



# INVESTIGACIÓN ORIGINAL

## CONFIRMACIÓN POR LABORATORIO DE UN CASO FULMINANTE DE NEUMONÍA POR VIRUS DE VARICELA ZOSTER EN UNA MUJER ADULTA

Laboratory confirmation of fulminant varicella zoster virus pneumonia in an adult woman

*Claudia Martínez Uzeta<sup>1</sup>, Gloria Mercedes Jiménez<sup>1</sup>,  
Jaime E. Castellanos<sup>2</sup>,*

1. MD. Patóloga. Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses. Bogotá, Colombia
2. OD. MSc. PhD Grupo Patogénesis Viral, Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Colombia e Instituto de Virología, Universidad El Bosque. Bogotá.

Correspondencia: [castellanosjaime@unbosque.edu.co](mailto:castellanosjaime@unbosque.edu.co)

### Resumen

**Antecedentes.** La varicela es una enfermedad relativamente benigna en la infancia, pero en los adultos se presenta con gran severidad y con complicaciones que pueden ser fatales. Normalmente, el diagnóstico se hace solamente por los signos clínicos de la enfermedad.

**Objetivos.** Realizar un diagnóstico confirmatorio de varicela sobre el informe presuntivo de patología.

**Material y métodos.** A una paciente fallecida en prisión, se le realizó la necropsia e histopatología en el Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses de Bogotá. A partir de las muestras de tejidos archivadas en parafina, se hizo extracción de DNA y amplificación del genoma del virus de varicela zoster, el cual fue confirmado por secuenciación. Una muestra archivada de suero se procesó por ELISA para la detección de anticuerpos específicos para el virus.

**Resultados.** Por ELISA se encontró IgM pero no IgG específica para el virus de varicela zoster. En la prueba de PCR se amplificó un fragmento de 297 pb correspondiente a una región del genoma del virus de varicela zoster, que fue confirmado por secuenciación.

**Conclusiones.** Las muestras de tejidos almacenadas fueron útiles para la realización de pruebas confirmatorias de laboratorio.

**Palabras clave:** herpesvirus 3 humano (virus de varicela zoster), neumonía, síndrome de dificultad respiratoria del adulto, PCR (reacción en cadena de la polimerasa), inmunoglobulina M (IgM), inmunoglobulina G (IgG).

**Martínez C, Jiménez G, Castellanos J.** Confirmación por laboratorio de un caso fulminante de neumonía por virus de varicela zoster en una mujer adulta. *Rev.Fac.Med.* 2007; 55: 165-172.



### Summary

**Background.** Primary varicella infection is a benign disease during childhood, but infection in adults causes serious complications and high mortality rate. Normally, diagnosis is made only by their clinical signs.

**Objective.** To make a confirmatory diagnostic about putative pathologist one of varicella, using serological and molecular tests carried out on filed samples.

**Material and methods.** DNA was extracted from archival samples using paraffin-embedded tissue specimens and varicella zoster virus genome was detected by PCR and sequencing confirmed. In addition, an archival serum sample was processed by ELISA.

**Results.** ELISA of serum detects IgM but not IgG specific antibodies to varicella zoster virus. Primer specific PCR amplified a fragment of 297 bp belonging to viral genome DNA, which was confirmed by sequencing.

**Conclusion.** Archival samples and tissues were useful tools to make the confirmatory laboratory tests.

**Key words:** Herpesvirus 3, human (varicella zoster virus), pneumonia, respiratory distress syndrome, adult, PCR (polymerase chain reaction), Immunoglobulin G (IgG), Immunoglobulin m (IgM).

**Martínez C, Jiménez G, Castellanos J.** Laboratory confirmation of fulminant varicella zoster virus pneumonia in an adult woman *Rev.Fac.Med.* 2007; 55:165-172.

### Introducción

El virus de varicela zoster (VVZ) pertenece a la familia de los Herpesvirus alfa, posee un DNA genómico de aproximadamente 125 kb que codifica para por lo menos 70 proteínas y péptidos. La infección primaria (en niños) se caracteriza por la presencia de un rash cutáneo difuso conocido como varicela (1). Después de las infecciones primarias se establece latencia del virus en los ganglios sensoriales el cual causa herpes zoster en los adultos al reactivarse. El virus es altamente contagioso y su transmisión ocurre por el contacto con las lesiones de la piel o las secreciones respiratorias del paciente. La mayor parte de los casos de varicela se presentan de forma no complicada en niños entre los dos y ocho años y se manifiesta por exantema, fiebre y malestar general. Cada vez con mayor frecuencia se reportan casos de infecciones primarias agudas o reactivaciones en adultos que tienen un desenlace fatal (2,3). La neumonía es la complicación más común en los casos de infección por VVZ en adultos, con incidencias reporta-

das entre el 16-33 por ciento y mortalidad hasta del 20 por ciento (4). Se reconoce que la morbilidad y la mortalidad son 25 veces mayores en adultos que en niños sanos (5) y que la entidad se presenta frecuentemente en individuos inmunocomprometidos o sometidos a terapia con corticoides (6). La neumonía se presenta en adultos tanto inmunocompetentes como inmunodeprimidos y en mujeres embarazadas en las cuales se presenta alta mortalidad del feto (7). Los cuadros severos se presentan con signos clínicos o radiológicos de neumonitis que evolucionan hacia un síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA) con una alta mortalidad a pesar del manejo con ventilación asistida en la unidad de cuidado intensivo (8)

En la tabla 1, se muestran los datos de casos que se presentaron en Bogotá en los años 2003 y 2004. Sólo se reportó un caso fatal en el 2004, el cual se presenta en este estudio. Se presenta el caso por sus características especiales y las implicaciones epidemiológicas y de salud pública, enfatizando en los procesos de laboratorio para la confirmación del agente etiológico.

**Tabla 1.** Incidencia de varicela zoster, por grupo de edad en Bogotá 2003-2004.

EDAD	2003		2004	
	No.	TASA x 100.000	No.	TASA x 100.000
Menores de un año	580	406,9	669	478,7
1 a 4 años	3.453	622,1	3.858	697,0
5 a 14 años	4.823	390,6	5.233	416,6
15 a 44 años	3.652	105,2	4.015	115,1
45 a 64 años	214	19,3	144	12,3
65 y mas años	20	6,3	17	5,2
<b>TOTAL</b>	12.742	186,5	13.936	200,0

Fuente: Fichas de Notificación, Área de Vigilancia en Salud Pública. Secretaría Distrital de Salud, Bogotá.

### Informe del caso

Se trata de un estudio de caso, descriptivo, retrospectivo de una mujer de 22 años de edad con antecedentes de consumo de bazuco, de ocupación vendedora ambulante procedente del centro carcelario donde falleció con un diagnóstico clínico presuntivo de varicela. Debido a que la muerte ocurrió en custodia, la necropsia médico-legal se practicó en el Grupo de Patología de la Regional Bogotá del Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses.

La joven fue recluida en el centro carcelario el día cuatro de octubre de 2004, no se conoce relación con posibles contagios durante su permanencia. El día 17 de octubre acudió al servicio de salud de la cárcel por presentar un cuadro clínico consistente en malestar general y erupción generalizada. La paciente se dejó en observación y se prescribió diclofenaco intramuscular. Al día siguiente presentó un episodio emético y dolor generalizado tratado nuevamente con diclofenaco y líquidos endovenosos por intolerancia a la vía oral. Para el día 19 de octubre el servicio de enfermería registra en la historia clínica astenia, adinamia y un episodio de agitación vespéral manejado con la administración intramuscular de una benzodiazepina de corta duración. En la noche, la paciente reportó dolor abdominal, con persistencia del vómito por

lo que se le administró un antiemético por vía endovenosa. Hacia las 20:00 horas la paciente empeoró su estado general y falleció. El día 21 de octubre de 2004, la Secretaría de Salud de Bogotá hizo un estudio de campo en el centro de reclusión. A pesar de que en ese momento convivían 38 niños menores de tres años con sus madres, ninguno de ellos tenía antecedentes de varicela, no se encontraron casos similares al de la paciente fallecida ni asociación epidemiológica con casos de varicela en las tres semanas anteriores.

### Descripción anatómico-patológica

Durante la necropsia, se encontraron lesiones exantemáticas en la piel, en diferentes estadios de evolución algunas con formación de vesículas, otras con pápulas y otras de aspecto eritematoso y costroso que median entre 0,3 x 0,2 cm y 0,4 x 0,3 cm (Figura 1A) distribuidas en toda la superficie corporal con predominio en cara y región toraco-abdominal. Se observó una lesión vesicular rota de 0,3 x 0,2 cm con el centro eritematoso en la región dentoalveolar superoanterior sobre la línea media.

Se observó congestión leptomeníngea y edema cerebral leve; hidrotórax bilateral con un volumen aproximado de 1000 ml de aspecto cetrino oscuro. En la luz de la laringe, tráquea y bron-



**Figura 1.** *A: Aspecto clínico de las lesiones cutáneas. Lesiones de diferentes tamaños, algunas papulares y otras vesiculares, incluso con eritema y costras. B: Aspecto macroscópico de los pulmones. Nótese las extensas hemorragias subpleurales (Ver anexo).*

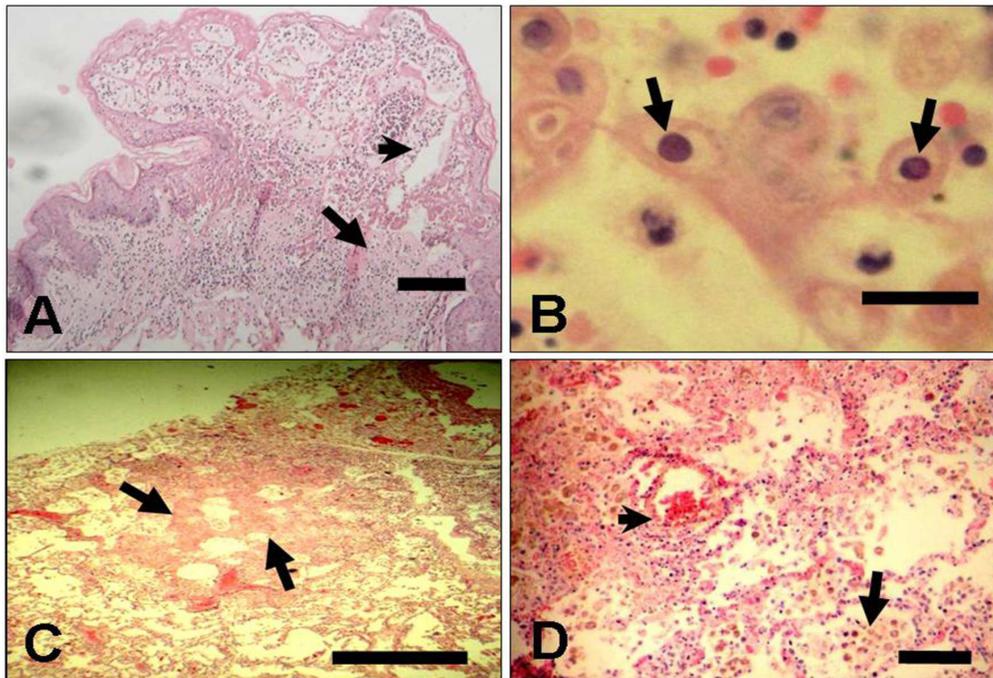
quios principales se encontraron secreciones espumosas blanquecinas y material fibrinoide grisáceo que recubría la cara interna del cartílago cricoides. Pulmones no crepitantes aumentados de peso (1980 g, normal hasta 900 g); pleura visceral opaca sin adherencias; hemorragias subpleurales difusas irregulares confluentes que median entre 0,5 x 0,3 cm y 0,4 x 0,2 cm (Figura 1B). Al corte, el parénquima presentaba aspecto carnoso, rojo oscuro con salida de abundante líquido espumoso rojizo (compatible con edema). Se hallaron áreas hemorrágicas difusas e irregulares que se correlacionan con los hallazgos descritos en la pleura visceral. Se encontraron aumentadas de tamaño las cadenas ganglionares cervicales y parahiliares pulmonares. Bazo de tamaño normal friable y congestivo, hígado congestivo y riñones pálidos con veteado difuso rojizo y borramiento del límite corticomedular.

En el estudio histopatológico de las lesiones vesiculares en la piel, además de vesículas y focos de necrosis (Figura 2A), se encontraron algunas inclusiones intranucleares eosinofílicas dentro de células epiteliales similares a las del herpes, altamente sugestivas de una infección viral. En la Figura 2B se muestra el aspecto de estas

inclusiones en el tejido pulmonar. El estudio microscópico del pulmón mostró cambios de neumonía intersticial aguda necrotizante hemorrágica multifocal, con distribución “miliar” de las lesiones (Figura 2C) y hemorragias (Figura 2D), lo cual corresponde a lo descrito en varicela, pero no se encontraron inclusiones virales en células alveolares. En el parénquima no comprometido se observaron cambios de neumopatía crónica compatibles con consumo de bazuco, consistentes en fibrosis septal y acúmulos de macrófagos intralveolares y peribronquiales con pigmento oscuro que no se tiñe con coloraciones para hierro.

#### Estudio de laboratorio

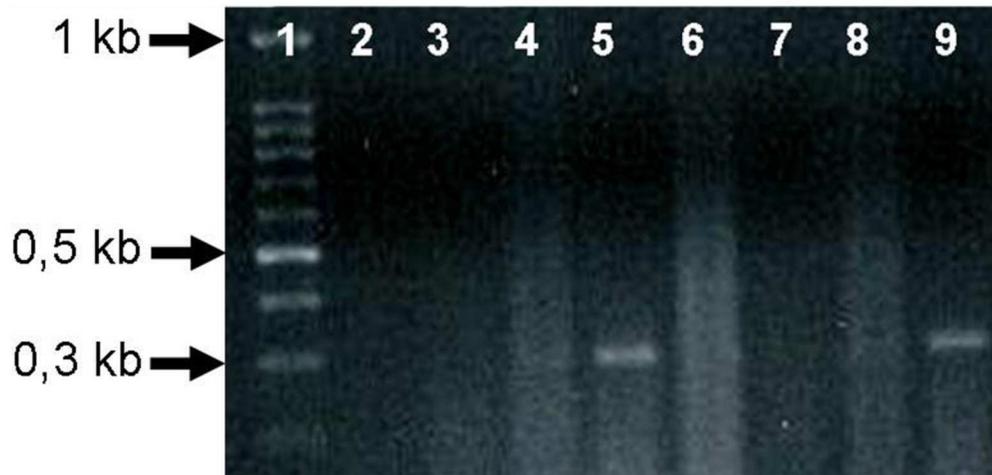
El análisis serológico por ELISA dio resultado positivo para la IgM específica para VVZ (valor 6,2; se consideran positivos datos mayores a 1,1). La IgG específica tuvo un valor de 0,35, por lo cual se considera negativo (valores menores a 0,9). Los estudios inmunológicos permiten concluir que para el momento en que la paciente falleció cursaba con una enfermedad activa viral de carácter agudo y no se identificaron anticuerpos de memoria para el VVZ. A partir de los tejidos embebidos en parafina (piel,



**Figura 2.** Histología de algunos de los tejidos de la paciente. **A:** Aspecto histológico de las lesiones exantemáticas; se observa necrosis dérmica secundaria a vasculitis (flecha), formación de vesículas subepiteliales (cabeza de flecha) y denso infiltrado inflamatorio mixto. La barra corresponde a 0,1 cm. **B:** Corte histológico del parénquima pulmonar, la infección viral compromete células endoteliales, fibroblastos y células epiteliales, produciendo inclusiones intranucleares eosinófilicas (flechas) características de los virus herpes. Barra = 10  $\mu$ m. **C:** Imagen a pequeño aumento del aspecto histológico de los pulmones; la neumonía por varicela produce consolidación y necrosis multifocal como "parches" entre áreas preservadas, por lo que se describe como neumonía miliar (flechas), la barra corresponde a 0,5 cm. **D.** Fotografía a mayor aumento de la histología del pulmón, donde se puede apreciar un foco de necrosis (flecha) y hemorragia que compromete intersticio, alvéolos y bronquiolos (cabeza de flecha). La barra corresponde a 100  $\mu$ m. (Ver anexo)

corazón, cerebro y pulmón), se utilizó un método de recuperación de DNA para la posterior amplificación de un segmento del genoma del VVZ. Se cortaron cinco secciones de 10  $\mu$ m de espesor y se transfirieron a tubos con xileno y etanol. Las muestras fueron incubadas a 55°C por 30 minutos. Se les adicionó proteinasa-K (0,5 mg/ml) en buffer de digestión (100 mM NaCl/ 10 mM Tris-HCl, pH 8,0 y 25 mM EDTA, pH 8,0/0,5 % SDS) y se incubaron toda la noche a 55 °C. El DNA total se purificó con fenol-cloroformo y se precipitó con acetato de sodio 3M y etanol. El DNA se resuspendió en agua desionizada estéril.

Se realizó una PCR anidada siguiendo el protocolo descrito en el 2003 por Weidmann y cols. (9). Para tal efecto se hizo una primera amplificación con los primers VZV1outhu, 5' CCC GCG GTG GAG ACG ACT T 3' y VZV2outhu, 5' ATT GCG GGG TTG GGT GAG C 3' que amplifican un fragmento de 694 pb. La segunda amplificación se hizo usando el amplicón de 694 pb como plantilla y usando los primers VZV3 inhu, 5' GCG GTG GAG ACG ACT TCAATA GCA 3' y VZV4 inhu, 5' TGG AGG AAG AGA CGT GGA GAC TGG 3' para amplificar un fragmento de 297 pb. Se usó como control positivo en la extracción de DNA y en la amplificación



**Figura 3.** Electroforesis de DNA en agarosa al 2 por ciento teñida con bromuro de etidio de los productos amplificados en la PCR nested para VVZ. El DNA fue extraído de tejidos embebidos en parafina (piel, pulmón, corazón, cerebro) mediante el método fenol-cloroformo. Carril 1, Marcador de peso molecular (100 pb). Carril 2, Control sin plantilla. Carril 3, Muestra de piel. Carril 4, Muestra de piel B débilmente positiva (pápulas). Carril 5, Muestra de pulmón. Carril 6, Muestra de corazón. Carril 7, Muestra de cerebro. Carril 8, Segunda muestra de piel. Carril 9, Muestra de pulmón. (*Ver anexo*)

el gen reportero GAPDH. En la recuperación de DNA se obtuvo adecuada cantidad en todas las muestras, pero solamente amplificó el control positivo (GAPDH) en las muestras de piel y pulmón. A partir de ellas se hizo la búsqueda del genoma viral, encontrándose un amplificado positivo del tamaño esperado (297 pb) en estas muestras (Figura 3). El fragmento obtenido se purificó y se secuenció (Macrogen Ltd.), la secuencia encontrada (GenBank Accession Number EF090731) se sometió a una búsqueda de homologías (Basic Local Alignment Search Tool, BLAST) y se encontró que tuvo una identidad del 100 por ciento con casi todas las cepas de VVZ reportadas en el GenBank.

### Discusión

Según los datos de vigilancia en salud para Bogotá, aproximadamente el 28 por ciento de los casos de varicela ocurren en adultos jóvenes (15-44 años), la mayoría de ellos sin complicaciones. En la literatura médica, se encuentran fre-

cientemente referencias a complicaciones neurológicas, cutáneas, articulares, oculares, cardíacas y hematológicas, pero la más frecuente y grave en los adultos es la neumonía (5). La incidencia se ha calculado entre el 10 y el 50 por ciento de todos los adultos con varicela y con una mortalidad del 10 al 30 por ciento en inmunocompetentes y hasta del 50 por ciento en pacientes inmunosuprimidos (10). La complicación respiratoria suele ocurrir a los 3-5 días después de iniciada la enfermedad, con presentación de tos seca, disnea y fiebre. Se ha considerado que son factores de riesgo para neumonía por VVZ el embarazo, edad avanzada, el hábito de fumar, enfermedad pulmonar obstructiva crónica y hemorragia en las lesiones dérmicas (7,11).

Los hallazgos histopatológicos en el pulmón fueron similares a los descritos en varicela: una reacción inmune, con neumonitis intersticial, con gran infiltrado de mononucleares incluso en la pared septal, destrucción del endotelio capilar,

hemorragias intra-alveolares y cambios inflamatorios en los alvéolos (8). Se puede plantear que los cambios de neumopatía crónica compatibles con el antecedente de consumo frecuente de bazuco facilitaron la implantación del virus en el tejido pulmonar previamente alterado. El caso descrito pone de presente el riesgo de neumonía como complicación de la infección por VVZ en adultos, que conlleva alta mortalidad, por su curso progresivo a síndrome de dificultad respiratoria del adulto y a falla multiorgánica, aun con adecuado manejo que incluye ventilación asistida, soporte hemodinámico, corticosteroides y terapia antiviral (aciclovir) por vía intravenosa.

No fue posible establecer el contacto inicial de contagio de la paciente; sin embargo, teniendo en cuenta el tiempo de incubación del virus, la fecha de ingreso a la institución, las manifestaciones clínicas y el informe del estudio de campo dentro de la cárcel, se descarta que su contagio haya sido al interior del sitio de reclusión. Aunque la información preliminar de la historia clínica y los hallazgos de la necropsia médico legal permitían establecer un caso probable de varicela con complicaciones respiratorias, solo después de las pruebas de laboratorio (PCR específica para VVZ y serología para IgM) se puede reportar como un caso confirmado de varicela.

La alta frecuencia de complicaciones en adultos durante la varicela, es un argumento mas para fomentar el uso de la vacuna en niños y adolescentes, los cuales podrían no tener contacto con el virus en su infancia y contagiarse en la adultez, causando graves cuadros clínicos e incluso la muerte. Los resultados presentados, ratifican la necesidad de garantizar el correcto manejo y archivo de tejidos y fluidos para pruebas especializadas de laboratorio que puedan fortalecer los diagnósticos sobre las causas de

muerte en los casos forenses procesados y especialmente la importancia de las pruebas moleculares a partir de tejidos archivados, pues se logró recuperar DNA de los bloques de tejidos impregnados en parafina y se pudo amplificar el material genético del VVZ usando iniciadores específicos.

#### Agradecimientos

A los Doctores Martha Camargo, Jorge González y Luis Fernando Arias Gómez del Instituto Nacional de Medicina legal y Ciencias Forenses y a la Doctora Verónica Rincón por su colaboración en la prueba de PCR anidada.

#### Financiación

El trabajo fue financiado por el Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses y por el Instituto de Virología, Universidad El Bosque.

#### Referencias

1. **Arvin AM.** Varicella-zoster virus. En: Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields Virology*. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001: 2731-2768.
2. **Miller E, Vurdien J, Farrington P.** Shift in age in chickenpox. *Lancet* 1993;341:308-9.
3. **Gregorakos L, Myriantefs P, Markou N, Chroni D, Sakagianni E.** Severity of illness and outcome in adult patients with primary varicella pneumonia. *Respiration* 2002;69:330-4.
4. **Mohsen AH, Peck RJ, Mason Z, Mattock L, McKendrick W.** Lung function tests and risk factors for pneumonia in adults with chickenpox. *Thorax* 2001;56:796-9.
5. **Lee S, Ito N, Inagaki T, Okajima T, Muramatsu A, Ito Y et al.** Fulminant varicella infection complicated with acute respiratory distress syndrome, and disseminated intravascular coagulation in immunocompetent young adult. *Int Med* 2004;43:1205-9.
6. **Locksley RM, Flournoy N, Sullivan K, Meyers JD.** Infection with varicella zoster virus after marrow transplantation. *J Infect Dis* 1985;152:1172-81.
7. **Mer M, Richards GA.** Corticosteroids in life-threa-



- tening varicella pneumonia. *Chest* 1998;114:426-31.
8. **Gogos CA, Bassaris HP, Vegenakis KG.** Varicella pneumonia in adults. A review of pulmonary manifestations, risk factors and treatment. *Respiration* 1992;59:339-43.
  9. **Weidmann M, Meyer-König U, Hufert FT.** Rapid Detection of Herpes Simplex Virus and Varicella-Zoster Virus Infections by Real-Time PCR. *J Clin Microbiol* 2003;41:1565-68.
  10. **De la Peña L, Izaguirre D, Aguirrebengoa K, Grande C, Montejo M.** Neumonía por varicella en el adulto: estudio de 22 casos. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2000;18: 493-5.
  11. **Baren JM, Henneman PL, Lewis RJ.** Primary varicella in adults: pneumonia, pregnancy and hospital admission. *Ann Emerg Med* 1996;28:165-9.