

Valor neuroinmunoepidemiológico del reibergrama en la primera epidemia de meningoencefalitis por echovirus 16 en Cuba

A.J. Dorta-Contreras^a, H. Reiber^d, M.E. Magraner-Tarrau^b, B. Weissbrick^e,
M.T. Interián-Morales^b, E. Noris-García^c, X. Escobar-Pérez^c, T. González-Hernández^b

NEUROIMMUNE EPIDEMIOLOGICAL VALUE OF REIBERGRAM IN THE FIRST ECHOVIRUS 16 MENINGOENCEPHALITIS OUTBREAK IN CUBA

Summary. Introduction. During the third quarter of 2000, an outbreak of echovirus 16 meningoencephalitis was firstly occurred in Cuba and produced vomiting, headache, fever and exanthem that differentiate it from other enterovirus epidemics. Objective. To describe the intrathecal immunoglobulin synthesis pattern of the epidemic from the reibergram. Patients and methods. Diagnostic serum and cerebrospinal fluid from 18 children during the acute phase by nephelometry assay, besides cytochemical and virological study. Results. A predominant absence of intrathecal immunoglobulin synthesis and two patients with IgA and IgM synthesis was produced. 66% of cerebrospinal-blood barrier dysfunction, 6.26×10^{-3} mean albumin ratio, lactate below 2.1 mmol/L and glucose concentration in cerebrospinal fluid was 50% over glucose blood content and 168 cells $\times 10^6$ L mainly lymphocytes were observed. Conclusions. The intrathecal immunoglobulin synthesis pattern differs from other enterovirus outbreaks that have affected this population and it seems the one found for the diagnostic period in adults. This finding alerts the possibility of genetic changes in echovirus 16 strain, interesting from the neuroinmunoepidemiological point of view. [REV NEUROL 2002; 35: 517-20]

Key words. Albumin. Barrier. Cerebrospinal fluid. Echovirus 16. Immunoglobulins. Intrathecal synthesis. Reibergrams.

INTRODUCCIÓN

Las epidemias de meningoencefalitis víricas constituyen un evento frecuente en todo el mundo, fundamentalmente en la población infantil.

En particular, Cuba ha hecho frente a diversas epidemias causadas por enterovirus, como las de echovirus 4 (1972 y 1985-86), coxsackievirus B₅ (1976 y 1995), coxsackievirus A₉ (1990-91), echovirus 30 (1994) y echovirus 9 (1999).

Cada una de ellas se ha caracterizado por desarrollar un patrón de síntesis intratecal propio, que la distingue a partir del reibergrama o gráfica de las razones de Reiber [1-3]. En ocasiones, este patrón se modifica casualmente acompañado de mutaciones del virus que la origina, por lo que esa identificación le ha dado un nuevo significado al reibergrama, que deviene en una herramienta epidemiológica [4].

En el año 2000 se produjo una epidemia de meningitis vírica de altas proporciones, que afectó fundamentalmente a los menores de 15 años y se propagó por todo el país [5]. El agente etiológico fue el echovirus 16.

El objetivo de este trabajo es descubrir el patrón típico de síntesis intratecal de esta epidemia, comunicada por primera vez en el país y que difiere de los patrones para otros virus.

PACIENTES Y MÉTODOS

Se tomaron muestras simultáneas de suero y líquido cefalorraquídeo (LCR) en el momento diagnóstico a 18 pacientes pediátricos con sospecha de meningoencefalitis vírica, en el mes de julio del 2000, durante la epidemia de meningoencefalitis vírica por echovirus 16.

El diagnóstico virológico se realizó en el Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí, de Ciudad de La Habana, y se corroboró en el Instituto de Virología e Inmunobiología de la Universidad de Würzburg, en Alemania, por los métodos virológicos convencionales. Las muestras se mantuvieron a -20°C hasta su utilización.

Se cuantificaron los niveles de IgA, IgM, IgG y albúmina en ambos líquidos biológicos, en un nefelómetro por ensayo amplificado de partículas de la firma Dade-Behring (Marburg, Alemania); también se cuantificó la concentración de proteínas totales en LCR.

Como parte del estudio, se cuantificó la glucosa y el lactato; la primera, en ambos líquidos biológicos, y el segundo, en LCR, así como el recuento celular y diferencial en la muestra obtenida por punción lumbar (PL).

RESULTADOS

En los reibergramas se analizan, de forma integrada, la funcionalidad de la barrera sangre-LCR y la síntesis intratecal de inmunoglobulinas, que, de forma separada, no lograrían tener un mayor impacto en el diagnóstico de algunas enfermedades asociadas a determinados patrones.

En la figura se muestra el reibergrama obtenido a partir de los perfiles de LCR de los pacientes estudiados.

Como puede apreciarse en esta epidemia, predominó la ausencia de síntesis intratecal de inmunoglobulinas en la fase aguda de la enfermedad, según la PL diagnóstica. Sin embargo, llama la atención que no hubo síntesis intratecal de IgG, pero en dos pacientes hubo síntesis simultánea de IgA e IgM (Tabla I).

En cuanto a la disfunción de la barrera sangre-LCR, la tabla II señala el predominio del aumento de la permeabilidad de esta barrera, de acuerdo con la edad de los pacientes, y toma en cuenta el valor de Q albúmina (Q_{Alb}) normal para los menores de 15 años, que debe ser menor o igual a 5×10^{-3} .

La media de la razón albúmina es de $6,26 \times 10^{-3}$ y el recorrido es de 2,8 a 10×10^{-3} . El valor de la media del número de células es de 168×10^6 L.

En todos los casos el lactato estuvo por debajo de 2,1 mmol/L y la glucoorraquia por encima del 50% del valor de la glicemia, lo que confirma el origen vírico con un franco predominio de linfocitos en el recuento diferencial de células en el LCR. La concentración proteica total media en el LCR fue de 0,659 g/L por encima del valor normal de hasta 0,5 g/L.

Recibido: 18.02.02. Recibido en versión revisada: 17.06.02. Aceptado: 21.06.02.

^a Laboratorio de Líquido Cefalorraquídeo. Facultad de Ciencias Médicas Dr. Miguel Enriquez. ^b Hospital Pediátrico San Miguel del Padrón. ^c Instituto Nacional de Oncología y Radiobiología. Ciudad de La Habana, Cuba. ^d Laboratorio de Neuroquímica. Clínica Neurológica. Universidad Göttingen. Göttingen. ^e Instituto de Virología e Inmunología. Universidad Würzburg. Würzburg, Alemania.

Correspondencia: Dr. Alberto Juan Dorta-Contreras. Laboratorio de Líquido Cefalorraquídeo. Facultad de Ciencias Médicas Dr. Miguel Enriquez. Apartado 10049. CP 11000 Ciudad de La Habana, Cuba. E-mail: adorta@infomed.sld.cu

© 2002, REVISTA DE NEUROLOGÍA

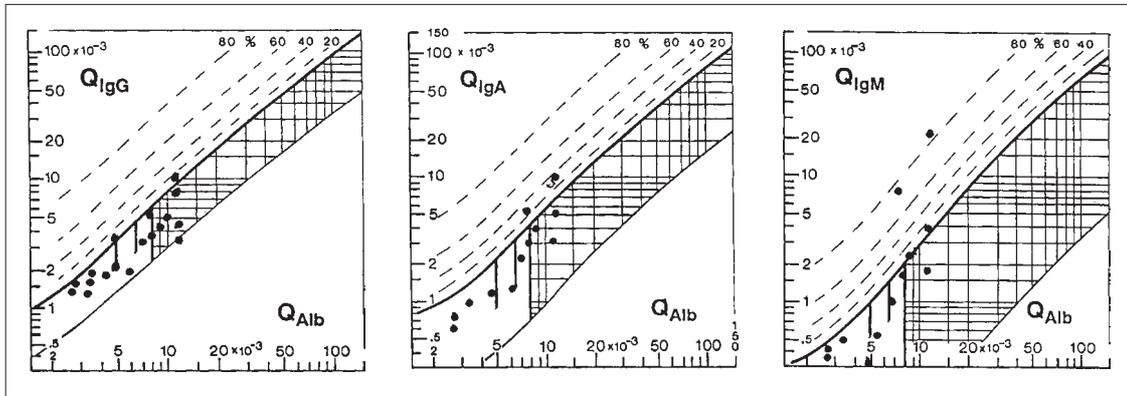


Figura. Reibergrama de la epidemia de echovirus 16. Nótese que predomina la ausencia de síntesis intratecal al caer los puntos por debajo de la curva hiperbólica más fuerte, que marca el límite de la producción local y la fracción procedente de la sangre.

DISCUSIÓN

Las primeras sospechas de que nos enfrentábamos a una epidemia de meningoencefalitis vírica, desconocida hasta el momento en Cuba, fueron las características clínicas de la enfermedad y el amplio espectro de edades pediátricas en que ocurría.

Además de las manifestaciones clínicas predominantes, como el vómito, el dolor de cabeza y la fiebre, en nuestra muestra también predominó el exantema. La capacidad del echovirus 16 de producir estas manifestaciones cutáneas se había comunicado con anterioridad [6,7].

En cuanto a la edad de los pacientes pediátricos afectados por la epidemia, podemos asegurar que la población infantil no estaba sensibilizada con el virus, aunque al analizar la epidemia en su totalidad se ha dicho que la distribución por edades sugiere una previa exposición e inmunidad en personas adultas a este virus o a otros virus antigénicamente relacionados [5].

En la bibliografía aparece otra epidemia relacionada con el echovirus 16; pero, en la misma se encontraron otros virus de forma concomitante, algunos de los cuales, como el coxsackievirus B₁, se representaba mejor en número que el que nos ocupa. Ello nos hace pensar que ésta sea la primera o una de las primeras comunicadas, y la primera donde se descubren los patrones de síntesis intratecal y las características de la barrera sangre-LCR, dadas ambas por el reibergrama.

El gráfico de las razones de Reiber o reibergrama [1,2] se basa en que las razones (Q) o cocientes de las concentraciones de IgA, IgM e IgG en LCR/suero se incrementan de forma no lineal con el aumento de la disfunción de la barrera sangre-LCR, es decir, que la selectividad dependiente del tamaño disminuye.

El reibergrama descarta, por primera vez, el viejo concepto de un solo valor de Q_{Alb} como forma de evaluar la funcionalidad de la barrera sangre-LCR; en su lugar, plantea que para cada individuo en una situación dada, existe un valor de referencia –en este caso un punto de la línea hiperbólica más fuerte que se observa en el reibergrama– por encima del cual se produce síntesis intratecal, independientemente de las condiciones de barrera.

Al tomar en cuenta las características de las leyes biofísicas de la difusión, la sensibilidad del reibergrama no disminuye para la detección de síntesis intratecal de inmunoglobulinas,

Tabla I. Patrones de síntesis intratecal de inmunoglobulinas según reibergrama.

Patrón	Frecuencia
No síntesis intratecal	16/18
IgA + IgM	2/18

Tabla II. Funcionalidad de la barrera sangre-LCR dada por la razón albúmina (Q_{Alb}).

Q _{Alb}	N.º de pacientes/total
≤ 5	6/18
> 5	12/18

aun cuando hay daño de la barrera. Esta limitación sí la poseen las fórmulas anteriores al reibergrama, e incluso los autores de las referidas fórmulas no recomendaban su uso en condiciones de daño de la barrera.

La Q_{Alb} es ampliamente aceptada como indicador de la barrera sangre-LCR, e incluye la velocidad de flujo del LCR. Un incremento de la albúmina en LCR siempre se debe a una disfunción de la barrera sangre-LCR, ya que la albúmina proviene exclusivamente de la sangre porque se sintetiza sólo en el hígado.

Del reibergrama, por tanto, podemos obtener valiosas informaciones: si al colocar en él los valores de Q_{Alb} y de Q_{Ig} observamos que está por encima de la línea más fuerte, indica que hay síntesis intratecal de la inmunoglobulina en cuestión. También ésta ofrece la posibilidad, por las líneas percentiles en líneas discontinuas, de conocer qué porcentaje de la inmunoglobulina que encontramos en el LCR se sintetiza localmente.

Existen intervalos normales de Q_{Alb} según la edad, para conocer el estado de la funcionalidad de la barrera sangre-LCR. Para favorecer esto, el reibergrama cuenta con tres líneas verticales más gruesas que marcan el valor normal límite superior de la permeabilidad de la barrera para menores de 15 años de edad (Q_{Alb} menor de 5), hasta 40 años (Q_{Alb} = 6,5) y hasta 60 años (Q_{Alb} = 8).

De forma individual, para la evaluación neuroinmunológica de un paciente el reibergrama pueda dar respuesta a preguntas clínicas que ayudan al diagnóstico clínico diferencial, mediante la identificación de sus patrones de síntesis intratecal de inmunoglobulinas y la comparación con enfermedades que posean patrones definidos. También permite descartar un diagnóstico por inconsistencia de los hallazgos, confirmar el microorganismo causante de un proceso inflamatorio a través del índice de anticuerpo, caracterizar precozmente un proceso crónico de tipo autoinmune, detectar tempranamente una infección posquirúrgica, monitorizar la eficacia del tratamiento empleado y el curso de la enfermedad, entre otros [2,3].

En enfermedades víricas del SNC, la síntesis intratecal de inmunoglobulinas demostrada a través del reibergrama, además de las ventajas anteriores, permite, por ejemplo, detectar si hay un predominio de síntesis de IgG con IgA menor del 20% e IgM menor del 50%, dirigir nuestro diagnóstico hacia una encefalitis por herpes simple o hacia una encefalitis crónica por VIH. Si hubiera una reacción de tres clases de inmunoglobulinas, IgG+IgA+IgM, podría tratarse de una meningoencefalitis posparotiditis [3].

Desde el punto de vista epidemiológico [4], permite la comparación entre la 'huella dactilar' que dejan los reibergramas de una epidemia y su comparación con otras epidemias del propio virus o de los casos registrados entre epidemias. Si se produce un cambio sustancial de las frecuencias de los patrones de sín-

tesis o son distintos, pueden existir modificaciones estructurales del virus, que revisten importancia epidemiológica y clínica.

A diferencia notable de otros enterovirus, el echovirus 16 no promueve la síntesis intratecal de inmunoglobulinas en la población infantil, como sucede para el echovirus 4 [8], el coxsackievirus B₃ [9] y el coxsackievirus A₉ [10].

Por otro lado, la epidemia de echovirus 6 [11] muestra algunos puntos de contacto con el patrón que exponemos, al existir casos con ausencia de síntesis intratecal; se diferencia en que en esa epidemia predominó la ausencia de síntesis de IgM y casi de IgA y con síntesis de IgG.

En la epidemia de echovirus 16 no hubo síntesis de IgG en ningún caso, y sólo en uno de ellos hubo síntesis combinada de IgA e IgM.

En general, el patrón de síntesis intratecal se parece más al comunicado para la meningoencefalitis vírica del adulto [12].

En cuanto a la disfunción de la barrera sangre-LCR, existió un marcado predominio de pacientes afectados, lo que se corresponde con lo comunicado clásicamente para las meningoencefalitis víricas [13].

La existencia de este virus productor de epidemia de meningoencefalitis de forma emergente alerta sobre la posibilidad de que el virus sufra modificaciones genéticas, por lo que sería de indudable interés neuroinmunoepidemiológico relacionar el reibergrama obtenido con el de aquellos casos esporádicos o con el de otros brotes epidémicos que ocurran en el futuro.

BIBLIOGRAFÍA

- Dorta-Contreras AJ. Reibergrama: elemento esencial en el análisis inmunológico del líquido cefalorraquídeo. *Rev Neurol* 1999; 28: 996-8.
- Reiber H. Cerebrospinal fluid-physiology, analysis and interpretation of protein patterns for diagnosis of neurological diseases. *Mult Scler* 1998; 4: 99-107.
- Reiber H, Peter JB. Cerebrospinal fluid analysis: disease-related data patterns and evaluation programs. *J Neurol Sci* 2000; 184: 101-22.
- Dorta-Contreras AJ. Reibergrama como herramienta epidemiológica: nuevo enfoque. *Rev Neurol* 2001; 33: 36-40.
- Sarmiento L, Más P, Goyenechea A, Palomera R, Morier L, Capo V, et al. First epidemic of echovirus 16 meningitis in Cuba. *Emerg Infect Dis* 2001; 7: 887-9.
- Morens DM. Boston exanthem agent: echovirus 16. *Am J Dis Child* 1977; 131: 1306.
- Hall CB, Cherry JD, Hatch MH, Nelson DB, Winter HS. The return of Boston exanthem. Echovirus 16 infectious in 1974. *Am J Dis Child* 1977; 131: 323-6.
- Dorta-Contreras AJ, Ferrá-Valdés M, Torres-Romo U, Bú-Coifú-Fanego R, García-Fernández L, Gil-Chaviano M. Local synthesis of immunoglobulins in meningoencephalitis. In Felgenhauer K, Holzgraefe M, Prange HW, eds. *CNS barriers and modern CSF diagnosis*. Weinheim: VCH-Verlag; 1993. p. 396-9.
- Dorta-Contreras AJ, Agüero-Valdés E, Escobar-Pérez X, Noris-García E, Ferrá-Valdés M. Respuesta inmune humoral intratecal en pacientes pediátricos con meningoencefalitis por coxsackie B₅. *Rev Neurol* 1999; 28: 739-41.
- Dorta-Contreras AJ, Reiber H, Lewczuk P, Noris-García E, Escobar-Pérez X, Bú-Coifú-Fanego R, et al. Patrones de síntesis de inmunoglobulinas en pacientes pediátricos con meningoencefalitis por *Coxsackie A₉* durante la epidemia de neuropatía en Cuba. *Rev Neurol* 2000; 30: 716-8.
- Dorta-Contreras AJ. Intrathecal synthesis of immunoglobulins in *Neisseria meningitidis* and echovirus 6 meningoencephalitis. *J Mol Neurosci* 1999; 12: 739-41.
- Reiber H, Otto M, Trendelenburg C, Wormek A. Reporting cerebrospinal fluid data: knowledge base and interpretation software. *Clin Chem Lab Med* 2001; 39: 324-32.
- Felgenhauer K. Laboratory diagnosis of neurological diseases. In Thomas L, ed. *Clinical Laboratory Diagnostics*. Frankfurt Main: TH Books Verlag; 1998. p. 1308-26.

VALOR NEUROIMMUNOEPIDEMIOLÓGICO DEL REIBERGRAMA EN LA PRIMERA EPIDEMIA DE MENINGOENCEFALITIS POR ECHOVIRUS 16 EN CUBA

Resumen. Introducción. En el tercer trimestre del 2000 se produce una epidemia de meningoencefalitis por echovirus 16 en Cuba, caracterizada por vómitos, dolor de cabeza, fiebre, además del exantema, que la diferencia de otras epidemias por enterovirus. Objetivo. Describir el patrón de síntesis intratecal de inmunoglobulinas en esta epidemia a partir del reibergrama. Pacientes y métodos. Se estudiaron 18 niños, a los que se les cuantificó albúmina, IgA, IgM e IgG en suero y líquido cefalorraquídeo (LCR), diagnósticos en la fase aguda por nefelometría, además del estudio citoquímico y virológico. Resultados. Hubo un predominio de ausencia de síntesis intratecal de inmunoglobulinas y dos pacientes con síntesis de IgA e IgM, con un 66% de disfunción de la barrera sangre/LCR, $6,26 \times 10^{-3}$ de razón albúmina promedio, valores de lactato menores de 2,1 mmol/L y la glucorraquia por

VALOR NEUROIMMUNOEPIDEMIOLÓGICO DO REIBERGRAMA NA PRIMEIRA EPIDEMIA DE MENINGOENCEFALITE POR ECHOVÍRUS 16 EM CUBA

Resumo. Introdução. No terceiro trimestre de 2000 produziu-se em Cuba uma epidemia de meningoencefalite por ecovírus 16, caracterizada por vómitos, dor de cabeça, febre, para além do exantema, que a diferencia de outras epidemias por enterovírus. Objectivo. Descrever o padrão de síntese intratecal de imunoglobulinas nesta epidemia a partir do reibergrama. Doentes e métodos. Estudaram-se 18 crianças, nas quais se quantificaram albúmina, IgA, IgM e IgG no soro e no líquido cefalorraquidiano (LCR), diagnóstico na fase aguda por nefelometria, para além do estudo citoquímico e virológico. Resultados. Houve um predomínio de ausência de síntese intratecal de imunoglobulinas e dois doentes com síntese de IgA e IgM, com 66% de disfunção da barreira sangue/LCR, $6,26 \times 10^{-3}$ de razão albumina média, valores de lactato inferiores a 2,1 mmol/L e glicorraquia superior a 50%

encima del 50% del valor de la glicemia, $168 \text{ células} \times 10^6 \text{ L}$ promedio, fundamentalmente linfocitos. Conclusiones. El patrón de síntesis intratecal difiere de los comunicados para otros enterovirus que han afectado esta población y se asemeja al encontrado en el período diagnóstico en adultos, lo que rompe la posibilidad de cambios genéticos en la cepa de echovirus 16 de interés neuroinmunoepidemiológico. [REV NEUROL 2002; 35: 517-20]
Palabras clave. Albumina. Barrera. Echovirus 16. Inmunoglobulinas. Líquido cefalorraquídeo. Reibergramas. Síntesis intratecal.

do valor da glicemia, média de $168 \text{ células} \times 10^6 \text{ L}$, predominantemente linfócitos. Conclusões. O padrão de síntese intratecal difere dos comunicados para outros enterovirus que afectaram esta população e assemelha-se ao encontrado no período de diagnóstico em adultos, o que quebra a possibilidade de alterações genéticas na estirpe do ecovirus 16 de interesse neuroimunoepidemiológico. [REV NEUROL 2002; 35: 517-20]
Palavras chave. Albumina. Barreira. Ecovirus 16. Inmunoglobulinas. Líquido cefalorraquidiano. Reibergramas. Síntese intratecal.