materno fue de 1:1 a las 13 semanas de gestación; en el momento del parto el VDRL fue de 1:2, y se sospechó reinfección. Las serologías para *Toxoplasma*, virus de la inmunodeficiencia humana y hepatitis B fueron negativas.

Se hospitalizó al recién nacido con diagnóstico de caso presuntivo de sífilis congénita, se solicitó cuadro hemático, parcial de orina, VDRL, hemocultivos y urocultivo, que mostraron: hemoglobina 21,9 g; hematocrito 63%; leucocitos $19.550 \times \text{mm}^3$; segmentados 44%; linfocitos 51%; monocitos 5%; plaquetas $100.000 \times \text{mm}^3$; VDRL no reactivo; parcial de orina: pH 6; densidad 1.015; proteínas + sangre+. Se inició penicilina cristalina 50.000 U $\times \text{kg}/12 \text{ h}$. A los 2 días de vida, el recuento de plaquetas fue $83.000 \times \text{mm}^3$; aspartato aminotransferasa 35 U/L; bilirrubina total 14,9 mg%; y bilirrubina directa 0,3 mg%.

A las 30 h de vida presentó importante eritema y edema periumbilical, tenía aspecto séptico y alteración de la perfusión distal; se adicionó oxacilina y gentamicina. Al tercer día se informó hemocultivos y urocultivo negativos.

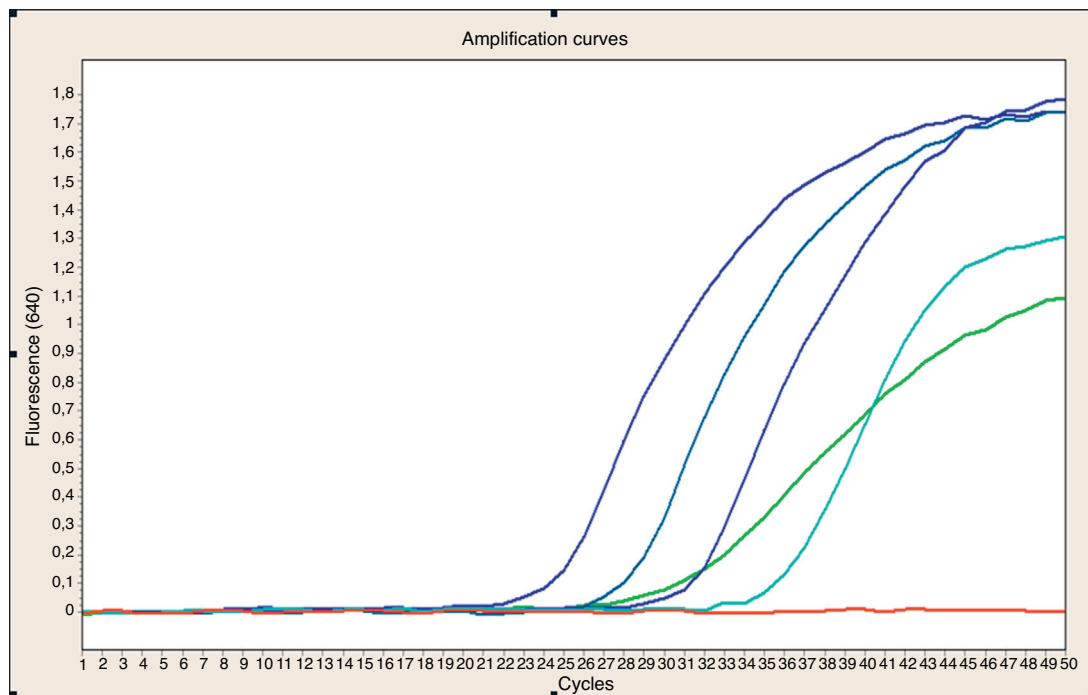


Figura 1 Reacción en cadena de la polimerasa en sangre para citomegalovirus. EL ADN de la muestra de sangre fue extraído con el sistema automatizado Maxwell y la cuantificación de la carga viral se realizó mediante reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real usando iniciadores y sondas FRET específicas para la región de la glucoproteína B del citomegalovirus. La amplificación y detección se llevaron a cabo en un equipo Lightcycler 2.0 usando diluciones de plásmidos a concentraciones determinadas. El paciente corresponde a la última línea, en orden hacia la izquierda; las demás líneas corresponden a los controles de plásmidos empleados en la cuantificación. 1E5, 1E4, 1E3, 1E2 (100.000, 10.000, 1.000, 100) copias.

A los 4 días, el reporte de LCR mostró 29 leucocitos \times mm³; linfocitos 95%; proteínas 166,4 mg%; VDRL no reactivo. Se solicitó determinación de IgM para *Toxoplasma*, rubéola, CMV, herpes I y II para definir etiología de la meningitis aséptica. No hubo mejoría clínica esperada, aumentó el área de celulitis periumbilical; se suspendieron oxacilina y gentamicina, se solicitaron hemocultivos y se inició cefepime.

Al quinto día el recuento de plaquetas fue 62.000 \times mm³; las ecografías cerebral y cardiaca fueron normales. Las determinaciones de IgM para *Toxoplasma*, CMV, rubéola, herpes I y II resultaron negativas. Ante los hallazgos en LCR y la persistencia de trombocitopenia a pesar del tratamiento con penicilina cristalina, se tomó muestra para PCR para CMV en sangre y se envió a un laboratorio externo a la Institución.

A los 6 días informaron aislamiento en los hemocultivos de *Staphylococcus aureus* resistente; se inició vancomicina, se suspendió cefepime. El resultado de PCR para CMV mostró 181.171 copias/ml de sangre (fig. 1).

Se suspendió la penicilina cristalina; por el cuadro multisistémico de infección por CMV con compromiso de sistema nervioso central y se inició ganciclovir intravenoso 12 mg/kg de peso durante 21 días y solución al 10% de inmunoglobulina humana hiperinmune para CMV administrada así: 4 ml/kg de peso los días 0, 4 y 8, seguido de 2 ml/kg de peso los días 12 y 16.

Los controles del recuento de plaquetas realizados a los 14 días y 22 días de vida informaron 153.000 \times mm³ y 227.000 \times mm³ respectivamente. La evolución clínica fue

satisfactoria; la PCR para CMV realizada a los 36 días de vida no detectó ninguna copia del virus. La valoración por oftalmología fue normal. Se dio salida para seguimiento ambulatorio.

Discusión

En el caso que se presenta, la trombocitopenia persistente, presente desde el nacimiento, en conjunto con las alteraciones en el LCR compatibles con meningitis aséptica fueron las claves para sospechar infección por CMV, pues el recién nacido no tenía ninguna alteración en el examen físico, ni en la valoración por oftalmología. La infección bacteriana asociada y la ausencia de IgM específica para CMV se consideraron manifestaciones del compromiso del sistema inmunológico por CMV⁴⁻⁶.

Se sabe que la IgM para CMV puede ser negativa en neonatos infectados, incluso en pacientes sintomáticos⁶, por lo que en la actualidad, para el diagnóstico de infección congénita por CMV se recomienda la identificación del genoma mediante PCR; muchos centros consideran la PCR en orina como la técnica de referencia por su alta sensibilidad⁸. En el caso que se informa, la determinación de IgM para CMV fue negativa y la PCR realizada en sangre mostró un recuento elevado de copias del virus.

Si bien múltiples publicaciones dan cuenta de la utilidad del ganciclovir en el tratamiento de la infección congénita por CMV, en el tratamiento de este paciente, por el

cuadro sistémico con compromiso del sistema nervioso central, se utilizó la asociación de ganciclovir con inmunoglobulina humana hiperinmune para CMV. El uso de esta asociación ha sido descrito previamente en neonatos con infección severa que mejoraron en forma importante^{9,10}; igualmente ha sido usada con éxito en los pacientes con trasplante de médula ósea complicados con neumonía por CMV.

La infección congénita por CMV es la principal causa no hereditaria de sordera en los niños, su diagnóstico representa una oportunidad para tratar la infección y prevenir esta secuela; en algunos países se ha considerado el tamizaje neonatal para la detección de infección congénita por CMV mediante PCR utilizando las gotas de sangre en papel de filtro, obtenidas para el programa de tamizaje de enfermedades metabólicas⁴.

En Colombia no se dispone de información acerca de la frecuencia de infección congénita, existe reporte de la alta frecuencia (66%) de seropositividad para CMV en las gestantes¹¹ y de la tasa de positividad (1,5%) para CMV en un estudio colaborativo en recién nacidos con bajo peso¹². Hay informe de caso de infección congénita diagnosticada mediante PCR¹⁰.

Los neonatos que presentan síntomas o signos como restricción de crecimiento, microcefalia, petequias, hepatosplenomegalia y/o ictericia con hiperbilirrubinemia conjugada deben ser estudiados para infección congénita por CMV; proponemos que este espectro se amplíe incluyendo a los recién nacidos con trombocitopenia persistente, tal como lo consigna la guía española para el diagnóstico y manejo de la infección congénita⁸, configurando así una población neonatal de riesgo para infección congénita por CMV, en quienes, en las 3 primeras semanas de vida, mediante PCR en muestra de orina, se detectaría la infección.

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.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que han seguido los protocolos de su centro de trabajo sobre la publicación de datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores han obtenido el consentimiento informado de los

pacientes y/o sujetos referidos en el artículo. Este documento obra en poder del autor de correspondencia

Conflicto de intereses

El caso no necesitó financiación y las autoras no tenemos ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Shet A. Congenital and perinatal infections: Throwing new light with an old TORCH. *Indian J Pediatr.* 2011;78:88–95.
2. Dollard SC, Grosse SD, Ross DS. New estimates of the prevalence of neurological and sensory sequelae and mortality associated with congenital cytomegalovirus infection. *Rev Med Virol.* 2007;17:355–63.
3. Gomila A, Rivas N, López EL. Infección congénita por citomegalovirus. *An Pediatr (Barc).* 2008;69:311–5.
4. Malm G, Engman ML. Congenital cytomegalovirus infections. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2007;12:154–9.
5. Bhatia P, Narang A, Minz RW. Neonatal cytomegalovirus infection: Diagnostic modalities available for early disease detection. *Indian J Pediatr.* 2010;77:77–9.
6. Jones CA. Congenital cytomegalovirus infection. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care.* 2003;33:65–9.
7. Alarcón AA, Baquero-Artigao F, Grupo de estudio de la infección por citomegalovirus de la Sociedad Española de Infectología Pediátrica. [Review and guidelines on the prevention, diagnosis and treatment of post-natal cytomegalovirus infection]. *An Pediatr (Barc).* 2011;74:52e1–13.
8. Baquero-Artigao F, Grupo de estudio de la infección congénita por citomegalovirus de la Sociedad Española de Infectología Pediátrica. [Consensus document of the Spanish Society of Paediatric Infectious Diseases (SEIP) on the diagnosis and treatment of congenital cytomegalovirus infection]. *An Pediatr (Barc).* 2009;71:535–47.
9. Weng YH, Chu SM, Lien RI, Chou YH, Lin TY. Clinical experience with ganciclovir and anti-cytomegalovirus immunoglobulin treatment for a severe case of congenital cytomegalovirus infection. *Chang Gung Med J.* 2003;26:128–32.
10. Fonseca-Becerra CE, Rivera-Tovar GM. Infección congénita por citomegalovirus: Presentación de tres casos y revisión de la literatura. *Rev Obstet Gynecol Colomb.* 2012;63:168–74.
11. Cardona N, Gaviria M, Uribe G, Jaramillo C. Anticuerpos contra los agentes del síndrome TORCH en el grupo de gestantes de Medellín-Colombia. *CES Med.* 1987;1:27–31.
12. Bermúdez AJ, González NE, Ching RB. Uso del bajo peso al nacer como criterio seleccionador para la vigilancia rutinaria de anomalías congénitas de origen infeccioso. *Colomb Med.* 2008;39 Supl 2:24–8.