

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE FARMACIA

Ponente: Sr. Dr.

TRIBUNAL

Presidente: Sr. Dr. Miguel Sánchez Posier

Vocal: Sr. Dr. Antonio Riquelme Torres

Vocal: Sr. Dr. Francisco Serrano Ganza

Vocal: Sr. Dr. Zenacio Galero Bosch

Secretario: Sr. Dr. Isabel Couv Bovecla

CARACTERIZACION DEL VIRUS VARICELA-ZOSTER COMO AGENTE CAUSAL DE MENINGITIS LINFOCITARIA AGUDA NO EPIDEMICA Y DEFINICION DE CRITERIOS PARA SU DIAGNOSTICO EN EL LABORATORIO

Memoria presentada por el licenciado D. José Manuel Echevarría Mayo para optar al Grado de Doctor en Farmacia.

Trabajo realizado bajo la dirección del Dr. D. Enrique TABARES LOPEZ.

A mis padres.

A Pilar, amiga y  
compañera en todo.

A Emilio.

A Rafael, que me  
enseñó mucho.

"..... Soy capaz de imaginar formas de servidumbre peores que las nuestras, por más insidiosas, sea que se logre transformar a los hombres en máquinas estúpidas y satisfechas, creídas en su libertad en pleno sometimiento, sea que, suprimiendo los ocios y los placeres humanos, se fomente en ellos un gusto por el trabajo tan violento como la pasión de la guerra entre las razas bárbaras. A esta servidumbre del espíritu o la imaginación, prefiero nuestra esclavitud de hecho."

Marquerite Yourcenar en boca de Adriano Augusto, Emperador de Roma.  
"Memorias de Adriano", p. 127. Edhasa, 1982, 1986.

No existe mayor desgracia para el hombre que la incapacidad para disfrutar de todas y cada una de las facetas de la vida.

## AGRADECIMIENTOS

Mi trabajo en el Centro Nacional de Microbiología, Virología e Inmunología Sanitarias comenzó en el mes de Enero del año 1975, cuando todavía era alumno de quinto curso de Licenciatura. Allí aprendí lo que es un virus y lo que es una infección; pero, sobre todo, aprendí a ser útil como profesional a las personas que padecen sus consecuencias. Mi mayor agradecimiento es para todos los compañeros que me han acompañado en este aprendizaje, tanto los que me enseñaron a mí como los que aprendieron junto a mí o de mí, ya que de todos aprendí cosas útiles.

Muy especialmente quiero agradecer la paciencia y el compañerismo de los que han trabajado más cerca de mí a lo largo de estos veinte años, primero en el Servicio de Virus Respiratorios y Exantemáticos, luego en el de Virología y más tarde en los de Microbiología Diagnóstica y Orientación Diagnóstica. Todos ellos, en mayor o menor grado, vivieron conmigo la historia que se cuenta a continuación y me ayudaron, de alguna manera, a darle forma. Así mismo, la ayuda de mi amigo Enrique Tabarés, Director de esta Tesis, que aceptó ser garantía de objetividad en su relato e interpretación.

Hoy por hoy, muy pocos trabajos de investigación son fruto de un esfuerzo individual: Rafael Nájera, Fernando de Ory, Pilar León, Antonio Tenorio, Alicia Téllez, Carlos Domingo, Alfredo García Sáiz y Alvaro Lozano participaron activamente conmigo en el desarrollo de las metodologías y conceptos que conforman este trabajo. Inmaculada Casas participó especialmente en la obtención de los últimos resultados, me afianzó en la grata tarea de dirigir a un becario y me proporcionó la enorme satisfacción de abordar con éxito el desarrollo de otras ideas que surgieron de este trabajo y que yo ya no podía llevar adelante por mí mismo. Todo el personal auxiliar relacionado con el diagnóstico virológico en el Centro puso, en algún momento, su trabajo en este estudio. Por último, una larga lista de profesionales de la Medicina, repartidos en muchos hospitales españoles, aportaron las muestras y los datos clínicos necesarios. Entre ellos, destaca especialmente mi amigo Pablo Martínez Martín, por su poco común entusiasmo y dedicación. Mi más profundo agradecimiento a todos.

Mi vinculación con la Universidad Complutense ha sido a través del Departamento de Microbiología de la Facultad de Farmacia. Agradezco mucho al Profesor D. César Nombela Cano, Director del Departamento y Tutor de esta Tesis Doctoral, su apoyo, comprensión y participación.

Por último, resaltar que nadie realiza un trabajo de provecho sin el apoyo de los suyos. Gracias, por tanto, a mis padres y hermanos, que modelaron mi inteligencia y mi espíritu, a Pilar, mi esposa y compañera de trabajo y a nuestro hijo Emilio, un proyecto de ingeniero que, a fuerza de oír hablar de los virus en casa, conoce de ellos mucho más que la media de la población.

En Majadahonda, a catorce de Febrero de mil novecientos noventa y cinco.

---

**INDICE****1. INTRODUCCION**

1.1. Características generales del virus Varicela-zóster (VVZ) .....	8
1.2. Patogenia de la infección por virus Herpes neurotropos .....	11
1.3. Manifestaciones clínicas de la infección por VVZ	
1.3.1. Infección primaria .....	17
1.3.2. Recrudescencia .....	18
1.3.3. Manifestaciones neurológicas. Meningitis linfocitaria aguda (MLA) .....	20
1.4. Diagnóstico de laboratorio de la infección por VVZ	
1.4.1. Diagnóstico por aislamiento del virus .....	23
1.4.2. Diagnóstico serológico .....	24
1.5. Diagnóstico etiológico de las infecciones víricas del sistema nervioso central	
1.5.1. Detección de virus en parénquima cerebral y líquido cefalorraquídeo .....	27
1.5.2. Detección de anticuerpos de producción intratecal ...	31
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>37</b>
<b>3. MATERIALES Y METODOS</b>	
3.1. Pacientes y muestras .....	38
3.2. Aislamiento e identificación de virus .....	40
3.3. Determinación de anticuerpos específicos .....	41
3.4. Análisis de la producción intratecal de anticuerpos específicos .....	45
3.5. Detección de ADN viral en LCR mediante PCR .....	47

3.6. Métodos de análisis estadístico de significación de resultados .....	50
<b>4. RESULTADOS</b>	
4.1. Niveles de anticuerpos en las infecciones primarias y recurrentes .....	51
4.2. Análisis de la producción intratecal de anticuerpos específicos en pacientes con MLA causada por el virus de la parotiditis .....	59
4.3. Marcadores de infección en pacientes con MLA y sospecha de infección por VVZ	
4.3.1. Detección de virus en líquido cefalorraquídeo .....	61
4.3.2. Respuesta de anticuerpos en suero .....	63
4.3.3. Producción intratecal de anticuerpos .....	66
<b>5. DISCUSION</b>	
5.1. Criterios de diagnóstico serológico en las infecciones por VVZ .....	74
5.2. Criterios para la identificación de anticuerpos de producción intratecal en las MLA .....	75
5.3. Implicación del VVZ como agente causal de los cuadros de MLA estudiados .....	80
5.4. MLA por VVZ en ausencia de lesiones cutáneas .....	83
5.5. Papel del VVZ en el contexto de las MLA .....	86
5.6. Patogenia de las manifestaciones neurológicas de la infección por VVZ .....	87
<b>6. CONCLUSIONES</b> .....	96
<b>7. BIBLIOGRAFIA</b> .....	98
<b>8. ANEXO I. RESULTADOS INDIVIDUALIZADOS EN LOS PACIENTES DE LOS GRUPOS CONTROL</b>	
<b>9. ANEXO II. FICHAS INDIVIDUALIZADAS DE RESULTADOS EN LOS 22 PACIENTES COM MLA Y SOSPECHA DE INFECCION POR VVZ</b>	
<b>10. APENDICE. PUBLICACIONES REALIZADAS</b>	

## **1. INTRODUCCION**

### **1.1. Características generales del virus Varicela-zoster.**

El virus Varicela-zóster (VVZ) es un miembro de la familia Herpesviridae, encuadrado dentro de la subfamilia alfa herpesvirinae, género Varicellovirus y recibe oficialmente el nombre de Herpesvirus humano 3 (VHH3) [ver Roizman, 1992 para revisión]. Se trata, pues, de un virus Herpes humano neurotrófico, que comparte muchas propiedades con los virus Herpes simplex (VHS) tipos 1 y 2 (VHS1, VHS2), sus compañeros de subfamilia que infectan al hombre. Su nombre vulgar hace referencia a las dos enfermedades típicamente asociadas a él: la varicela, expresión clínica habitual en la infección primaria, y el herpes zóster (herpes en cinturón), que se asocia a las recurrencias. La primera fue separada de la viruela a finales del siglo XVIII, en tanto que la segunda fue asociada al mismo agente productor de la varicela por von Bókay en 1888, en base a observaciones epidemiológicas, y definitivamente asignada a dicho agente tras los experimentos de transmisión a voluntarios de Kundraitz, en 1925, y Bruusgaard, en 1932. El VVZ no fue, sin embargo, aislado en el laboratorio hasta 1952, momento en el que Weller y Stoddard utilizaron células embrionarias humanas para recuperar el agente a partir de líquidos vesiculares de pacientes con varicela y zóster, y demostraron la identidad de los virus aislados de ambas fuentes.

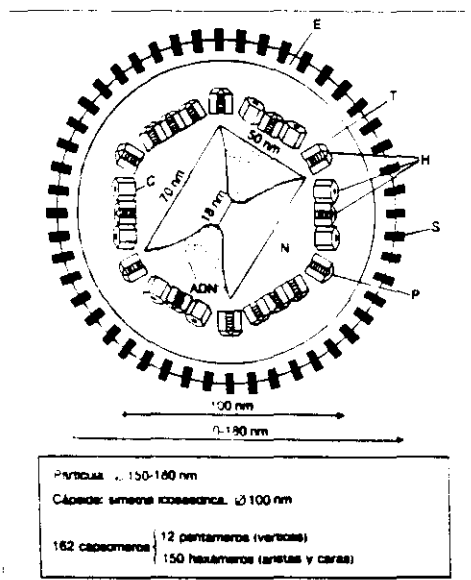
La estructura del virión del VVZ es asimilable a la del resto de



los miembros de la familia, y puede quedar reflejada en la Figura 1, que muestra la topología de la partícula de los VHS. Su genoma consiste en un ADN lineal de doble cadena de 125 kbp y un contenido en G+C del 46%, con dos regiones únicas definidas por una repetición terminal y una inversión interna de dicha repetición, lo que permite la existencia de dos formas isómeras, en función de la orientación de la región única corta respecto a la región única larga. Los mecanismos de replicación de VVZ son, en líneas generales, similares a los que rigen la replicación de los VHS, que se esquematizan en la Figura 2. La infección productiva de células susceptibles determina la muerte de las mismas.

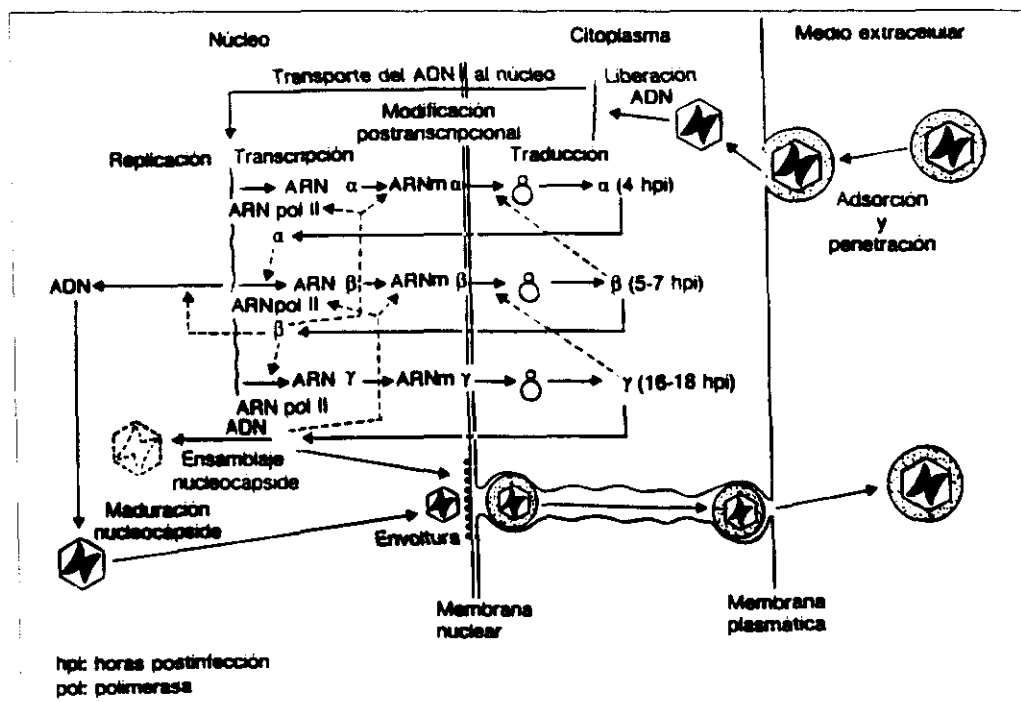
Aunque se producen ocasionalmente infecciones por VVZ en primates que tienen contacto habitual con el hombre, la especie humana constituye el único huésped natural de este virus. La infección suele adquirirse durante la infancia en todas las regiones del globo y afecta a la inmensa mayoría de la población, dando lugar, en general, a inmunidad duradera frente a la reinfección. Las graves consecuencias que puede tener la primoinfección en pacientes con deficiencias en la inmunidad celular han llevado a la preparación de una vacuna de virus vivo atenuado (cepa Okka), indicada para uso en dichos pacientes. En la actualidad, se está ensayando la eficacia de la acicloguanosina (Acyclovir) en la prevención y tratamiento de las infecciones por VVZ en individuos inmunodeprimidos en riesgo.

Figura 1. Topología del virión de los VHS. Se presenta un corte longitudinal de la partícula.



C: cápside; N: nucleóide; T: tegumento; E: envuelta;  
P: pentámeros; H: hexámeros; S: espículas de glicoproteína.

Figura 2. Esquema del ciclo de replicación de los VHS.



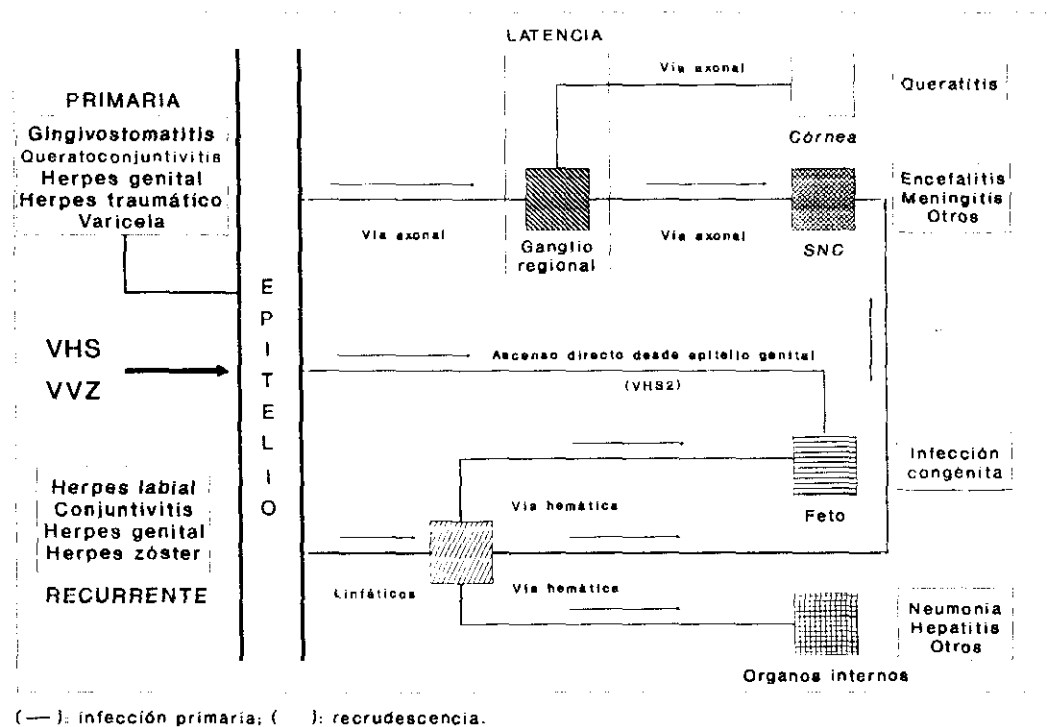
## 2.2. Patogenia de la infección por virus herpes neurotropos.

La latencia es una propiedad característica, aunque no exclusiva, de los virus Herpes. Dicha propiedad consiste en su capacidad para persistir en el huésped tras la primoinfección a través del establecimiento de infecciones no productivas en ciertas células, lo que les permite escapar a los mecanismos de eliminación inmune. La latencia es, por definición, reversible, de forma que el virus latente puede entrar, bajo ciertas condiciones, en un ciclo de replicación completa, con producción de partículas y muerte de la célula infectada, originando el fenómeno conocido como **recurrencia**. La recurrencia puede ser controlada por el sistema inmune a este nivel o, por el contrario, seguirse de diseminación del virus a otro u otros tejidos. Cuando dicha diseminación supone la aparición de lesiones tisulares como consecuencia de la replicación del virus, la situación se conoce como **recrudescencia** de la infección herpética. Cualquier otra lesión que se produzca como consecuencia de una nueva diseminación del virus desde el lugar en que se manifiesta la recrudescencia se considera una **complicación de la recrudescencia**, y supone la participación de factores adicionales que condicionen el curso de la misma. En términos generales, válidos para todos los virus Herpes humanos, se acepta que la recurrencia sólo esta sujeta a los propios fenómenos que gobiernan la relación virus-célula durante la latencia y a la influencia que puedan tener ciertos factores presentes en el entorno de la célula que alberga el virus latente en la modificación de dichos fenómenos. Por el contrario, la

recrudescencia y sus complicaciones van a depender, fundamentalmente, de la capacidad de la inmunidad celular específica para controlar la recurrencia en sus fases tempranas. Quiere esto decir que recurrencia y recrudescencia son fenómenos secuenciales, relacionados pero no idénticos, de forma que se puede producir el primero sin que obligatoriamente se siga del segundo. Por ello, las recrudescencias herpéticas son características, aunque no se puede decir que exclusivas, de individuos con deficiencias en la inmunidad celular, sea a nivel general o en lo que afecta específicamente al virus considerado.

Los virus Herpes neurotropos establecen latencia en células del sistema nervioso. Los ganglios sensitivos regionales que inervan el tejido en el que el virus replica más abundantemente durante la primoinfección son el lugar preferente, aunque quizás no único, para albergar dicha latencia. Los virus Herpes humanos neurotropos producen infecciones mucocutáneas asociadas a la primoinfección (gingivoestomatitis, herpes cutáneo primario, herpes genital, varicela), con abundante replicación de virus en piel y/o mucosa oral o genital. Por ello, los ganglios trigémino y sacro son los lugares preferentes para la latencia de los VHS [Hill, 1985], mientras que el VVZ puede quedar latente en distintos ganglios dorsales [Gilden et al., 1983; Takayama et al., 1988; Mahalingam et al., 1990], ya que las lesiones cutáneas de la varicela son generalizadas. La Figura 3 presenta en esquema la patogenia de la infección por cualquiera de estos virus. Se ha comprobado que la llegada del virus a las neuronas del ganglio

Figura 3. Patogenia de las infecciones primarias y recurrentes por virus Herpes humanos neurotropos.



sensitivo regional, que son las células que dan soporte a la latencia, tiene lugar directamente desde el epitelio infectado a través de los axones, merced a un transporte axonal de nucleocápsides desnudas similar al que se produce con ciertas macromoléculas [Simmons y Nash, 1984]. Además, se ha demostrado experimentalmente en ratas que el VHS1 puede ser transferido por este mecanismo desde los ganglios regionales a la médula espinal y tronco cerebral, por lo que no se puede descartar que existan otros lugares de latencia dentro del sistema nervioso central (SNC) [Ugolini et al., 1989]. Las neuronas infectadas del ganglio regional son, pues, la fuente de virus para la recurrencia y la recrudescencia en piel y mucosas (herpes labial, herpes genital recurrente, herpes zóster), que tiene lugar tras la llegada, vía axonal centrífuga, de las nucleocápsides infecciosas fruto de la recurrencia en el ganglio, la infección de células susceptibles y su replicación en ellas. Por último, se sabe que el VHS1 puede seguir, tras su recurrencia en el trigémino, una vía de transporte axonal ascendente hacia el lóbulo temporal del encéfalo, pudiendo producir allí un foco de infección productiva con destrucción de tejido y originar cuadros de encefalitis muy típicos que se conocen como encefalitis herpética.

La naturaleza de las interacciones virus-neurona que permiten el mantenimiento de la infección latente está, aún, lejos de ser bien comprendida. El genoma viral reside en el citoplasma de la célula en forma episomal, sin que se produzca expresión detectable de antígenos víricos. El factor alfa-TIF, fundamental

para la transcripción de los genes virales tempranos, no se expresa en las neuronas [Sears et al., 1991], lo que puede ser clave para mantener la latencia. Además, parece que el ADN viral transcribe unos fragmentos de ARN (transcritos asociados a latencia, LATs) parcialmente complementarios de la unidad de transcripción ICP0, lo que bloquearía la traducción de mensajeros de proteínas tempranas por formación de moléculas parcialmente bicatenarias [Krause et al., 1988; Steiner et al., 1988; Spivack et al., 1991]. No obstante, se ha comprobado que ciertos mutantes defectivos en la síntesis de LATs funcionales son capaces de establecer latencia, por lo que este mecanismo no parece ser único ni esencial para el establecimiento y mantenimiento de la misma [Javier et al., 1988].

Se sabe que la recrudescencia de la infección latente por virus Herpes neurotropos puede inducirse por estímulos muy dispares, tales como cambios hormonales (menstruación), estrés psicológico, exposición de la piel al sol o a frío intenso, fiebre, etc. Aunque se ha especulado con la posibilidad de que estos estímulos influyan directamente sobre la supresión de los factores que mantienen la latencia [García Blanco y Cullen, 1991], no se puede descartar que la recurrencia sea un fenómeno frecuente e independiente de ellos, y que dichos factores sólo afecten a fases posteriores, en las que los mecanismos de eliminación inmune precoz son fundamentales [Hope-Simpson, 1965; Burke et al., 1982]. En apoyo de esto, conviene destacar que la encefalitis herpética se produce con igual frecuencia en

individuos inmunocompetentes o inmunodeprimidos y no se asocia a los estímulos mencionados, a diferencia de lo que sucede en las recrudescencias en piel o mucosas.

La encefalitis herpética es el único síndrome del SNC producido por virus Herpes en el hombre que se admite como derivado directamente de la recurrencia herpética y que rara vez se asocia a lesiones cutáneas. La meningitis linfocitaria aguda (MLA) producida por VHS2 se considera una complicación de la recrudescencia en mucosa genital, en la que el virus alcanza las meninges por diseminación por vía hemática, debido a un control defectuoso de la infección genital. La encefalitis post-varicela es una complicación de la primoinfección por el VVZ que no responde a la invasión del SNC por el virus, sino a un fenómeno inmunopatológico de tipo alérgico [Appelbaum et al., 1953]. Así mismo, otros síndromes que suponen infección de órganos internos (neumonía por VVZ o VHS, hepatitis por VHS) se consideran complicaciones de la primoinfección o la recrudescencia y suceden casi exclusivamente en pacientes con compromiso general de la inmunidad celular.

Así pues, la primoinfección por virus Herpes neurotropos en el hombre origina la infección de algunas neuronas de los ganglios sensitivos en las que estos virus permanecen en estado latente, merced a fenómenos de interacción virus-célula aún no del todo aclarados. Quizás con frecuencia, el virus latente se reactiva para producir una recurrencia hacia el dermatoma inervado por el



ganglio, pudiendo producir una lesión cutánea característica sólo cuando fallan los mecanismos de control inmune o cuando inciden factores externos que facilitan su replicación. En situaciones de especial compromiso de la inmunidad celular, la recrudescencia puede seguirse de diseminación sistémica del virus con implicación de órganos internos. Por último, en contadas ocasiones la recurrencia puede hacer llegar, por vía axonal ascendente, virus infeccioso al parénquima cerebral y originar cuadros de encefalitis focal, independientemente de la competencia inmunológica del paciente o de cualquier factor ambiental.

### **1.3. Manifestaciones clínicas de la infección por VVZ.**

#### **1.3.1. Infección primaria.**

La infección primaria por VVZ es típica de la infancia, afecta a la inmensa mayoría de la población humana y se sigue habitualmente de un cuadro de exantema vesicular generalizado que se conoce como **varicela**. De acuerdo al modelo patogénico establecido por Fenner para los exantemas víricos agudos [Fenner, 1948], el virus penetra por vía respiratoria, replica en células epiteliales de la mucosa faríngea y se extiende hasta los órganos diana (hígado y bazo) por vía hemática (viremia primaria) desde los ganglios linfáticos regionales. La replicación en hígado y bazo genera gran cantidad de viriones infecciosos que pasan a torrente circulatorio (viremia secundaria), alcanzan la piel e infectan las células epiteliales de la epidermis después de

replicar en el endotelio de los capilares. Como consecuencia, se produce un edema extracelular con separación de la epidermis (acantolisis) y aparición de vesículas con líquido claro, en el que se pueden detectar altas concentraciones de viriones infecciosos. La inmunidad celular específica y la producción de interferón, que previene la diseminación del virus a las células adyacentes no infectadas y activa las células asesinas naturales, eliminan las células infectadas, mientras que los anticuerpos neutralizantes dirigidos contra epítopos de las glicoproteínas de superficie neutralizan el virus circulante y contribuyen a su aclarado. La respuesta inmune conduce a la eliminación espontánea de la infección y, en ausencia de sobreinfección bacteriana, las lesiones cutáneas se resuelven sin dejar señal. Los pacientes con deficiencias profundas en la inmunidad celular (especialmente, los niños leucémicos) pueden no controlar adecuadamente el proceso y sufrir una infección diseminada (varicela diseminada) que puede acompañarse de neumonía o de invasión del SNC (encefalitis post-varicela por inmunodepresión, EVI). La inmunidad residual (IgG específica circulante y células de memoria) confiere protección contra el desarrollo de enfermedad en caso de reinfección, aunque se ha demostrado que existen tanto la reinfección asintomática [Arvin et al., 1983] como con sintomatología [Gershon et al., 1984].

### **1.3.2. Recrudescencia.**

Como ya se ha comentado antes, una vez establecida la infección cutánea el VVZ alcanza uno o varios ganglios nerviosos dorsales

y establece latencia en ellos. La frecuencia de las recrudescencias aumenta con la edad [Ragozzino et al., 1982], se liga a situaciones de inmunodepresión y produce una lesión cutánea típica, histológicamente similar a las de la varicela, que se caracteriza por la aparición de un rosario de vesículas que siguen la trayectoria de un dermatoma y se conoce como **herpes zóster** (herpes en cinturón). A excepción del zóster oftálmico, el herpes zóster es una enfermedad autolimitada que no reviste gravedad para el paciente inmunocompetente. Sin embargo, en el inmunodeprimido la recrudescencia puede derivar en una infección diseminada (zóster generalizado) y presentar las mismas complicaciones ya comentadas para la varicela diseminada. A diferencia de lo que ocurre con el VHS1, no se han descrito casos de encefalitis focal por VVZ debidos a recurrencia ascendente hacia el parénquima cerebral que se asemejen a la encefalitis herpética, aunque, como veremos a continuación, la encefalitis se cuenta entre las complicaciones del zóster cutáneo. Por último, existe una entidad clínica denominada "zoster sine herpete" (zóster sin vesículas) que podría ser reflejo de recrudescencia hacia piel sin producción de vesículas, pero con síntomas de irritación de las terminaciones nerviosas sensitivas en el dermatoma [Easton, 1970; Gilden et al, 1992]. En cualquier caso, no se puede descartar que existan recurrencias hacia piel que sean controladas por el huésped antes de que se produzca ningún síntoma, siguiendo la idea de que la recurrencia del VVZ y la aparición del zóster son "dos fenómenos separados, aunque relacionados" [Gershon, 1982].

### 1.3.3. Manifestaciones neurológicas. Meningitis linfocitaria aguda.

En el individuo inmunocompetente, las complicaciones más importantes y frecuentes de la varicela y el zóster son las que afectan al sistema nervioso. La encefalitis post-varicela no implica invasión del SNC por el virus, sino que responde a destrucción de tejido mediada por una respuesta inmune anormal que sigue el patrón de un fenómeno alérgico similar al que origina la encefalitis post-sarampión. Se han descrito algunos casos de encefalitis pre-eruptiva, en los que los síntomas neurológicos preceden en 8-11 días la aparición del exantema. Se piensa que estos infrecuentes casos responden a invasión del SNC por virus procedente directamente de su replicación en el epitelio de entrada, precediendo a, o coincidiendo con, la viremia primaria [Maguire y Meissner, 1985]. Asociados a herpes zóster, se han descrito cuadros de encefalitis, meningoencefalitis, neuralgia post-herpética, cerebelitis, vasculitis intracraneal, parálisis de Bell y síndrome de Ramsay-Hunt, como complicaciones más frecuentes [McKendall y Klawans, 1978; Jemsek et al., 1983; Straus et al., 1988]. La aparición de los síntomas en días posteriores al zóster cutáneo ha llevado a interpretar todos estos síndromes como complicaciones de la recrudescencia, interpretación que vendría avalada por el hecho de que la pleocitosis del líquido cefalorraquídeo (LCR) es frecuente entre los pacientes con zóster, pudiéndose incluso demostrar la presencia del virus en el LCR en ausencia de signos de irritación meníngea [Gold, 1966]. Las descripciones de cuadros neurológicos atribuibles al VVZ en ausencia de lesiones cutáneas,

que podrían apoyar la posibilidad de que el virus procedente de la recurrencia en el ganglio alcanzara directamente el SNC, han sido muy escasas y, en su inmensa mayoría, basadas en datos serológicos indirectos [Gershon et al, 1980; Möller et al., 1982; Vartdal et al., 1982; Vílchez Padilla et al., 1982].

En el año 1985, nuestro grupo describió por primera vez el hallazgo de IgG específica de producción intratecal en dos pacientes con MLA en ausencia de zóster cutáneo [Martínez Martín et al., 1985a]. Con posterioridad, se describieron otros casos de infección del SNC asociados a VZV, algunos con MLA, en ausencia de vesículas [Mayo y Boos, 1989; Puchhammer-Stöckl et al., 1991]. En general, se ha admitido que la MLA es una complicación extremadamente infrecuente del herpes zóster, y los casos en los que se ha sugerido la implicación del VVZ en este tipo de cuadros en ausencia de lesiones cutáneas han sido excepcionales. No obstante, la existencia de tales casos sugiere la posibilidad real de que el virus producido por la recurrencia de la infección latente pueda alcanzar directamente el SNC y producir MLA u otros cuadros neurológicos sin que los pacientes presenten síntomas de infección cutánea.

De los trabajos citados hasta aquí, no es posible extraer ninguna información que permita evaluar la importancia de VVZ como agente productor de síndromes neurológicos en el contexto global de las infecciones víricas del SNC de un área geográfica concreta. Por ello, nuestro grupo realizó una prospección de casos asociados

al VVZ en pacientes aquejados de MLA en España. En un estudio basado en 632 pacientes [Téllez et al., 1989], tanto adultos como pediátricos, se encontró alguna evidencia de infección por VVZ en el 19.2% de los casos en los que se identificó el agente etiológico. Entre los adultos, este porcentaje se elevó al 33.3%, situando al VVZ como el agente más frecuentemente caracterizado en esa población. En un segundo estudio [Martínez Martín et al., 1989], restringido a pacientes adultos, este porcentaje fue del 15.8% (26/164), siendo de nuevo el VVZ el agente más frecuentemente diagnosticado. Sobre el total de los pacientes de este segundo estudio (325), el VVZ parecía ser responsable de, al menos, el 8% de los casos. Diez de los 26 pacientes con MLA y diagnóstico de infección por VVZ (38.5%) no presentaron zóster cutáneo asociado al cuadro neurológico. Como veremos en los apartados siguientes, fué la prospección sistemática de IgG específica en LCR lo que nos permitió obtener estos altos porcentajes.

En resumen, la infección primaria por VVZ se sigue de establecimiento de latencia en células del sistema nervioso y, en ocasiones, de recrudescencias de dicha infección latente. En sujetos inmunocompetentes, las complicaciones asociadas con mayor frecuencia a estas recrudescencias son las que implican al SNC. Además, es posible que el VVZ recurra hacia el dermatoma sin que se produzca erupción vesicular, y parece también posible que el virus recurra directamente hacia el SNC, produciendo diversos síndromes neurológicos en ausencia de lesiones cutáneas. Aunque

la MLA asociada a recrudescencia del VVZ se ha tenido por muy infrecuente en todo tipo de pacientes, existen datos que sugieren que este síndrome es frecuente, puede responder tanto a una complicación del herpes zóster como a una manifestación primaria de la recrudescencia y puede ser mayoritario entre las MLA del adulto en nuestro medio. Estos datos serían, por otro lado, coherentes con la idea general de que la recurrencia de los virus Herpes humanos neurotropos y la aparición de lesiones cutáneas son fenómenos relacionados, pero separados, lo que permite tanto la existencia de recurrencias asintomáticas o paucisintomáticas ("zoster sine herpete") como de recrudescencias que impliquen únicamente la infección del SNC.

#### **1.4. Diagnóstico de laboratorio de la infección por VVZ.**

##### **1.4.1. Diagnóstico por aislamiento de virus.**

Tanto la varicela como el herpes zóster suelen presentar una sintomatología clínica lo suficientemente típica como para que el diagnóstico de laboratorio no resulte necesario. En los casos en los que el exantema no sigue los patrones más típicos, sí puede ser, sin embargo, necesario realizar un diagnóstico diferencial respecto a una posible infección atípica por VHS. En estos casos, el aislamiento del virus en cultivos celulares a partir del líquido vesicular y su posterior identificación por anticuerpos específicos constituye un método de diagnóstico sencillo, dada la alta concentración de virus infeccioso que se alcanza en dicho líquido. Además, los VHS crecen rápidamente en

cultivos celulares sensibles y son capaces de infectar tanto líneas celulares de origen epitelial como cultivos de fibroblastos humanos, mientras que el VVZ crece más lentamente, presenta un efecto citopático característico y sólo puede ser recuperado eficazmente a partir de muestras clínicas en cultivos de fibroblastos humanos, por lo que la mera observación de las pautas de crecimiento puede incluso obviar la necesidad de realizar métodos inmunológicos de identificación. Antes de que la viruela fuera definitivamente erradicada, la microscopía electrónica en líquido vesicular jugó también un papel importante en la diferenciación de casos de viruela y casos de varicela diseminada.

#### **1.4.2. Diagnóstico serológico.**

La situación es, sin embargo, más complicada cuando se trata de diagnosticar casos de infección en los que no se dispone de líquido vesicular. Esto puede ocurrir al estudiar casos de varicela en fases tardías y, sobre todo, recrudescencias que sucedan en ausencia de lesiones cutáneas. En estos casos, el diagnóstico mediante medida de anticuerpos específicos en suero (diagnóstico serológico) constituye la alternativa de elección. El manejo de estos marcadores serológicos con fines diagnósticos requiere, sin embargo, un conocimiento profundo de la respuesta inmune humoral asociada a la primoinfección y la recurrencia, al objeto de realizar una correcta interpretación de los resultados que se obtengan con las técnicas de medida de anticuerpos.



La infección primaria por VVZ induce siempre una respuesta vigorosa de anticuerpos de la clase IgM, que pueden detectarse fácilmente en el suero del paciente desde el segundo o tercer día post-exantema mediante enzimoimmunoanálisis (EIA) [Cradock-Watson y Ridehalgh, 1979; Tedder et al., 1981; Sundqvist, 1982; Kangro et al., 1988]. En los raros casos en que la detección de IgM específica no es concluyente, la detección de anticuerpos IgG de baja avidéz por el antígeno facilita el diagnóstico con alto rendimiento [Kangro et al., 1991]. En el herpes zóster, la respuesta de anticuerpos varía mucho en función de los pacientes que se consideren, por lo que resulta más difícil manejar marcadores serológicos de diagnóstico bien definidos. El porcentaje de casos que cursan con respuesta de IgM específica varía ampliamente, tanto en función del grupo de pacientes estudiado como de la tecnología aplicada [Cradock-Watson y Ridehalgh, 1979; Hacham et al., 1980; Arvin y Koropchak, 1980; Levy y Sarov, 1981; Tedder et al., 1981; Sundqvist, 1982; Forghani et al., 1984; Schmidt y Gallo, 1984], por lo que el rendimiento de este marcador es muy variable. La IgA específica está presente en un alto porcentaje de los casos [Cradock-Watson y Ridehalgh, 1979; Levy y Sarov, 1981; Wittek et al., 1983; Forghani et al., 1984], pero también lo está en un porcentaje significativo de los seropositivos sanos [Cradock-Watson y Ridehalgh, 1979; Wittek et al., 1983; Hadar et al., 1983; Forghani et al., 1984; Schmidt y Gallo, 1984] y de los que entran en contacto con pacientes de varicela [Cradock-Watson y Ridehalgh, 1979] ó sufren una reinfección demostrable por virus

exógeno [Gershon et al., 1984], por lo que su mera presencia no es significativa de cara al diagnóstico. Además, el aumento en los niveles de IgG específica es más rápido en la recrudescencia que en la primoinfección [Cradock-Watson y Ridehalgh, 1979], por lo que en casos de estudio relativamente tardío este criterio rara vez se va a satisfacer. No se ha demostrado concluyentemente que el análisis de las respuestas específicas frente a distintos antígenos del VVZ mediante radioinmunoprecipitación [Zweerink y Neff, 1981; Weigle y Grose, 1984; Larkin et al., 1985] o inmunoblot [Palumbo et al., 1984; Grose y Litwin, 1988; Dubey et al., 1988] sea útil en el diagnóstico. Por último, no existe un patrón característico en la distribución en subclases de la IgG específica que identifique claramente los casos de recrudescencia [Sundqvist et al., 1984; Doerr et al., 1987; Asano et al., 1987]. La titulación de anticuerpos totales anti-VVZ por fijación del complemento, aún presentando una baja sensibilidad cuando se compara con otros métodos, tiene utilidad en diagnóstico, ya que dichos anticuerpos acaban descendiendo a niveles indetectables tras la primoinfección, lo que permite detectar seroconversiones asociadas a las recrudescencias y dar significado diagnóstico al hallazgo de títulos elevados de anticuerpos.

En resumen, el diagnóstico etiológico de las recrudescencias del VVZ es sencillo cuando puede accederse al líquido de las vesículas cutáneas, pero se complica cuando esta muestra no es accesible o cuando dichas lesiones están ausentes. La determinación de distintos anticuerpos específicos en suero

(marcadores serológicos) puede aportar información útil, pero ninguno de ellos es suficiente, en sí mismo, para resolver con claridad estos casos. Dada la disparidad de resultados que pueden obtenerse al aplicar distintas técnicas para medir un mismo marcador, cualquier estudio de diagnóstico serológico debe precederse de una evaluación de la tecnología concreta que se utilice sobre casos diagnosticados en base a otros criterios (clínicos o de aislamiento de virus), al objeto de establecer pautas de interpretación de resultados que permitan extraer conclusiones válidas para el diagnóstico.

## **2.5. Diagnóstico etiológico de las infecciones víricas del sistema nervioso central.**

### **2.5.1. Detección de virus en parénquima cerebral y líquido cefalorraquídeo.**

El diagnóstico etiológico de las infecciones víricas del SNC se realiza demostrando la presencia del virus en el tejido nervioso infectado o en el LCR, ya que a este fluido se vierten los viriones resultantes de la replicación del virus en las células infectadas [Grandien y Olding-Stenkviist, 1984]. El riesgo que supone la obtención de tejido infectado mediante biopsia convierte al LCR en la muestra de elección para el diagnóstico. Los métodos destinados a la detección de antígenos víricos en linfocitos del LCR mediante inmunofluorescencia (IF) no permiten realizar el diagnóstico con suficiente fiabilidad, debido a la intensa fluorescencia inespecífica que se suele observar

[Grandien y Olding-Stenkvis, 1984]. Por ello, el aislamiento de virus por inoculación del LCR en cultivos celulares es la estrategia más habitual y puede ofrecer un buen rendimiento en las meningitis y meningoencefalitis producidas por el virus de la parotiditis, los enterovirus y otros virus más ajenos a nuestro entorno (Bunyavirus, Arenavirus, etc). Sin embargo, esta metodología está sujeta a cuatro problemas que limitan seriamente su rendimiento global: 1. El corto espacio de tiempo durante el cual el virus infeccioso está presente en el LCR, que determina la necesidad de trabajar con muestras tomadas en los momentos muy tempranos de la infección; 2. La baja concentración de virus infeccioso que, habitualmente, se alcanza en este fluido, que puede hacer fracasar el aislamiento de virus de difícil cultivo inicial en el laboratorio; 3. La presencia de anticuerpos específicos en el LCR, capaces de neutralizar el escaso virus infeccioso presente e imposibilitar su aislamiento; 4. La propia ausencia de virus infeccioso en el LCR, que sucede en ciertas infecciones como la panencefalitis esclerosante subaguda (PEES) por virus del sarampión. Estos problemas hacen, por ejemplo, imposible el diagnóstico de la encefalitis herpética por aislamiento de virus en LCR y han obligado durante mucho tiempo a realizar biopsia cerebral para poder establecer el diagnóstico etiológico de este síndrome cara al tratamiento del paciente con antivirales. En los síndromes neurológicos asociados al VVZ, el aislamiento de virus en el LCR es un hallazgo excepcional.

En los últimos años, el desarrollo de métodos de amplificación

de ADN mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) ha aumentado dramáticamente nuestra capacidad para detectar la presencia de agentes infecciosos en muestras clínicas. Aún cuando la posibilidad de amplificaciones no específicas, contaminación de la muestra y su extrema sensibilidad aconsejan la máxima prudencia en la aplicación de esta metodología en diagnóstico, no cabe duda de que el LCR es una muestra especialmente adecuada para ser sometida a análisis por estos métodos. En primer lugar, el LCR es un fluido aséptico por definición, donde ningún genoma extraño debe estar, en principio, presente a no ser que medie infección del SNC. En segundo lugar, es una muestra limpia, carente de la mayoría de los inhibidores y otras sustancias que pueden afectar a los resultados cuando se aplica la PCR a suero o muestras de tejido. Esto facilita, además, enormemente la preparación de la muestra, paso que puede complicar mucho cualquier protocolo de amplificación por PCR. En la actualidad, se ha demostrado la utilidad de la PCR en LCR para detectar la presencia de VHS en casos de encefalitis herpética [Klapper et al., 1990; Aurelius et al., 1991; Klapper y Cleator, 1992; Aurelius et al., 1993], lo que facilita un método de diagnóstico no invasivo para este síndrome y demuestra que el virus está presente en el LCR aunque no pueda ser aislado en cultivos celulares. Se ha documentado también, en base a un reducido número de casos, la posibilidad de amplificar ADN del VVZ a partir de muestras de LCR de pacientes con distintos síndromes del SNC asociados a herpes zóster, aunque el virus no podía tampoco aislarse en cultivos celulares [Puchhammer-Stöckl et al.,

1991]. En este sentido, se ha demostrado también mediante PCR la presencia de ADN del VVZ en leche materna, asociada a la transmisión neonatal del virus [Yoshida et al., 1992]. El aislamiento del VVZ en cultivos celulares fue posible a partir del líquido vesicular de las lesiones cutáneas que presentaba la madre, pero no así en las muestras de leche, aunque la intensidad de las bandas de amplificación obtenidas en ambos fluidos sugerían la presencia de similares concentraciones de ADN viral. Así, en ciertas muestras pueden existir factores no identificados que impiden que los VHS o el VVZ infecten con éxito un cultivo celular susceptible, aún cuando contengan una alta concentración de virus, y el LCR parece contarse entre ellas. Finalmente, otros datos indican que la PCR puede ser útil para demostrar la presencia de enterovirus en las heces de pacientes con MLA [Olive et al., 1991; Glimaker et al., 1992] y la infección por virus de la rabia en tejido cerebral de perros infectados [Kalmovarin et al., 1993], ampliando el campo de aplicación de este método en el diagnóstico de los síndromes neurológicos producidos por virus.

Aunque la PCR en LCR presenta un buen futuro como técnica de diagnóstico, lo escaso de los datos publicados y la falta de protocolos bien estandarizados limitan aún su uso generalizado en diagnóstico. Por ello, aún siguen en plena vigencia otros métodos alternativos al aislamiento de virus en el LCR. Entre ellos, la detección de anticuerpos específicos en LCR es, sin duda, el más utilizado en los últimos años.

### 1.5.2. Detección de anticuerpos de producción intratecal.

Tras el excelente rendimiento mostrado por la detección de anticuerpos anti-sarampión en LCR mediante inhibición de la hemaglutinación en el diagnóstico de la PEES, la aplicación de la fijación del complemento en otros síndromes no fué capaz de aportar buenos resultados, dada la escasa sensibilidad de esta técnica. El desarrollo de métodos de EIA para detección de IgG específica frente a distintos virus a principios de la década de los 80 abrió el uso de la detección de anticuerpos en LCR como metodología de diagnóstico en las infecciones víricas agudas del SNC. Sin embargo, una vez resuelto el problema técnico, pronto pudo constatarse la dificultad que entraña la interpretación de los resultados.

La presencia de anticuerpos específicos frente a un determinado agente en el LCR sólo demuestra infección del SNC cuando dichos anticuerpos se han sintetizado localmente por linfocitos B sensibilizados, procedentes de la sangre, en respuesta a la presencia de los correspondientes antígenos en el interior del SNC. Cuando esto sucede, se dice que los anticuerpos son de procedencia intratecal. Alternativamente, puede ocurrir que los anticuerpos que se detectan en el LCR hayan sido pasivamente adquiridos por el SNC como resultado de su transferencia desde el plasma. La barrera hematoencefálica (BHE) constituye un conjunto de mecanismos de transporte selectivo de moléculas entre el torrente circulatorio y el LCR, merced a fenómenos de permeabilidad del endotelio de los capilares de los plexos

coroideos. Su normal funcionamiento determina la presencia de concentraciones limitadas de algunas proteínas plasmáticas en el LCR y la absoluta ausencia de otras. En estas condiciones y en ausencia de infección del SNC, no es posible, en términos generales, detectar anticuerpos específicos frente a agentes infecciosos en el LCR, aunque sí puedan detectarse en el suero que se extraiga del paciente en el mismo momento. La inflamación que acompaña habitualmente a las infecciones del SNC puede modificar estos fenómenos de permeabilidad selectiva, alterando el normal funcionamiento de la BHE, facilitando el paso de células del sistema inmune al interior del SNC y elevando la concentración de proteínas plasmáticas en el LCR. En situación de alteración o rotura de la BHE, puede producirse la transferencia de anticuerpos específicos frente a diferentes patógenos, que serán o no detectables en el LCR en función de su concentración en el plasma, el grado de alteración de la BHE y la sensibilidad del método de detección. Estas alteraciones son máximas durante la fase aguda de la infección (máxima actividad inflamatoria), tendiendo a recuperar la normalidad en fases posteriores. Así pues, cuando se detecten anticuerpos en LCR frente a un determinado agente la interpretación diagnóstica del hallazgo estará sujeta a las siguientes consideraciones: 1. Estado general de la BHE; 2. Concentraciones relativas de dichos anticuerpos en LCR y suero, comparadas con las de otras proteínas que nos sirvan de referencia y que en ningún caso puedan sintetizarse dentro del SNC; 3. Evolución de estos parámetros en el tiempo. Sólo después de considerar adecuadamente estos



factores pueden sacarse conclusiones de cara a la posible infección del SNC por el agente considerado.

La albúmina ha sido tradicionalmente utilizada como proteína plasmática de referencia para evaluar el estado de la BHE cara a estos estudios. Se trata de una proteína de mucha mayor abundancia en el plasma y menor tamaño molecular que las inmunoglobulinas y no puede ser sintetizada dentro del SNC, por lo que resulta un marcador de referencia muy adecuado. En 1977, Tibbling y cols. establecieron, en base a un cuidadoso estudio, que cualquier valor del cociente entre las concentraciones de albúmina en LCR y suero (índice de albúmina, Ialb) superior a  $7.5 \times 10^{-3}$  es indicativo de disfunción de la BHE, proporcionando así un criterio de referencia para su evaluación [Tibbling et al., 1977]. No obstante, no se puede descartar, por un lado, que aún en presencia de valores normales para el Ialb pueda producirse la transferencia pasiva de anticuerpos específicos que alcancen en el plasma una concentración muy elevada. Por otro lado, en las infecciones agudas del SNC pueden coexistir fenómenos de transferencia pasiva de anticuerpos con la síntesis intratecal de los mismos, todo ello en presencia de valores elevados del Ialb. Por ello, se han desarrollado criterios de evaluación que contemplan las concentraciones de anticuerpos en suero y LCR y las comparan con el Ialb (índice de anticuerpos/albumina, Iab.alb) [Klapper et al., 1981; Arnadottir et al., 1982] o con el cociente entre las concentraciones de IgG total entre el LCR y el suero (índice de anticuerpos/IgG total, Iab.ig) [Ukkonen et al., 1981], estableciendo distintos valores

críticos, por encima de los cuales se puede considerar la procedencia intratecal de los anticuerpos detectados. Otras formas de evaluar el problema incluyen la comparación de las lecturas cuantitativas de absorbancia obtenidas al medir los anticuerpos específicos sobre el LCR y sobre una dilución de suero ajustada a una concentración de IgG total equivalente a la del LCR (índice de EIA, Ieia) [Vartdal et al., 1982] y el análisis del LCR mediante inmunolectroforésis en presencia de antígeno específico, para demostrar un patrón oligoclonal para la IgG específica, que indicaría su procedencia intratecal [Vartdal et al., 1982]. Aunque no hay ningún consenso a cerca del rendimiento de estos criterios, ni tampoco sobre los propios valores críticos a considerar para cada uno de ellos, es cierto que la cuantificación de algunas inmunoglobulinas en el LCR plantea problemas en la práctica, y que la obtención de patrones de inmunolectroforésis para la IgG específica es técnicamente muy compleja. Por ello, los métodos basados en la cuantificación de albúmina son, desde un punto de vista práctico, los más adecuados. No se pueden encontrar en la literatura datos que muestren el rendimiento comparativo de estos criterios cuando se aplican a grupos seleccionados de muestras, por lo que la elección de uno u otro para el estudio de un problema concreto debe precederse de una evaluación de su rendimiento sobre un grupo control que presente el mayor paralelismo posible con el problema que se desea estudiar.

Al igual que ocurre con la respuesta inmune humoral a nivel

sistémico en las infecciones agudas, la respuesta intratecal de anticuerpos inducida por una infección aguda del SNC sólo es detectable después de transcurrido un tiempo tras la llegada del agente infeccioso. Así, en la encefalitis herpética dicha respuesta se retrasa el tiempo suficiente como para que el diagnóstico que se obtiene mediante este criterio no resulte útil para la instauración de la terapia antivírica [Klapper y Cleator, 1992]. Por ello, la ausencia de anticuerpos específicos en muestras de LCR obtenidas en los momentos muy tempranos de una infección vírica aguda del SNC no descarta totalmente la infección por un determinado agente, siendo necesario acudir al estudio de muestras de seguimiento. En la MLA por virus de la parotiditis, la aparición de niveles detectables de anticuerpos específicos en LCR puede retrasarse entre cinco y diez días tras el comienzo de los síntomas neurológicos [Glikmann et al., 1986]. Hay que tener, pues, presente este extremo cuando se aplique esta metodología al diagnóstico de estos síndromes.

Así pues, aunque el aislamiento de virus en el LCR es la forma más adecuada de diagnosticar en el laboratorio las infecciones víricas agudas del SNC, existen distintas razones que pueden hacer fracasar esta estrategia y que hacen necesario aplicar métodos alternativos. La detección de anticuerpos específicos en LCR mediante técnicas sensibles es una alternativa adecuada, pero sólo es válida cuando se acompaña de datos adicionales que apoyen suficientemente la procedencia intratecal de dichos anticuerpos. Para ello, se han descrito distintos criterios que, al no haber

sido suficientemente valorados y comparados entre sí, hay que someter a evaluación antes de aplicarlos al estudio de un problema concreto. En cualquier caso, la evidencia última que implique a un determinado virus en la etiología de un síndrome o conjunto de síndromes neurológicos sólo se obtendrá al demostrar la presencia del agente en el interior del SNC asociada a la sintomatología específica. La amplificación de genomas víricos mediante PCR en LCR puede ofrecer esta evidencia, máxime si se consigue en consonancia con una respuesta intratecal de anticuerpos específicos suficientemente apoyada. Dado lo excepcional del aislamiento del VVZ en LCR en casos de enfermedad neurológica asociada a este virus, la serología específica y la amplificación de ADN del VVZ en LCR pueden ofrecer una vía para estudiar, y eventualmente demostrar, la implicación de dicho agente en infecciones agudas del SNC que cursen en ausencia de las lesiones cutáneas características de su recrudescencia.

---

## 2. OBJETIVOS

El objetivo general del presente trabajo es obtener evidencias suficientes para demostrar o descartar la implicación del VVZ en la etiología de la MLA no epidémica cuando esta se produce en presencia de niveles detectables de anticuerpos específicos en LCR, así como establecer criterios para el diagnóstico rápido de dichos casos en el laboratorio. Para ello, se han planteado los siguientes objetivos concretos:

- 2.1. Definición de marcadores serológicos para el diagnóstico de las infecciones primarias y recurrentes producidas por el VVZ.
- 2.2. Evaluación de la sensibilidad de distintos criterios para la identificación de anticuerpos específicos de producción intratecal en la meningitis linfocitaria aguda.
- 2.3. Caracterización de la respuesta de anticuerpos específicos a nivel sistémico en casos de MLA previamente seleccionados por presentar niveles detectables de IgG anti-VVZ en LCR.
- 2.4. Caracterización de la respuesta intratecal de anticuerpos específicos en dichos casos.
- 2.5. Detección de secuencias de ADN específicas del VVZ en el LCR de los pacientes con producción intratecal de anticuerpos anti-VVZ.

### **3. MATERIALES Y METODOS**

#### **3.1. Pacientes y muestras.**

Se utilizaron para los estudios planteados un total de 166 muestras de suero y 78 de LCR procedentes de 120 individuos (86 pacientes y 34 controles), distribuidos en los siguientes grupos:

A. 22 pacientes con diagnóstico clínico de varicela primaria, de los que se obtuvo un total de 30 muestras de suero tomadas entre la 1ª y la 9ª semana tras la presentación del exantema. La edad media de los pacientes fue de 23 años (rango 3-45 años).

B. 22 pacientes con herpes zóster diagnosticado clínicamente en base a la presencia de lesiones cutáneas características. En 12 casos no se observaron signos o síntomas de enfermedad neurológica, mientras que los 10 restantes presentaron sendos cuadros de MLA, definida por la presentación de cefalea, fiebre, náuseas y vómitos, signos de inflamación meníngea y pleocitosis linfocitaria del LCR, asociada habitualmente a un incremento ligero o moderado de las proteínas totales sin cambios en los niveles de glucosa. De los pacientes sin síntomas neurológicos se obtuvieron 17 muestras de suero y de los que presentaban además MLA se tomaron 23 parejas de suero-LCR. La toma de muestras se repartió a lo largo de las nueve semanas que siguieron al comienzo de los síntomas. La edad media de los pacientes fue de 39 años (rango 9-69 años).

C. 20 pacientes con MLA asociada a primoinfección aguda por el virus de la parotiditis diagnosticada por detección de IgM específica en suero. Se dispuso de una pareja suero-LCR de cada

paciente, tomada durante la 1ª semana de evolución del síndrome meníngeo, así como un segundo suero en 18 casos (38 sueros y 20 LCRs). La edad media de los pacientes fue de 8 años (rango 4-29).

D. 12 pacientes con MLA, diagnosticada según la definición anterior, sin lesiones cutáneas ni antecedente de zóster cutáneo en los tres meses previos al ingreso y con niveles detectables de IgG anti-VVZ en LCR. Se dispuso de 25 parejas suero-LCR de estos pacientes, tomadas en la 1ª semana de evolución de la MLA y dentro de las ocho semanas siguientes. La edad media de los pacientes fue de 23 años (rango 9-69 años).

E. 10 pacientes con MLA producida por enterovirus, todos ellos con aislamiento previo de enterovirus en LCR. Se dispuso de una muestra de LCR de cada paciente, tomada dentro de la 1ª semana de evolución. Estas muestras se utilizaron como controles negativos en el ensayo de amplificación de ADN del VVZ mediante PCR.

F. 34 individuos cuyos sueros (34 sueros) se utilizaron para definir los niveles normales de anticuerpos frente al VVZ en ausencia de primoinfección o recrudescencia. Se seleccionaron casos enviados para diagnóstico de rubéola o parotiditis (rango de edades, 5-15 años), mujeres embarazadas sanas que acudieron a control serológico rutinario de embarazo normal (rango de edades, 17-38 años) y pacientes que acudieron a un centro de atención primaria por problemas no relacionados con infecciones o inmunodepresión (rango de edades, 50-75 años). Con esto, se pretendió tener representado todo el rango de edades observado entre los pacientes con varicela o zóster y llegar a una media de edad similar (media 32 años, rango 5-70 años), ya que la edad

puede influir sobre la proximidad al momento de la primoinfección y sobre la frecuencia de las recrudescencias, factores importantes en la definición de los niveles de anticuerpos.

Ninguno de los pacientes seleccionados presentaba antecedentes de infecciones múltiples o repetidas ni ningún otro dato que hiciera sospechar deficiencias generales en la inmunidad celular. Todas las muestras se conservaron a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de la realización de las pruebas de laboratorio.

### **3.2. Aislamiento e identificación de virus.**

Todas las muestras de LCR de los pacientes incluidos en los grupos B y D se procesaron para aislamiento de virus en cultivos celulares, usando las siguientes líneas: células Vero (línea continua de células epiteliales de riñón de mono verde africano, Cercopithecus aetiops), cultivos primarios de riñón de mono verde africano (PGMK), línea continua diploide de fibroblastos embrionarios humanos de cráneo (HDFE). Se inocularon 0.2 ml de cada muestra (a su recepción y antes de congelación) sobre las correspondientes monocapas celulares crecidas en tubos estándar para cultivos, añadiendo después 2 ml de medio de cultivo básico de Eagle (BME) con antibióticos (penicilina/estreptomycin) incorporados. Los cultivos se incubaron a  $37^{\circ}\text{C}$  y se examinaron diariamente para presencia de efecto citopático (ECP). Cuando se detectó ECP, las células se recogieron en el propio medio de cultivo y se realizó un subcultivo sobre las tres líneas celulares, siguiendo los mismos pasos. A continuación, se aguardó



a que el ECP se generalizase en el subcultivo y se identificó morfológicamente el virus por microscopía electrónica mediante tinción negativa. En el caso de que se observaran partículas similares a virus herpes, los cultivos infectados se tiñeron mediante inmunofluorescencia utilizando anticuerpos monoclonales frente a VHS y CMVH. El aislado se caracterizó como VVZ si, presentando morfología típica de virus herpes, creció sólo en células HDFF y los cultivos infectados fueron negativos para VHS y CMVH en las pruebas específicas de inmunofluorescencia.

Por otro lado, se cultivaron distintas cepas de virus herpes humanos para obtener extractos de ADN que sirvieran como controles de especificidad para el método de amplificación de ADN de VVZ mediante PCR. Las cepas de laboratorio Oka (VVZ), HFEM (VHS1) y AD169 (CMVH) y una cepa salvaje de VHS2 (aislado clínico) se hicieron crecer en cultivos primarios de fibroblastos de piel fetal humana para obtener los correspondientes extractos de ADN. La línea celular linfoblastoide P3HR1, persistentemente infectada por EBV, se utilizó como fuente de ADN de dicho virus.

### **3.3. Determinación de anticuerpos específicos.**

Se determinó la presencia y el título de anticuerpos específicos frente al VVZ en todas las muestras de suero y LCR incluidas en el estudio, a excepción de las correspondientes a los pacientes del grupo C. En las muestras de estos últimos, se investigaron los títulos de anticuerpos frente al virus de la parotiditis.

Se investigó el título de anticuerpos anti-VVZ mediante fijación del complemento (FC) en todas las muestras de suero obtenidas de los pacientes incluidos en los grupos A,B y D, según un micrométodo estándar [Grist, 1979] y utilizando 4 unidades de antígeno, 4 unidades de complemento y hematíes de carnero sensibilizados con anticuerpos preparados en caballo (hemolisina). El antígeno se obtuvo de fuente comercial (Institute Virion, Zurich, Suiza), así como la hemolisina (Difco Ltd., Detroit, EEUU). El complemento se obtuvo de suero fresco de cobaya conservado en alícuotas a  $-70^{\circ}\text{C}$  y los hematíes se extrajeron y prepararon en el laboratorio.

Se investigó y cuantificó la presencia de IgG, IgM e IgA específicas del VVZ en todas las muestras de suero y LCR incluidas en los grupos A,B,D y F. Así mismo, se realizaron determinaciones equivalentes respecto al virus de la parotiditis en todas las muestras incluidas en el grupo C. En todos los casos se utilizaron métodos de EIA indirecto, utilizando microplacas recubiertas con antígeno específico, anticuerpos anti-IgG, IgM o IgA humanas marcados con fosfatasa alcalina (conjugados) y para-nitrofenil-fosfato (PNP) como sustrato indicador, con lectura final de resultados por fotometría a 405 nm y referencia a 492 nm.

Las titulaciones de IgG e IgM específicas frente a VVZ y virus de la parotiditis se realizaron sobre diluciones seriadas de las muestras según un método comercial pre-estandarizado (Enzygnost-

VZV, Enzygnost-parotiditis, Instituto Behring, Marburg, RFA). Las titulaciones de IgA específica se realizaron según los mismos métodos, previa adaptación de un antisuero anti-IgA humana preparado en cabra, purificado por cromatografía de afinidad y marcado con fosfatasa alcalina (ref. 2491; Tago, Burlingame, California). La dilución de uso de este conjugado se determinó por titulación cruzada con un suero humano con título conocido para IgA anti-VVZ (1600) y un suero humano negativo. Ambos sueros de referencia fueron amablemente suministrados por el Dr. I. Sarov (Unidad de Virología, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Ben Gurion, Beer Sheva, Israel). Las diluciones de partida fueron: 1:10 para la IgA en LCR; 1:20 para la IgG e IgM en LCR y para la IgA en suero; 1:40 para la IgG e IgM en suero.

Al objeto de optimizar la sensibilidad y eliminar las interferencias debidas a presencia de factores reumatoides, las determinaciones de IgM en suero se realizaron después de tratar la muestra con un antisuero anti-IgG humana de alto título (RF Absorbens, Instituto Behring). No se procedió de la misma forma con los LCRs por estar expresamente desaconsejado por el fabricante del antisuero y por tener experiencia previa en cuanto a la aparición de resultados positivos falsos tras someter muestras de LCR a este tratamiento. Los pasos de lavado de las microplacas, dispensación del sustrato indicador y lectura de los resultados se realizaron en un procesador semiautomático de EIA (Behring ELISA Processor, Instituto Behring).

Las muestras de suero y LCR incluidas en los grupos A, B y D se procesaron para detección de IgG1-4 específicas del VVZ mediante EIA indirecto. Las muestras se diluyeron, respectivamente, a 1:100 y 1:10 en tampón salino de fosfatos (pH 7.0±0.2) con Tween 20 (40 ml/l) y seroalbúmina bovina (0.2 g/l) (PBST-BSA). Se inocularon 15 µl de estas diluciones en cada uno de los ocho pocillos de una fila de microplaca de EIA sensibilizada con antígenos del VVZ y un antígeno control en filas alternas (Enzygnost-VZV, Instituto Behring). Después de 1h de incubación a 37°C, las placas se lavaron cuatro veces con PBST, añadiéndose a continuación en cada pocillo 50 µl del correspondiente conjugado anti-IgG humana específico de subclase. Dichos conjugados consistieron en anticuerpos monoclonales de ratón, específicos de IgG humana 1,2,3 ó 4, marcados con peroxidasa (MH161-1-ME1, 162-1-ME1, 163-1-ME2 y 164-4-ME2, respectivamente; Janssen Biochimica, Amberes, Bélgica). Tras incubación durante 1h a 37°C y cuatro lavados con PBST, se añadieron a cada pocillo 100 µl de solución de tetrametil-bencidina (Instituto Behring) y se incubaron las placas a temperatura ambiente durante 30 min. Después de detener la reacción por adición de 50 µl/pocillo de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.5N, se leyó la absorbancia de cada pocillo a 450 nm con referencia a 650 nm. Los resultados se anotaron como absorbancias netas (diferencia de lectura entre el pocillo con antígeno específico y el pocillo con antígeno control para cada muestra y cada conjugado), tomándose como valor límite una absorbancia neta de 0.150 para discriminar las muestras positivas y negativas. Dicho valor límite se estableció en base a sumar cinco

desviaciones estándar a la media de absorbancias netas obtenida sobre diez sueros negativos para IgG específica frente al VVZ.

La selección de la dilución de trabajo para cada conjugado se realizó en base a titulaciones en cruz frente a una muestra de suero procedente de un paciente con varicela clínica, tomada 15 días después de la aparición del exantema (título de anti-VVZ por FC: 256; títulos de anti-VVZ por EIA: 200000 para IgG, 40 para IgM y 20000 para IgA). Se incluyeron como controles diez muestras de suero negativas para IgG anti-VVZ en EIA (título: <20), diluidas al 1:100. El valor límite para cada conjugado se definió como tres veces el valor medio de absorbancia neta obtenido en estos controles. Bajo estas condiciones, se detectaron algunos fenómenos de prozona para IgG1 en diluciones 1:100 de muestras con niveles muy altos de IgG específica, pero nunca se encontraron en muestras de LCR diluidas a 1:10.

#### **3.4. Análisis de la producción intratecal de anticuerpos específicos.**

Cuando se produjo la detección de anticuerpos específicos en cualquier muestra de LCR de las incluidas en el estudio, se procedió a determinar los siguientes parámetros en la muestra y en su suero pareja: 1. Cuantificación de niveles de albúmina; 2. Cuantificación de niveles de IgG, IgM o IgA totales, en función de la clase de inmunoglobulina implicada en la reactividad específica. Todas las determinaciones se realizaron mediante inmunodifusión radial simple (IDRS), utilizando un método pre-estandarizado (Partigen, Instituto Behring).

Con los resultados obtenidos en la titulación de anticuerpos específicos en suero y LCR y la cuantificación de los parámetros antes citados, se procedió al cálculo de los siguientes índices relacionados con el estado de la BHE y la producción de anticuerpos específicos:

1. **Índice de albúmina (Ialb)**. Cociente entre las concentraciones de albúmina en LCR y suero. Valores superiores a  $7.5 \times 10^{-3}$  indican disfunción de la BHE en el momento de la toma de muestra (también puede alterarse dicho índice por punción lumbar traumática). Índices inferiores a dicho valor indican funcionamiento normal de la BHE [Tibbling et al., 1977].
2. **Índice de anticuerpos (Iac)**. Cociente entre los títulos de anticuerpos específicos (IgG, IgM o IgA) en suero y LCR. Valores iguales o inferiores a 32 indican producción intratecal [CDS Unit, 1982].
3. **Índice de anticuerpos-albúmina (Iac.alb)**. Relación entre la inversa del Iac y el Ialb para cada clase de inmunoglobulina específica considerada (IgG, IgM o IgA). Valores iguales o superiores a 0.8 indican producción intratecal [Arnadottir et al., 1982].
4. **Índice de anticuerpos-inmunoglobulina total (Iac.ig)**. Relación entre la inversa del Iac y el cociente entre las concentraciones de inmunoglobulina total en LCR y suero, para cada clase de inmunoglobulina considerada. Valores iguales o superiores a 2.0 indican producción intratecal [Ukkonen et al., 1981].
5. **Índice de absorbancias en EIA (Ieia)**. Una vez conocida la concentración de IgG, IgM o IgA totales en el suero y el LCR, se

prepara una dilución de suero que contenga una concentración equivalente de la inmunoglobulina considerada a la que existe en una dilución 1:10 (para IgM e IgA) ó 1:20 (para IgG) del LCR. Ambas diluciones se estudian en paralelo para IgG, IgM o IgA específicas mediante EIA. El Ieia se define como el cociente entre las absorbancias netas obtenidas sobre la dilución de LCR y la de suero. Cualquier valor superior a 1.0 indica que, para la misma concentración de inmunoglobulina total, la concentración de inmunoglobulina específica está aumentada en el LCR, lo que sugiere su producción intratecal [Vartdal et al., 1982].

### 3.5. Detección de ADN del VVZ en LCR mediante PCR.

Se procesaron para amplificación de secuencias de ADN específicas de VVZ mediante PCR todas las muestras de LCR incluidas en los grupos B y D que estuvieron disponibles en cantidad suficiente en el momento de realizar estos estudios. Se procesaron de igual manera los extractos de ADN de VHS1, VHS2, VVZ, CMVH y EBV preparados por cultivo de cepas en el laboratorio y las muestras de LCR incluidas en el grupo E. Todas estas últimas muestras constituyeron los controles de sensibilidad y especificidad del método de amplificación utilizado, que ha sido descrito con anterioridad [Casas, 1993].

Las secuencias de ADN utilizadas para la preparación de los oligonucleótidos iniciadores de la reacción de amplificación se ubican en el gen que codifica la ADN polimerasa del VVZ [Davidson y Scott, 1986]. En la Figura 4 se comparan las secuencias de

Figura 4. Secuencias de distintos virus herpes humanos en la región de ADN-polimerasa elegida para el diseño de iniciadores de PCR para VVZ (subrayados y en negrita) y de la sonda para detección del producto amplificado (subrayado, letra normal). Las correspondientes regiones de VHS1 y VHS2 presentan secuencias diferentes (tomado de Casas, 1993).

```

VHS1 161 GMRAAQFHARFMDAITPTGTVITLLGLT-PEGHRVAVHVYGTTRQYFYMNKEEVDRH
VHS2 162 SMRAAQLHERFMDAITPAGTVITLLGLT-PEGHRVAVHVYGTTRQYFYMNKAEVDRH
VVZ 130 ---SNGDVSRFATATRPLGTVITLLGMS-RCGERVAVHVYGCQYFYINKAEVDTA
CMV 113 FDSFENVSPRYRQHLVPSGNVLRFPGAT-EHGYSICVNVFGQRSYFYCEYSDTDRL
VHH6 96 TDSIENLPPQYRHFVTPSGTVIRMPGRT-EDGEKICVNVFGQEQYFYCECVDGRSL
VEB 97 KCAVIP-SDKQG-YVVPCCGIVIKLLGRRKADGASVCVNVFGQQAYFYASAPQGLDV

VHS1 218 LQCRAPROLCERMAAALRES-----PGASFRGISADHFEAEVVER
VHS2 219 LQCRAPROLCERLAAALRES-----PGASFRGISADHFEAEVVER
VVZ 187 CGIRSGSELSVLLAECLRSSMITONDATLNGDKMAFRGTSFKSASPESFRVEVIER
CMV 170 REVIA-----SVGEL-----VPEPRTPYAVSVTPATK
VHH6 153 KATIN-----NLML-----TGEVKMCSFVIEPADK
VEB 154 EPAVL-----SALKA-----STFDRRTPCRVSVVEKPTR

```



aminoácidos correspondientes a cada uno de los virus Herpes humanos en la región considerada y se indican las usadas como iniciadores de amplificación. Dichas secuencias son las siguientes: 5'AGGTACCATGAAAAGCGT3', nucleótidos 49979 a 49997 y 5'GGCATGTCCCGATGTGGAAA3', nucleótidos 50186 a 50166. Tras un paso único de amplificación mediante estos iniciadores, el producto específico amplificado se detectó mediante hibridación con una sonda complementaria de una secuencia interna de dicho producto. La secuencia de bases de la sonda fue la siguiente: 5'ATAACTCGCTACCGGAACGTATGCCACAAG3', nucleótidos 50069 a 50098. Todos estos oligonucleótidos se prepararon en un sintetizador automático de ADN (Gene Assembler DNA Synthesizer, Pharmacia LKB Biotechnology AB, Uppsala, Suecia).

Se extrajo el ADN presente en el LCR tratando 40  $\mu$ l de la muestra con 10  $\mu$ l de tampón de lisis 5x (250 mM KCl, 50 mM Tris-HCl, pH=8.3), Tween 20 al 1% y 500  $\mu$ g/ml de proteinasa K durante 45 min a 56°C y 10 min a 96°C. A continuación, se mezclaron 10  $\mu$ l del extracto con Tris-HCl 50 mM (pH=9.0),  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  20 mM, Tween-20 al 0.04%,  $\text{MgCl}_2$  1.5 mM, desoxiadenosina, desoxicitosina, desoxiguanosina y desoxitimidina trifosfato (4 mM, cada una de ellas), dos unidades de Thermostase (LINUS DNA Amplification kit) y cada iniciador de amplificación a concentración 0.5  $\mu$ M, todo ello en un volumen final de 100  $\mu$ l. Después de cubrir la mezcla con dos gotas de aceite mineral, se procedió a realizar 40 ciclos de amplificación, con desnaturalización a 96°C durante 1 min, apareamiento a 55°C durante 1 min y extensión a 72°C durante 2

min, seguidos de una extensión final durante 10 min, utilizando un termociclador programable (CC600 LINUS Autocycler Plus). La detección del producto específico de la amplificación se realizó mediante autorradiografía, tras adsorción de dicho producto a filtro de nitrocelulosa e hibridación con sonda complementaria de una secuencia interna de 30 bases (ATAACTCGCTACCGGAACGTATGCCACAAG, nucleótidos 50069 a 50098) marcada con  $^{32}\text{P}$  por la reacción de la polinucleótido kinasa de T4.

### **3.6. Métodos de análisis estadístico de significación de resultados.**

Para establecer el significado de las distribuciones de la IgG específica en las cuatro subclases analizadas en relación al diagnóstico de primoinfección o recrudesencia, los resultados obtenidos sobre las muestras de suero de los pacientes con varicela o zóster se analizaron por la prueba de la chi cuadrado, aplicando la modificación de Yates.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Niveles de anticuerpos en las infecciones primarias y recurrentes.

La Figura 5 muestra el patrón de respuesta para IgA específica anti-VVZ del suero positivo de referencia en las condiciones de trabajo seleccionadas (dilución de conjugado 1:1300 para las condiciones de trabajo rutinarias en el método Enzygnost). Tomando un valor límite de 0.200A para la absorbancia neta, se obtiene un título de 1600 para el suero positivo, título que coincide con el de referencia.

La Tabla 1 resume los resultados obtenidos para la IgG e IgA específicas sobre las muestras correspondientes a la población control sana. En ninguna de ellas se pudo encontrar IgM específica con la tecnología utilizada. El 94% de los controles (32/34) presentaba IgG específica en suero, en consonancia con la seroprevalencia que cabe esperar para la infección por VVZ en la población general en nuestro medio. De ellos, el 41% (13/32) presentaban niveles detectables de IgA específica. Los títulos de ambas fueron máximos entre los individuos más jóvenes y decrecieron progresivamente con la edad, lo que es coherente con una disminución paulatina de los niveles de anticuerpos específicos a medida que se aleja el momento de la primoinfección, que tiene lugar, preferentemente, en la infancia. Los títulos medios obtenidos para esta población fueron de  $2147 \pm 2642$  para la IgG y  $54 \pm 116$  para la IgA. Al objeto de poder definir valores que pudieran ser tomados como significativos de

Figura 5. Curva de titulación del suero de referencia para IgA anti VVZ. A la dilución de conjugado utilizada (1300), se obtiene un título de 1600.

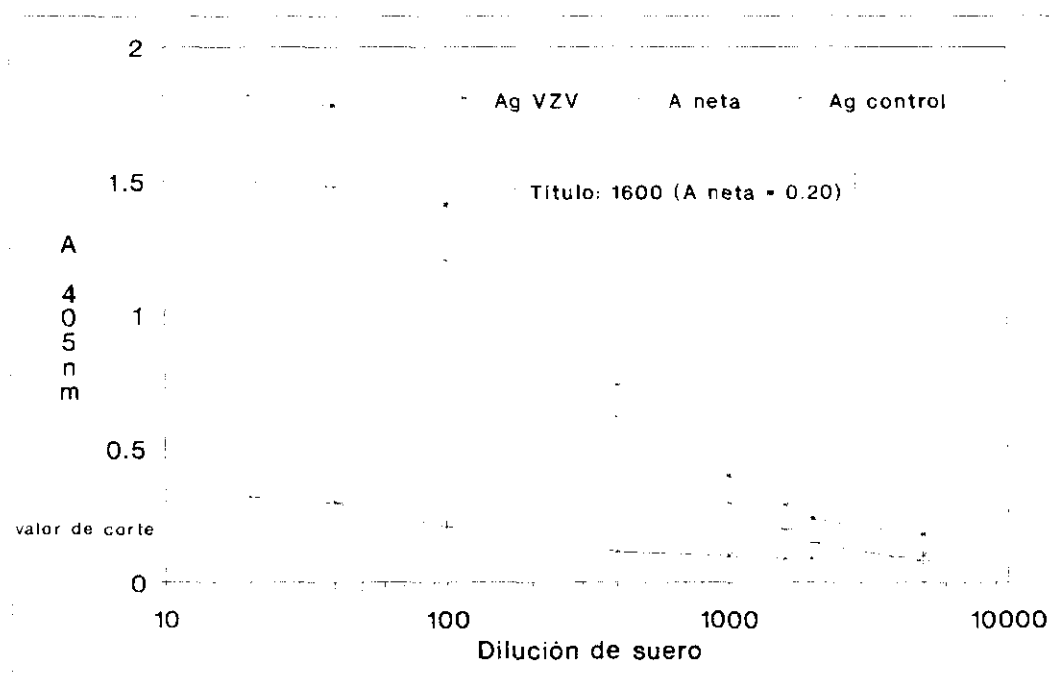


Tabla 1. Niveles de IgG e IgA anti-VVZ en 34 individuos de distintas edades que no presentaban historia reciente de infección primaria o recurrente por dicho virus (grupo control).

Edad (años)	No. de muestras	IgG $\geq 40$		IgA $\geq 10$	
		N (%)	$\bar{x} \pm SD$	N (%)*	$\bar{x} \pm SD$
5-15	7	5(71)	4580 $\pm$ 5600	1(20)	180 $\pm$ 16
19-38	17	17(100)	1830 $\pm$ 1094	8(47)	82 $\pm$ 16
50-70	10	10(100)	1470 $\pm$ 972	4(40)	15 $\pm$ 23
5-70	34	32(94)	2147 $\pm$ 2642	13(41)	54 $\pm$ 11

\*: sobre casos positivos para IgG

cara al diagnóstico, se tomó como criterio seleccionar, en principio, valores críticos superiores a la media obtenida sobre los controles más el doble de la desviación estándar por exceso de la media. Este criterio rinde valores críticos de 7500 para la IgG y 290 para la IgA. Para la IgM, basta con su mera presencia a la dilución mínima, ya que nunca se detectó entre los controles, lo que le confiere un alto valor diagnóstico.

En las Figuras 6-8 se presentan los resultados obtenidos para las IgG, IgM e IgA específicas, respectivamente, en las muestras de suero de los pacientes con varicela o zóster. La IgM específica fue detectable en la mayoría de los casos de varicela ya en las muestras tempranas (8/11, 73%), así como en la práctica totalidad de los casos estudiados durante la 2ª y 3ª semanas de evolución (11/12, 92%) o más adelante (6/6, 100%). Por contra, sólo se detectó en la tercera parte de las muestras tempranas tomadas de los pacientes con zóster (4/12) y en, aproximadamente, la mitad de las muestras tomadas en momentos más tardíos (8/15, 53% en la 2ª-3ª semanas; 6/12, 50% a partir de la 4ª semana). Estos resultados indican que la detección de IgM específica mediante la metodología utilizada tiene un rendimiento limitado en el diagnóstico de las recrudescencias del VVZ, ya que una parte importante de los casos van a cursar sin respuesta de anticuerpos IgM a niveles detectables.

Los niveles de IgG específica en los pacientes con zóster alcanzaron valores superiores al valor límite inicialmente fijado

Figura 6. Evolución de los niveles de IgG específica en suero durante la varicela (A) y el zóster (B). Se representan los títulos medios y el porcentaje de casos con títulos de IgG significativos en cada momento.

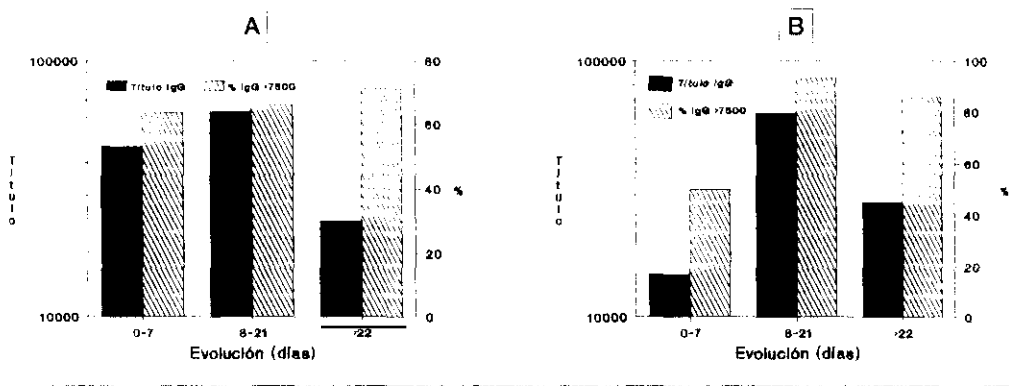


Figura 7. Evolución de los niveles de IgM específica en suero durante la varicela (A) y el zóster (B). Se representan los títulos medios y el porcentaje de casos con IgM detectable en cada momento.

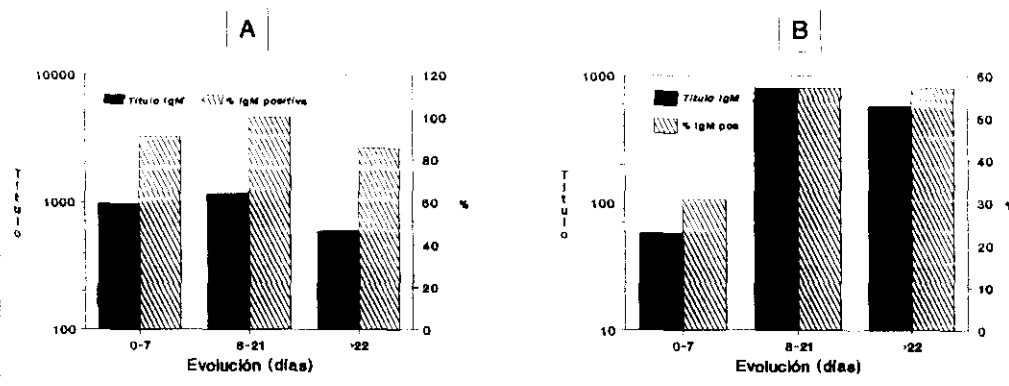
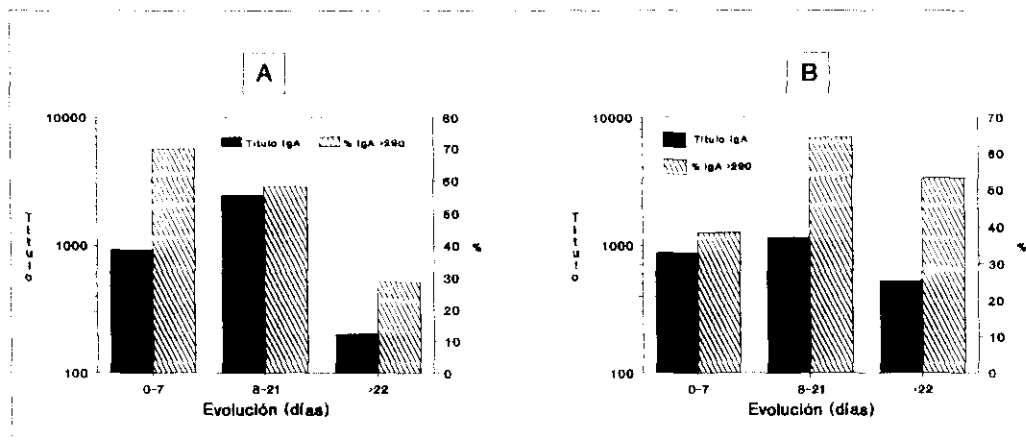


Figura 8. Evolución de los niveles de IgA específica en suero durante la varicela (A) y el zóster (B). Se representan los títulos medios y el porcentaje de casos con títulos de IgA significativos en cada momento.



(7500) en la mitad de las muestras tomadas en la primera semana de evolución y en 14 de las obtenidas en las dos semanas siguientes. De hecho, todas esas muestras menos una presentaron títulos de IgG específica iguales o superiores a 10000, lo que permite elevar el valor límite hasta dicha cifra y disminuir, por tanto, la posibilidad de obtener diagnósticos positivos falsos en pacientes que hayan sufrido la primoinfección en fechas próximas. Entre los pacientes con varicela, las dos terceras partes de las muestras tomadas en la 2ª y 3ª semanas de evolución mostraron, también, niveles de IgG específica superiores a 10000.

En lo que se refiere a la IgA específica, las dos terceras partes de las muestras tomadas en la 2ª y 3ª semanas de evolución del zóster presentaron niveles superiores al valor límite establecido tras el estudio de la población control (10/15), siendo en todos los casos superiores a 300. En la primoinfección, el rendimiento de este marcador fue más bajo, ya que sólo se cumplió el criterio en poco más de la mitad de las muestras tomadas en los momentos de máxima producción de anticuerpos (7/12, 58% en la 2ª y 3ª semanas de evolución).

Por último, se estudió la distribución en subclases de la IgG específica encontrada en el suero de los pacientes con varicela o zóster. De acuerdo a lo observado al estudiar los sueros negativos control y el suero positivo escogido, las diluciones de uso para los conjugados anti-subclases fueron 1:40000 para el anti-IgG1 y 1:1000 para los restantes (datos no mostrados). Los



resultados obtenidos se resumen en la Tabla 2, que recoge los porcentajes de presencia de cada una de las subclases en cada grupo de pacientes. En todos los casos se encontró respuesta de IgG1 y 3, que son las subclases mayoritarias en todas las infecciones víricas estudiadas hasta el momento. Sin embargo, las respuestas de IgG2 y 4 fueron significativamente más frecuentes entre los pacientes con zóster ( $p < 0.01$  para la IgG2;  $p < 0.001$  para la IgG4). Es de destacar que se documentó respuesta de IgG4 en todos los pacientes con zóster incluidos en el estudio.

Así pues, en este grupo de pacientes, la recrudescencia del VVZ quedó serológicamente caracterizada por la presencia de títulos  $\geq 10000$  de anticuerpos IgG, con IgA específica presente a niveles  $\geq 300$  y respuesta detectable de IgG4 específica y, en ocasiones, IgG2, en el momento de máxima producción de anticuerpos (2<sup>a</sup>-3<sup>a</sup> semanas tras el comienzo de los síntomas). La IgM específica tiene un alto valor diagnóstico cuando está presente, aunque los resultados indican que no es detectable en, aproximadamente, el 50% de los casos. Sobre esta base, la Tabla 3 resume una propuesta sencilla para el diagnóstico serológico de las primoinfecciones y recrudescencias debidas al VVZ, tomando como marcadores la presencia o ausencia de IgG, IgA y/o IgM específicas a determinadas diluciones de suero. Siguiendo este esquema, parece posible obtener rendimientos diagnósticos entre el 50 y el 80% en la fase temprana y entre el 90 y el 100% en momentos más tardíos.

Tabla 2. Frecuencias de detección de subclases de IgG anti-VVZ en el suero de 22 pacientes con varicela primaria y 22 pacientes con zóster. La detección se realizó mediante EIA indirecto con anticuerpos monoclonales.

Grupo	Número de pacientes	Respuesta de (N,%)			
		IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
Varicela	22	22,100	5,23	22,100	10,45
Zóster	22	22,100	15,68	22,100	22,100

Tabla 3. Esquema propuesto para el diagnóstico serológico de las infecciones por VVZ mediante EIA. Se incluye una estimación de su rendimiento en cada caso.

Tipo de infección	Marcadores a estudiar*	Eficacia (%)	
		Fase temprana	Fase tardía
Primaria	IgM a 1/40 IgA a 1/300	80	100
Recurrente	IgG a 1/10000 IgA a 1/300	50	90

\*: Se estudian las diluciones de suero indicadas para cada marcador y se anotan los resultados como positivo o negativo. Un caso se considera positivo cuando lo es para, al menos, un marcador.

#### **4.2. Análisis de la producción intratecal de anticuerpos específicos en pacientes con MLA causada por el virus de la parotiditis.**

De los 20 casos incluidos en el estudio, se detectó presencia de anticuerpos específicos en LCR en 15 (75%). Nueve casos presentaron IgG, IgM e IgA específicas en el LCR, uno presentó IgG e IgM específicas, tres presentaron sólo IgG específica y dos sólo IgM específica. La Tabla 4 muestra en términos absolutos y porcentuales los casos en que se obtuvieron valores significativos (indicativos de producción intratecal) para los distintos parámetros calculados. El Ieia sólo se calculó para la IgG específica, ya que las concentraciones de IgM e IgA totales encontradas en la mayoría de los LCR fueron tan bajas que no permitían aplicar este criterio en condiciones mínimamente fiables. Como se puede ver, para todas las inmunoglobulinas estudiadas el Iac.alb fué el de mejor rendimiento. Aunque el Ieia proporcionó también un alto rendimiento en la evaluación de la IgG específica, fué muy frecuente obtener resultados muy cercanos al valor límite. Como puede apreciarse en la Figura 9, esto no ocurrió con el Iac.alb, que ofreció resultados claramente superiores a dicho valor y, por tanto, una interpretación más fácil. En el **Anexo I** de esta memoria se detallan todos los resultados obtenidos para cada uno de los pacientes de este grupo.

#### **4.3. Marcadores de infección en pacientes con MLA y sospecha de infección por VVZ.**

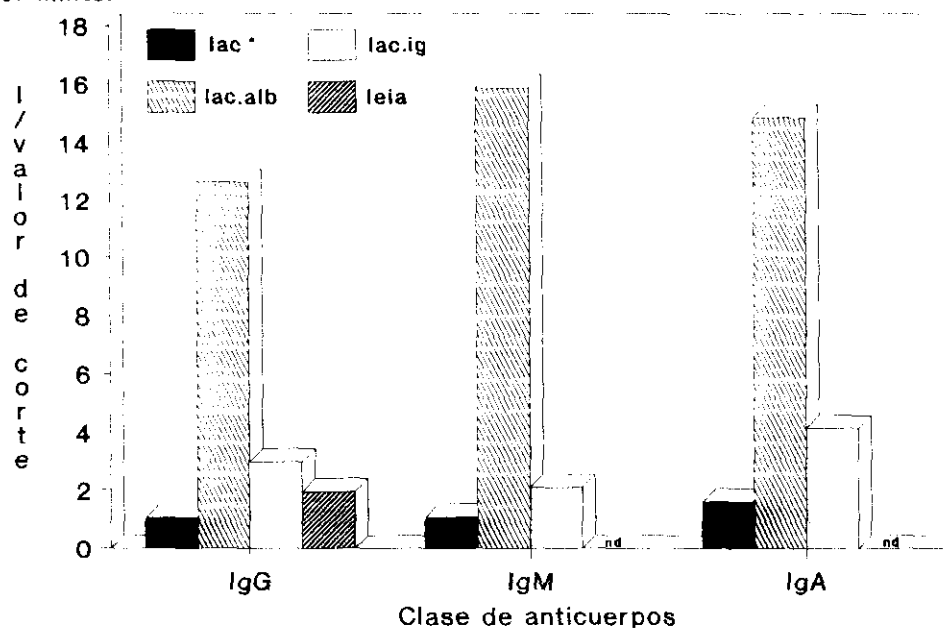
En el **Anexo II** de la presente memoria (pacientes 1 a 22), se muestran individualmente y con detalle los títulos de anticuerpos

Tabla 4. Detección de anticuerpos específicos de producción intratecal en 20 casos de MLA por virus de la parotiditis, según cuatro criterios distintos para su evaluación (ver texto para explicación de los índices).

Anticuerpos en LCR	Número de casos	Producción intratecal según (N,%)			
		lac	lac.alb	lac.ig	leia
IgG	13	6,46	11,85	10,77	11,85
IgM	12	4,33	10,83	7,58	ND
IgA	9	5,56	9,100	6,67	ND
<b>TOTAL</b>	<b>34*</b>	<b>15,44</b>	<b>30,88</b>	<b>23,68</b>	<b>-</b>

\*: Total de resultados positivos en los 20 LCRs estudiados

Figura 9. Valores de distintos índices de producción intratecal para IgG, IgM e IgA específicas en los momentos tempranos de la MLA por virus de la parotiditis. Para una comparación directa, se representa el cociente respecto al valor límite.



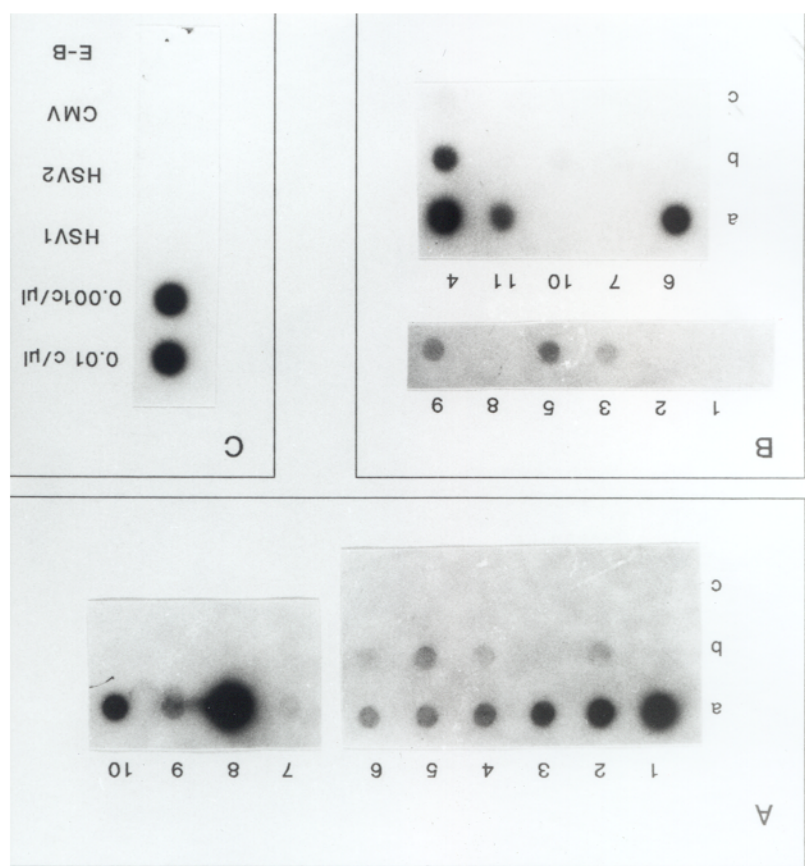
\*: valores transformados a 1/lac.

FC en suero, los títulos de IgG, IgM e IgA específica y la distribución en subclases de la IgG específica en suero y LCR, así como los valores obtenidos para los distintos índices utilizados para evaluar la producción intratecal de anticuerpos específicos en las distintas muestras de cada uno de estos pacientes. Se incluye también una representación gráfica de la evolución de los anticuerpos en suero y los valores de los índices de producción intratecal Iac.alb e Iac.ig para la IgG específica, junto con los resultados obtenidos en los ensayos de reacción de ADN viral en LCR.

### 3.1. Detección de virus en líquido cefalorraquídeo.

En todos los pacientes con lesiones cutáneas típicas del zóster se pudo aislar VVZ a partir del líquido vesicular. Con una sola excepción (Paciente 1, LCR 1), todas las muestras de LCR fueron negativas al ser procesadas para aislamiento de virus en cultivos celulares. Por el contrario, se pudo amplificar y detectar ADN del VVZ en muestras de LCR procedentes de 16 pacientes (16/21, 76.2%, Figura 10), incluyendo todos los que presentaron zóster cutáneo (10/10, 100%, Fig.10A) y seis de los que nunca manifestaron lesiones en piel (6/11, 54.5%, Fig.10B). En 16 casos (10 con zóster y seis sin lesiones cutáneas) se dispuso de muestras tempranas de LCR (1-10 días de evolución) para estudio; 13 de ellas (13/16, 81.2%) fueron positivas para ADN viral, persistiendo la positividad en muestras de seguimiento de cinco de los 12 casos estudiados (5/12, 41.7%). En ninguno de los tres casos restantes se obtuvieron resultados positivos en muestras

Figura 10. Detección de secuencias de ADN específicas del VVZ en muestras de LCR de pacientes con MLA y zóster cutáneo (A), pacientes con MLA sin lesiones cutáneas (B) y extractos de células infectadas con VVZ (dos concentraciones) u otros herpes (HSV1, y 2, CMV, EBV) (C).



a,b,c: muestras de seguimiento del mismo paciente.

más tardías. Por último, en cuatro casos sólo se pudieron estudiar muestras de LCR tomadas a más de 10 días de evolución; en tres de ellos se obtuvieron resultados positivos (3/5, 60%).

#### 4.3.2. Respuesta de anticuerpos en suero.

En la Tabla 5 se analiza la presencia de marcadores de infección por VVZ en suero en los 22 pacientes estudiados, comparándose los resultados obtenidos en función de la presencia o ausencia de lesiones cutáneas. Todos los casos presentaron evidencia de recrudescencia reciente al analizar los niveles de IgG específica, y el 91% de ellos mostraban, en consonancia con lo anterior, niveles detectables de IgG2 y/o 4 en suero. Además, el 86% presentaban niveles significativos de anticuerpos FC, el 68% mostraban niveles de IgA elevados y el 32% eran positivos para IgM específica. Al comparar entre sí los dos grupos de pacientes, sólo se observaron diferencias en lo referente a la respuesta de IgM, más frecuente entre los pacientes con zóster cutáneo (5/10, 50% vs. 2/12, 17%). Las Figuras 11-13 muestran la evolución en el tiempo de estos marcadores de infección en suero, considerando los porcentajes de casos con niveles elevados de cada marcador obtenidos en tres grupos de pacientes: con zóster cutáneo; sin zóster cutáneo y con ADN viral en LCR; sin zóster cutáneo y sin ADN viral en LCR. No se observan diferencias apreciables en los perfiles de evolución de marcadores entre los pacientes de los últimos dos grupos. Por el contrario, los pacientes con zóster cutáneo muestran claros perfiles de elevación de niveles de anticuerpos durante el seguimiento, hecho que no se observa tan

Tabla 5. Marcadores de infección por VVZ en suero de 22 pacientes con MLA relacionada con infección por dicho virus.

Grupo	N	Marcadores de recrudescencia (n,%)				
		Título FC	Título IgG	IgG2/4	IgM	Título IgA
Con zóster	10	9,90	10,100	9,90	5,50	8,80
Sin zóster	12	10,83	12,100	11,92	2,17	7,58
Total	22	19,86	22,100	20,91	7,32	15,68

Figura 11. Evolución de los niveles de anticuerpos FC anti-VVZ en suero en los casos de MLA relacionados con el VVZ. Se representa el porcentaje de muestras con títulos significativos en cada momento.

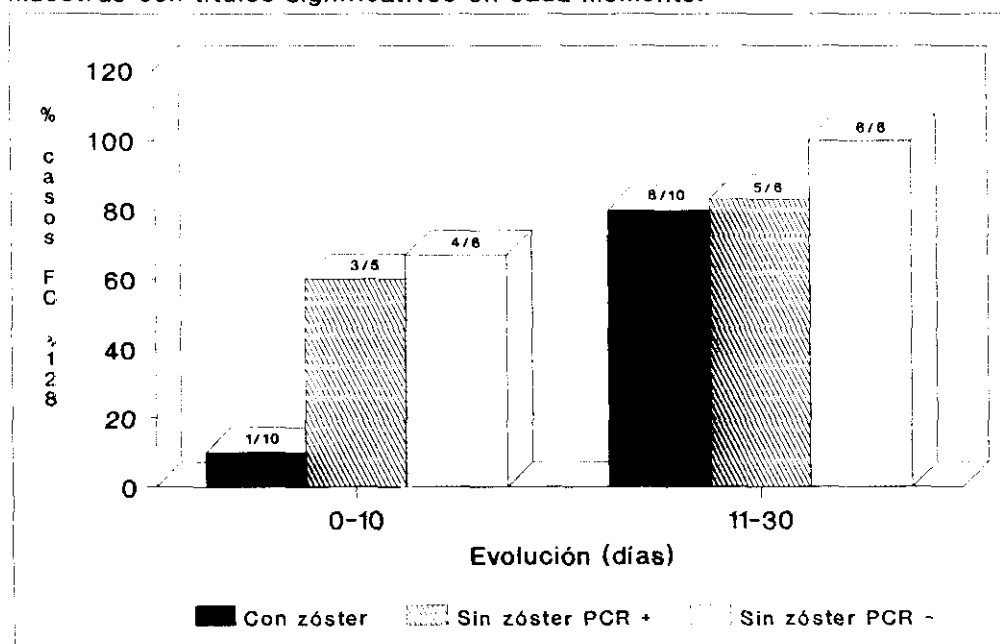




Figura 12. Evolución de la respuesta de IgG específica en suero en los casos de MLA relacionados con el VVZ. Se representan los porcentajes de muestras con niveles significativos de IgG específica (A) y con niveles detectables de IgG2 y/o IgG4 específicas (B) en cada momento.

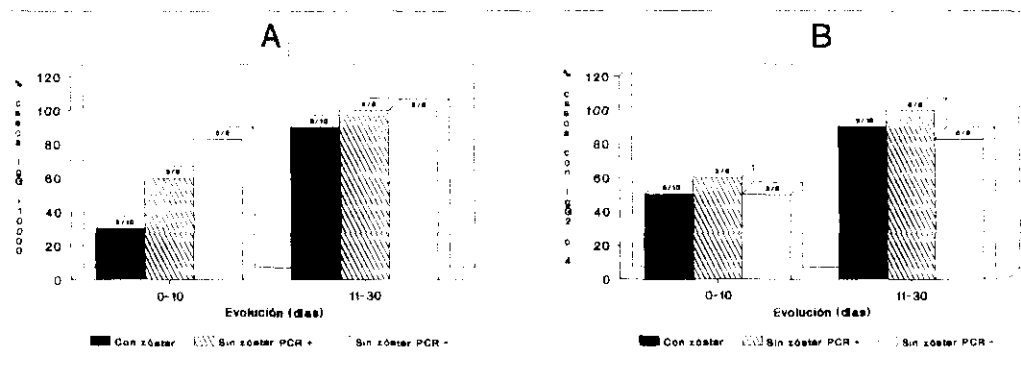
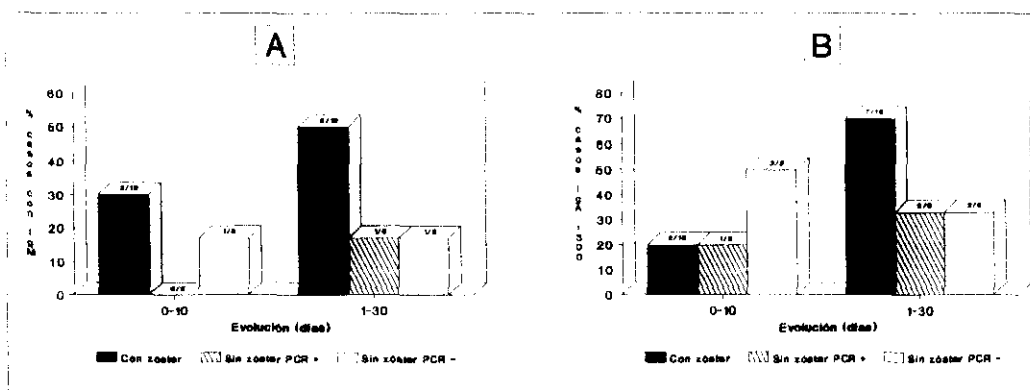


Figura 13. Evolución de los niveles de IgM (A) e IgA (B) específicas en los casos de MLA relacionados con el VVZ. Se representan los porcentajes de muestras con títulos significativos en cada momento.



claramente entre los restantes pacientes. Como puede observarse en la Tabla 6, en todos los casos se obtuvo evidencia serológica de recrudescencia reciente por VVZ mediante dos o más marcadores distintos, siendo lo más frecuente obtener tres o más marcadores positivos (20/22, 91%), independientemente del grupo de pacientes considerado.

#### 4.3.3. Producción intratecal de anticuerpos.

Por lo que se refiere a la detección de anticuerpos de producción intratecal, se obtuvo evidencia de producción local de IgG específica en los 22 casos estudiados (Tabla 7). Fué también frecuente detectar la presencia de más de una subclase de IgG específica en el LCR (14/22, 64%), y menos frecuente detectar producción intratecal de IgA específica (6/22, 27%). En términos generales, las dos terceras partes de los casos presentaron dos o más marcadores positivos de producción intratecal de anticuerpos anti-VVZ (Tabla 8), si bien esto fue más frecuente entre los pacientes con zóster cutáneo (9/10, 90% vs. 7/12, 58%), debido sobre todo a una mayor frecuencia de detección de patrones multisubclase para la IgG específica (ver Tabla 7). La Tabla 9 muestra la eficiencia de los tres índices utilizados para analizar la producción intratecal de IgG específica. De acuerdo a lo esperado, el Iac presentó un rendimiento muy bajo, mientras que los Iac.alb e Iac.ig rindieron ambos por encima del 90% en los dos grupos de pacientes estudiados. Las Figuras 14 y 15 muestran la evolución en el tiempo de ambos marcadores de producción intratecal de IgG, expresada como valores medios del

Tabla 6. Frecuencias de detección de marcadores de infección por VVZ en suero en 22 pacientes con MLA relacionada con infección por dicho virus.

Grupo	N	No. de marcadores positivos (n,%)				
		5	4	3	2	1
Con zóster	10	5,50	2,20	2,20	1,10	0
Sin zóster	12	2,17	3,25	6,50	1, 8	0
Total	22	7,32	5,23	8,36	2,29	0

Tabla 7. Presencia de distintos marcadores de infección del SNC por VVZ en 22 pacientes con MLA relacionada con infección por dicho virus.

Grupo	N	Marcadores infección SNC (n,%)			
		ADN en LCR	IgG multi-subclase	P.I. IgG	P.I. IgA
Con zóster	10	10,100	9,90	10,100	2,20
Sin zóster	12	6,50	5,42	12,100	4,33
Total	22	16,73	14,64	22,100	6,27

Tabla 8. Evidencias de la infección del SNC por VVZ obtenidas en 22 pacientes con MLA relacionada con dicho virus.

Grupo	N	No. marcadores positivos (n,%)			
		ADN en LCR	Prod. intratecal acs.		
			3	2	1
Con zóster	10	10,100	2,20	7,70	1,10
Sin zóster	12	6,50	1, 8	6,50	5,42
Total	22	16,73	3,14	13,59	6,27

Tabla 9. Rendimiento de tres criterios distintos en la detección de IgG específica de producción intratecal en 22 pacientes con MLA y evidencia de infección del SNC por VVZ.

Grupo	N	Producción intratecal IgG anti-VVZ (n,%)		
		lac <32	lac.alb >0.8	lac.ig >2.0
Con zóster	10	2, 20	10, 100	9, 90
Sin zóster	12	3, 25	11, 92	11, 92
<b>TOTAL</b>	<b>22</b>	<b>5, 23</b>	<b>21, 95</b>	<b>20, 91</b>

Figura 14. Evolución del lac.alb para IgG específica en los casos de MLA relacionados con el VVZ. Se representan los valores medios (A) y el porcentaje de casos con valores indicativos de producción intratecal (B) en cada momento.

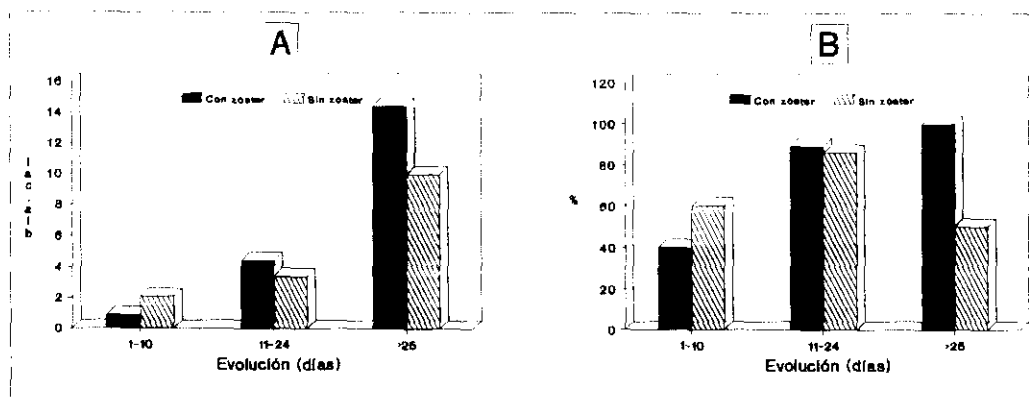


Figura 15. Evolución del Iac.ig para IgG específica en los casos de MLA relacionados con el VVZ. Se representan los valores medios (A) y el porcentaje de casos con valores indicativos de producción intratecal (B) en cada momento.

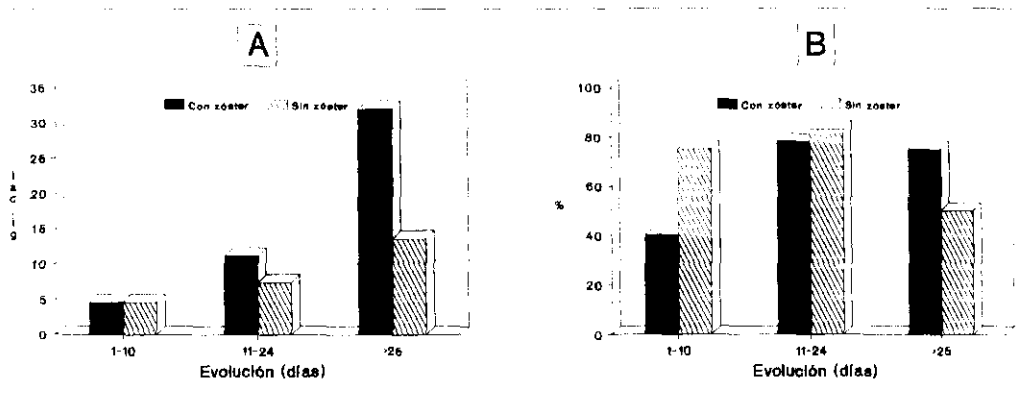
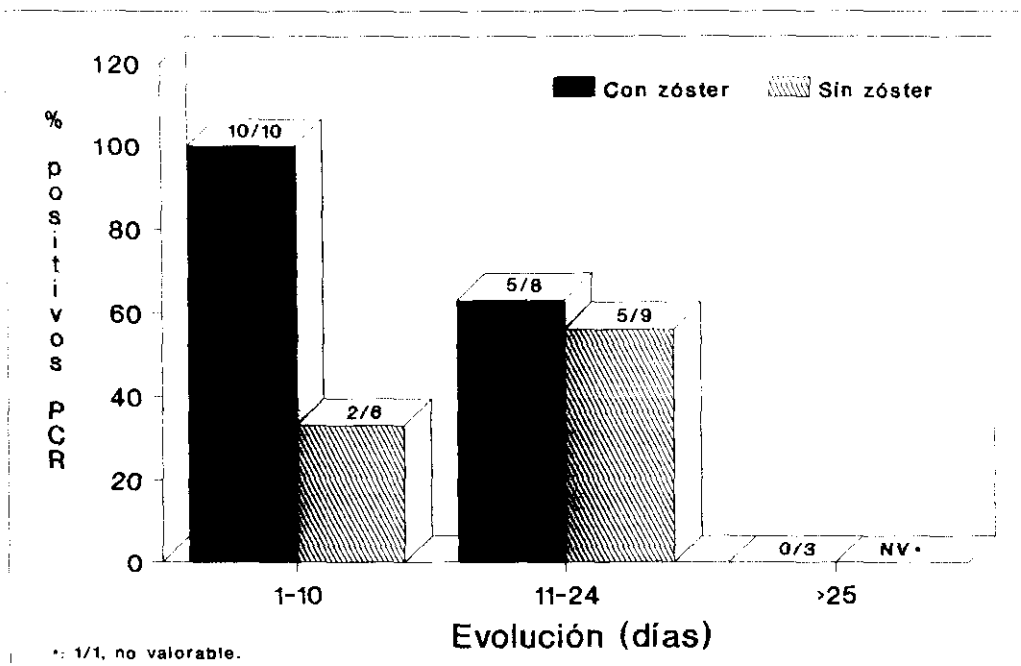


Figura 16. Evolución de la presencia de ADN viral en LCR, detectable por PCR, en los casos de MLA relacionados con el VVZ. Se representa el porcentaje de casos positivos en cada momento.



índice (A) y como porcentaje de pacientes que presentaron valores del índice superiores al valor crítico considerado (B). De la misma forma, la Figura 16 muestra la evolución de la detección de ADN viral en LCR, expresada como porcentaje de casos estudiados en cada intervalo de evolución que presentaron resultado positivo en el ensayo de amplificación por PCR. Por último, las Figuras 17 y 18 presentan, en forma individualizada, la evolución de los valores del Iac.alb para IgG específica y de la detección de ADN viral en los 22 pacientes estudiados.

Durante los primeros diez días de evolución del cuadro neurológico, las Figuras 14 y 15 coinciden en mostrar un porcentaje mayor de casos con producción intratecal de IgG específica entre los pacientes que no presentaban lesiones cutáneas, ello debido a la existencia de seis pacientes con zóster cutáneo en los que no fué posible detectar IgG anti-VVZ en las muestras de LCR tomadas durante esta fase de la enfermedad. En el siguiente intervalo de evolución (11-24 días), los porcentajes obtenidos en ambos grupos de pacientes se equilibran, alcanzando valores cercanos al 80%. En momentos tardíos (más de 25 días de evolución), el porcentaje de detección y el valor medio del índice alcanzan su máximo en los pacientes con zóster; en los pacientes sin lesiones cutáneas, el porcentaje de detección desciende apreciablemente, si bien el valor medio de los índices aumenta merced a la elevación en los valores que se observa en los que aún presentan producción intratecal de anticuerpos. Paralelamente, la frecuencia de detección de ADN

Figura 17. Correlación entre presencia de ADN viral en LCR y producción intratecal de IgG anti-VVZ en 10 pacientes con MLA y zóster cutáneo.

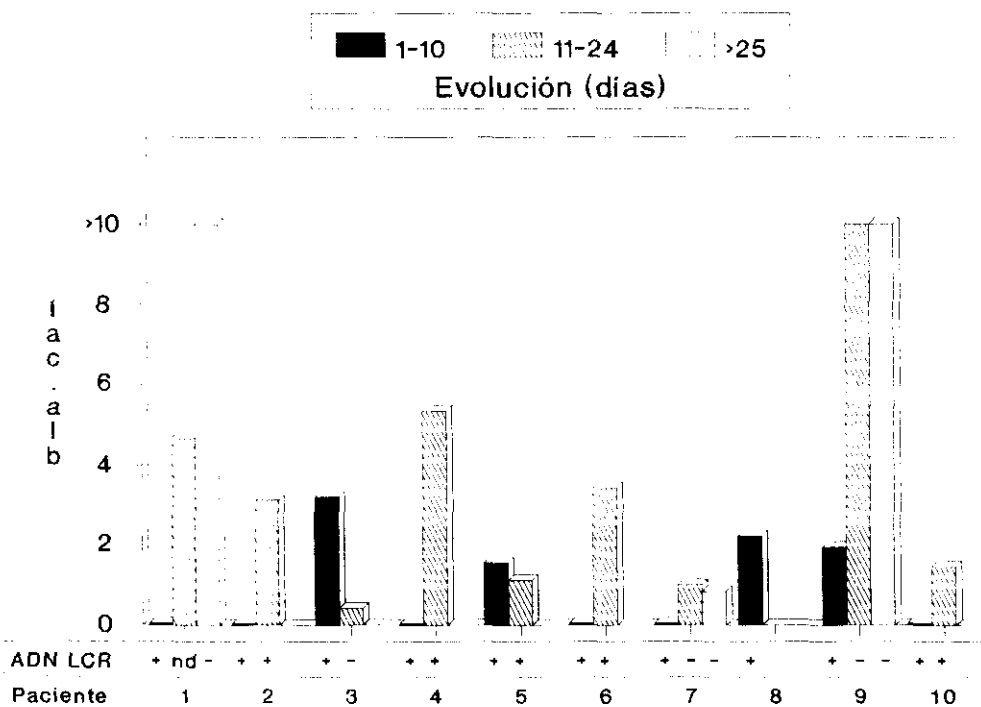
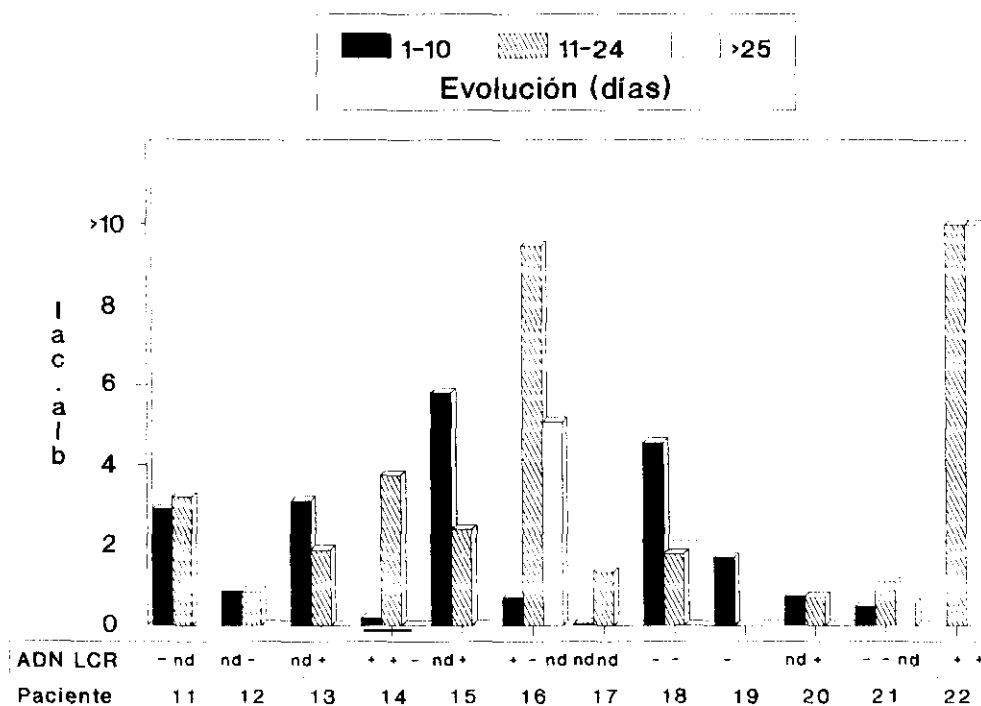


Figura 18. Correlación entre presencia de ADN viral en LCR y producción intratecal de IgG anti-VVZ en 12 pacientes con MLA que no presentaron zóster cutáneo.





viral en LCR disminuye paulatinamente entre los pacientes con zóster, mientras que no presenta ninguna tendencia clara entre los restantes pacientes. No obstante, la imposibilidad de realizar estudios de PCR en momentos tempranos en la mitad de estos últimos limita claramente la interpretación de los resultados. Por último, cabe destacar dos aspectos de los resultados que se presentan en las Figuras 17 y 18: el hecho de haber podido demostrar en seis casos la presencia de ADN viral en el LCR antes de que fuera detectable la presencia de anticuerpos específicos en dicho fluido; el hallazgo de índices elevados de producción intratecal de IgG específica en dos de los cinco pacientes en los que no se pudo detectar ADN viral en el LCR (valores superiores a 2.0 para el Iac.alb, pacientes 11 y 18).

---

## 5. DISCUSION

### 5.1. Criterios de diagnóstico serológico en las infecciones por VVZ.

Aunque, como ya se ha comentado, los resultados obtenidos previamente por otros grupos en cuanto al rendimiento diagnóstico de los distintos marcadores serológicos de infección por VVZ son dispares y, en ocasiones, difíciles de acordar, los obtenidos en este estudio coinciden con muchos en señalar la utilidad diagnóstica de la detección de IgA específica en la recrudescencia [Cradock-Watson y Ridehalgh, 1979; Levy y Sarov, 1981; Forghani et al., 1984] y el escaso rendimiento de la detección de IgM específica [Hacham et al., 1980; Levy y Sarov, 1981; Forghani et al., 1984]. Se ha sugerido que la frecuencia de la respuesta de IgM específica en el zóster disminuye con la edad de los pacientes estudiados [Cradock-Watson y Ridehalgh, 1979], por lo que resulta coherente que en los pacientes estudiados aquí la frecuencia de respuesta haya sido baja, habida cuenta de su edad media. Obviamente, los valores críticos propuestos para cada marcador sólo podrán considerarse válidos cuando se utilice la metodología usada aquí, por lo que no se deben generalizar en modo alguno. Por lo que se refiere a la distribución en subclases de la IgG específica, los resultados obtenidos confirman el predominio de las subclases 1 y 3 en la respuesta de anticuerpos frente a la primoinfección y la recurrencia [Sundqvist et al., 1984; Doerr et al., 1987; Asano et al., 1987]. Con respecto a las subclases 2 y 4, los resultados publicados hasta el momento de la realización de este estudio

fueron claramente discrepantes: Sundqvist y colaboradores encontraron con frecuencia respuesta de IgG4 tanto en la varicela como en el zóster, mientras que sólo detectaron IgG2 en la mitad de los casos de varicela y ocasionalmente en los casos de zóster. Por el contrario, Asano y colaboradores detectaron respuesta de IgG2 en la mayoría de los pacientes con varicela y Doerr y colaboradores encontraron IgG4 sólo en una pequeña proporción de los casos de zóster. Una vez más, y al margen de posibles diferencias individuales en la respuesta, las diferencias técnicas pueden justificar las discrepancias, especialmente en el caso de la IgG2 [Jefferis et al., 1985]. En nuestro caso, parece que las condiciones técnicas empleadas permiten explotar la detección de IgG2 y 4 como marcadores asociados a recrudescencia, lo que tiene una clara utilidad en diagnóstico, independientemente de cuál sea su grado de coincidencia con la realidad biológica.

## **5.2. Criterios para la identificación de anticuerpos de producción intratecal en las MIA.**

Como ya se ha comentado en la introducción de esta memoria, la detección de anticuerpos específicos de producción intratecal ofrece una alternativa de diagnóstico en las infecciones víricas del SNC en las que el aislamiento de virus en el LCR no es posible, o sólo se consigue en condiciones extremadamente favorables. Los distintos criterios propuestos para evaluar dicha producción intratecal se han sometido a algunos estudios comparativos de especificidad, pero limitados tan sólo a grupos de pacientes que presentaban procesos subagudos o crónicos del

SNC de probable etiología infecciosa y presencia de anticuerpos específicos en el LCR frente a distintos virus que, de alguna manera, se han querido relacionar con dichos procesos. La información contenida en estos estudios no es, sin embargo, útil para seleccionar criterios adecuados al diagnóstico de las infecciones víricas agudas del SNC, cuya patogenia e historia natural es radicalmente distinta. Además, al no ser posible establecer con claridad la etiología de los síndromes que presentaban los pacientes estudiados en base a otros criterios, los trabajos mencionados no ofrecen ninguna información sobre la sensibilidad de cada criterio. Este último extremo puede no ser importante en las infecciones subagudas o crónicas, pero resulta vital cuando se trata de establecer el diagnóstico en infecciones agudas autolimitadas, como son las MLA víricas.

Los casos incluidos en nuestro estudio de evaluación de criterios de producción intratecal de anticuerpos presentan evidencia clara de infección aguda por el virus de la parotiditis, al ser posible en todos ellos detectar presencia de IgM específica en suero en los momentos inmediatos a la presentación clínica de la MLA, así como elevación clara en los niveles de IgG específica en 12 de los 18 casos con seguimiento. Además, en el 40% de los casos fue posible documentar un antecedente de enfermedad febril con inflamación parotídea en las dos semanas previas al inicio de los síntomas neurológicos. En estas condiciones, es razonable interpretar la presencia de anticuerpos anti-parotiditis en el LCR como procedentes de síntesis intratecal, ofreciendo así una

base para poder comparar la sensibilidad de los distintos criterios aplicados.

Coincidiendo con descripciones previas [Glikmann et al., 1986], se ha encontrado IgG e IgM específicas en el LCR de muchos de los pacientes con meningitis por virus de la parotiditis. Con frecuencia, se detectaron también anticuerpos IgA, que resultaron de procedencia intratecal según distintos criterios de confirmación, hecho hasta ahora no descrito. Además, se ha podido comprobar que existen diferencias muy significativas en la sensibilidad de los distintos criterios aplicados para evaluar la procedencia intratecal de todas las clases de inmunoglobulinas específicas detectadas. Resulta especialmente interesante la baja sensibilidad encontrada para el Iac, ya que ha sido el más frecuentemente utilizado durante muchos años para este tipo de estudios. Tomando como límite un valor de 32 para este índice, sólo fué capaz de proporcionar la respuesta correcta en ocho casos, y ello sólo combinando todas las posibilidades que ofreció la búsqueda de tres clases distintas de inmunoglobulinas específicas (8/15, 53%).

Tres de los parámetros evaluados mostraron altas correlaciones de sensibilidad sobre el panel de muestras utilizado (Iac.alb, 83-100%; Iac.ig, 58-77%; Ieia, 85%). Como ya se ha hecho notar, el Ieia rindió, en muchos casos, valores tan cercanos al límite que hacen preveer serias dificultades de interpretación en su uso rutinario y le harían estar sujeto a importantes variaciones, en

función de la reproducibilidad del método que se utilice para obtener las absorbancias sobre las diluciones clave de suero y LCR. Así mismo, el Iac.ig es difícil de obtener con precisión cuando se trata de evaluar la presencia de anticuerpos de las clases IgM e IgA, debido a la dificultad que plantea medir con precisión las extremadamente bajas concentraciones de estas inmunoglobulinas en el LCR. Aunque los métodos de nefelometría mejoran notablemente la sensibilidad de la técnica de inmunodifusión radial utilizada en este estudio, la falta de reactivos estandarizados para estas bajas concentraciones limitan seriamente el uso diagnóstico de dicho parámetro en estos casos. Por el contrario, el Iac.alb nunca ofreció problemas, ni en su obtención, ni en su interpretación, por lo que se puede concluir que fue, en la práctica, el parámetro de evaluación más eficaz.

Se han propuesto valores límite comprendidos entre 0.8 y 1.9 para la interpretación del Iac.alb de cara a diagnóstico [Klapper et al., 1981; Arnadottir et al., 1982]. Entre los casos estudiados, ocho valores quedaron comprendidos en este rango. Sin embargo, en todos estos casos la procedencia intratecal de los anticuerpos detectados quedó confirmada por uno o más de los restantes parámetros utilizados. Así, parece que el uso del valor límite alto (1.9) puede generar una pérdida apreciable de sensibilidad cuando se utiliza el Iac.alb en el diagnóstico de las infecciones víricas agudas del SNC o, al menos, en las MLA.

En el año 1988, Mathiesen y colaboradores [Mathiessen et al.,

1988] propusieron que la comparación directa de valores de absorbancia en EIA para IgG específica en parejas suero-LCR diluidas a una diferencia de 100 veces, sin determinación previa de IgG total, facilitaría la utilización del Ieia sin pérdida de la sensibilidad y especificidad del criterio. Aunque se trata, sin duda, de una interesante aproximación práctica, los autores no proporcionan ninguna guía para seleccionar las diluciones correctas en cada caso. Así, la dilución de suero debe ser lo suficientemente alta como para evitar los fenómenos de prozona, que pueden ser intensos en el EIA indirecto a altas concentraciones de anticuerpos y podrían determinar la obtención de resultados positivos falsos. Por otro lado, la sensibilidad final dependerá mucho de la dilución del LCR, que no podrá ser muy alta si se quieren evitar los resultados negativos falsos. Por todo ello, este criterio no fué incluido en nuestro estudio.

Así pues, los resultados obtenidos en este estudio indican que el cálculo del Iac.alb y su evaluación mediante un valor límite fijado en 0.8 proporciona un criterio claro, sensible y razonablemente sencillo de obtener cuando se trata de identificar la procedencia intratecal de las IgG, IgM e IgA específicas frente a un agente vírico que se detecten en el LCR de un paciente que sufra una infección aguda autolimitada del SNC, más concretamente un cuadro de MLA. Otros criterios pueden ser menos sensibles, más comprometidos en su interpretación o más difíciles de obtener, aunque ofrecen una ayuda adicional en ciertos casos.

### 5.3. Implicación del VVZ como agente causal de los cuadros de MLA estudiados.

El neurotropismo del VVZ y su capacidad para inducir trastornos del SNC en el hombre tras la recurrencia han sido ampliamente documentados. Aún en los pacientes con zóster que no presentan complicaciones neurológicas clínicamente reconocibles, se ha demostrado la existencia de pleocitosis en el LCR en ausencia de signos de irritación meníngea e, incluso, se ha podido comprobar la presencia de virus en dicho fluido [Gold, 1966] y de respuesta intratecal de anticuerpos específicos [Forsberg et al., 1984]. Además, en pacientes inmunocompetentes se ha comprobado que el zóster puede acompañarse de cuadros de encefalitis, encefalomielitis, meningoencefalitis, meningitis, angiitis y parálisis facial, entre otros [revisado por Jemsek et al., 1983; Weller, 1983a, 1983b]. Por último, se ha documentado que la generalización del zóster en individuos inmunodeprimidos se asocia frecuentemente a cuadros de encefalitis, meningoencefalitis y otros síndromes del SNC, lo que ha motivado distintos estudios de evaluación de la terapia con Acyclovir en el tratamiento de estas situaciones [Steel et al., 1983; Peterson y Ferguson, 1984; Peterslund, 1988].

Los estudios serológicos descritos en los pacientes con MLA e IgG anti-VVZ en LCR parecen demostrar que la enfermedad neurológica que sufrieron coincidió en el tiempo con una recrudescencia del VVZ latente. De hecho, todos ellos presentaron dos o más marcadores de infección por VVZ en suero, de acuerdo a los criterios establecidos previamente. Conforme a lo esperable en



casos de recrudescencia, la respuesta de IgM específica estuvo mayoritariamente ausente, obteniéndose la evidencia de infección en base a los niveles de IgG específica y a los títulos obtenidos mediante FC. Cabe destacar el alto rendimiento diagnóstico de la detección de IgG2 e IgG4 específicas (91%) y el más discreto, aunque nada despreciable, de la detección de niveles elevados de IgA específica (68%), que sugieren que estos dos marcadores serológicos pueden ser muy útiles en el diagnóstico.

En lo que concierne a la respuesta intratecal de anticuerpos, la falta de criterios claros para su demostración nos movió a diversificar el estudio a la obtención de distintos indicadores que permitieran una interpretación de resultados mejor apoyada. Es importante resaltar que la producción intratecal de IgG específica, que fue con mucho el indicador de mayor rendimiento, se documentó en base a dos índices distintos (Iac.alb, Iac.ig), cuya interpretación coincidió en la inmensa mayoría de los casos. De nuevo resaltar la utilidad del estudio de subclases de IgG específica en LCR, que fué capaz de proporcionar un diagnóstico adecuado en más de la mitad de los casos, en base a la detección de subclases adicionales a la IgG1. El hallazgo de patrones multisubclase para la IgG específica en LCR se ha propuesto como un criterio diagnóstico útil, especialmente en los casos en que se detecta IgG específica frente a más de un agente y es necesario realizar un diagnóstico diferencial [Mathiessen et al., 1989]. Nuestros resultados apoyan la utilidad del criterio, si bien muestran que no se cumple en un porcentaje significativo de

los casos. El análisis de la IgA específica tuvo, por el contrario, bajo rendimiento, si bien se pudo demostrar su producción intratecal con alguna frecuencia. Por todo ello, y aún cuando sólo aporte una evidencia indirecta de infección del SNC que será siempre discutible, consideramos que la respuesta intratecal de anticuerpos específicos frente al VVZ queda razonablemente demostrada en nuestros pacientes.

Aceptando que la presencia de un virus en LCR asociada a un cuadro neurológico ha de tomarse como prueba de infección del SNC por el virus considerado [Grandien y Olding-Stenkvis, 1984], la detección de ADN viral en LCR demuestra la implicación etiológica del VVZ en la producción de MLA en 16 de los pacientes estudiados, de los que seis nunca presentaron las lesiones cutáneas que son típicas de la recrudescencia del virus. Aunque la amplificación de ADN viral mediante PCR puede estar sujeta a reacciones inespecíficas por distintos motivos, la fiabilidad de los resultados obtenidos en este estudio viene avalada por los siguientes hechos: 1. La especificidad del método de amplificación, que rindió resultados negativos al aplicarlo sobre altas concentraciones de ADN humano y ADN obtenido de cuatro virus herpes humanos distintos del VVZ (HSV1, HSV2, CMV, EBV); 2. La detección final de los amplificados mediante hibridación, que excluye la detección de productos de amplificación no específicos que puedan compartir con el fragmento específico las secuencias de reconocimiento de los iniciadores; 3. La demostración paralela de respuesta inmune intratecal específica,

que, a nuestro entender, excluye la posibilidad de que la detección de genoma viral en el LCR constituya un hallazgo casual, no relacionado con la enfermedad neurológica; 4. La desaparición de la señal de amplificación, o la disminución de su intensidad, durante el seguimiento, que es acorde con la evolución de la respuesta inmune intratecal y coherente con respecto a la evolución del cuadro clínico. En base a estos hechos, parece razonable afirmar que las señales de amplificación de secuencias de ADN del VVZ obtenidas en este estudio responden a la presencia real de genoma viral en el LCR y son reflejo de infección del SNC por dicho agente.

#### **5.4. MLA por VVZ en ausencia de lesiones cutáneas.**

Aunque las lesiones cutáneas características del zóster han sido tradicionalmente la base para implicar al VVZ en la etiología de un cuadro neurológico, se ha descrito que las que presentan muchos individuos jóvenes inmunocompetentes pueden ser tan discretas como para escapar a un examen rutinario [Martínez Martín et al., 1985b]. Además, al margen de los pacientes que se incluyen en este trabajo, se han descrito en los últimos 13 años 20 pacientes con distintos síndromes del SNC que, sin mostrar lesiones cutáneas compatibles con zóster, presentaron alguna evidencia que sugería una recrudescencia del VVZ coincidiendo con el cuadro neurológico. La serie incluye pacientes con encefalitis [Möller et al., 1982; Mayo et al., 1989], meningoencefalitis [Vartdal et al., 1982], meningitis linfocitaria [Martínez Martín et al., 1985a; Mayo et al., 1989; Puchhammer-Stöckl et al.,

1991], parálisis de Bell [Gershon et al., 1980; Puchhammer-Stöckl et al., 1991], mielitis y otras neuropatías [Mayo et al., 1989; Heller et al., 1990] y vasculitis intracraneal [Vílchez Padilla et al., 1982].

El diagnóstico etiológico de los síndromes del SNC asociados al VVZ es difícil de establecer en el laboratorio, ya que el aislamiento del virus en el LCR es sólo un hallazgo ocasional [Falcó et al., 1991]. La mayoría de los casos que no presentaban lesiones cutáneas en las series mencionadas se diagnosticaron en base a criterios relacionados con los niveles de anticuerpos en suero, aunque en algunos se aportaron ciertas evidencias de producción intratecal de anticuerpos [Gershon et al., 1980; Vartdal et al., 1982; Martínez Martín et al., 1985a] o de presencia de ADN viral en el LCR [Puchhammer-Stöckl et al., 1991]. No obstante, en ninguno de estos casos se han aportado pruebas suficientes de presencia de VVZ en LCR asociada a síntesis intratecal de anticuerpos, que constituiría una evidencia definitiva.

En este contexto, las pruebas obtenidas en el presente trabajo, que demuestran la presencia de ADN viral en LCR asociada a síntesis intratecal de anticuerpos en muchos de los pacientes estudiados, aportan una evidencia suficiente para afirmar el papel del VVZ como agente etiológico de cuadros de MLA en individuos jóvenes inmunocompetentes en ausencia de zóster cutáneo. En consonancia con esta interpretación, los resultados

obtenidos por Alvarez Cermeño y colaboradores [Alvarez Cermeño et al., 1989] sobre un subgrupo de los pacientes aquí presentados demostraron la producción intratecal temprana de un antígeno HLA soluble de clase I que parece actuar como una señal que estimula la síntesis de ADN en los linfocitos previa a la producción de anticuerpos. En varios pacientes, la presencia de dicha molécula en el LCR precedió la aparición de IgG anti-VVZ y se demostró en muestras en las que este estudio ha detectado la presencia de ADN viral. Todas estas evidencias respaldan, además, en gran medida los resultados publicados por otros grupos y sugieren que el espectro de enfermedad neurológica que puede asociarse a la recurrencia del VVZ en ausencia de lesiones cutáneas es, en realidad, tan amplio como el que se ha observado asociado al zóster.

Así mismo, la evidencia presentada indica que el diagnóstico de laboratorio es imprescindible para la identificación de estos casos y, por tanto, para evaluar correctamente el papel que juega el VVZ en el contexto general de las infecciones agudas del SNC. En este sentido, parece que sólo la combinación de métodos sensibles para detección de ADN viral en LCR y criterios adecuados para la demostración de IgG específica de síntesis intratecal puede optimizar el rendimiento de estos estudios, en los que se debe tener siempre muy en cuenta el momento de la toma de muestras para interpretar correctamente los resultados. Otros estudios, como la determinación y seguimiento de niveles de IgG, IgM e IgA específicas en suero o el estudio de la presencia de

IgG2 e IgG4 frente al VVZ en suero y LCR, pueden aportar evidencias complementarias en algunos casos, pero no deben constituir la base del diagnóstico.

#### **5.5. Papel del VVZ en el contexto de las meningitis linfocitarias agudas.**

La falta de estudios sistemáticos de diagnóstico de laboratorio de infección por VVZ en la inmensa mayoría de las series de MLA publicadas hasta el momento hace que existan muy pocos datos para evaluar el papel del VVZ como agente productor de MLA en relación a otros agentes. En lo que conozco, sólo las series publicadas por Téllez y cols. y Martínez Martín y cols. en 1989 aportan información en este sentido.

En la primera de ellas, realizada sobre 632 casos de MLA en pacientes pediátricos y adultos, se documentaron 40 casos atribuibles al VVZ. Esto supuso el 6.3% del total de casos incluidos, el 9.7% de los 414 casos en los que se dispuso de muestras e información suficiente para realizar un correcto estudio de laboratorio y el 19.2% de los 208 casos en los que se obtuvo alguna evidencia que implicara a alguno de los agentes estudiados. En la subpoblación de pacientes adultos (149 casos), dichos porcentajes fueron del 11.4% (17/149), 15.2% (17/112) y 33.3% (17/51). En la segunda serie, que incluyó 390 casos de meningitis en pacientes adultos atendidos en el Hospital Nacional de Enfermedades Infecciosas a lo largo de tres años, se estudiaron 175 casos de MLA, encontrándose 16 casos atribuibles al VVZ. Esto representó el 4.1% de los 390 casos atendidos, el

9.1% de los de MLA, el 14.5% de los 110 casos de MLA que pudieron estudiarse en el laboratorio y el 32.7% de los 49 en los que se pudo identificar el posible agente etiológico.

La MLA ha sido considerada como una manifestación clínica muy infrecuente de la recurrencia del VVZ, hasta el punto de que este virus no ha sido contemplado en la mayoría de los estudios publicados en relación a ésta enfermedad. No obstante, las series analizadas aquí sugieren, a la luz de los resultados del presente estudio, que su participación en la etiología de las MLA, consideradas en su conjunto, roza el 10%, y puede llegar al 15% en los pacientes adultos. Cuando sólo se consideran los casos de probada etiología vírica, el porcentaje global se acerca al 20%, superando el 30% en los adultos. Parece, pues, claro que una investigación sistemática de la infección por VVZ en los casos de MLA podría cambiar la idea general antes mencionada. En este sentido, los datos aportados en esta memoria facilitan el uso de unas herramientas de diagnóstico y unos criterios de interpretación útiles para cualquier grupo que desee abordar este tipo de investigaciones.

#### **5.6. Patogenia de las manifestaciones neurológicas de la infección por VVZ.**

Dentro del esquema patogénico clásico de las infecciones por VVZ, las manifestaciones neurológicas se han considerado, en general, como complicaciones de la primoinfección o la recrudescencia, que suceden tras la replicación del virus en la piel, el fallo de los

mecanismos de control inmune y su llegada al SNC vía torrente circulatorio. Al margen de esto, se acepta que la inflamación local producida por la replicación del virus en el (los) ganglio(s) espinal(es) durante la recurrencia genera una leptomeningitis, normalmente sin signos de irritación meníngea detectables en la exploración, que es responsable de la pleocitosis del LCR que se asocia con frecuencia al zóster. En la encefalitis focal producida por recrudescencia de los VHS, que cursa casi siempre en ausencia de lesiones cutáneas, se ha demostrado que el virus alcanza el parénquima encefálico viajando por el interior de los axones que parten del trigémino hacia el lóbulo temporal ("recurrencia centrípeta"), oculto a los mecanismos de detección y eliminación inmune. En lo que conozco, y excluyendo algunas neuropatías periféricas, nunca se ha aceptado la posibilidad de que la recurrencia del VVZ pudiera dar lugar a infecciones del SNC a través de un mecanismo similar, sino que más bien se ha dudado de, o se ha restado importancia a, los hallazgos que sugerían que este virus fuera capaz de inducir enfermedad neurológica en ausencia de lesiones cutáneas.

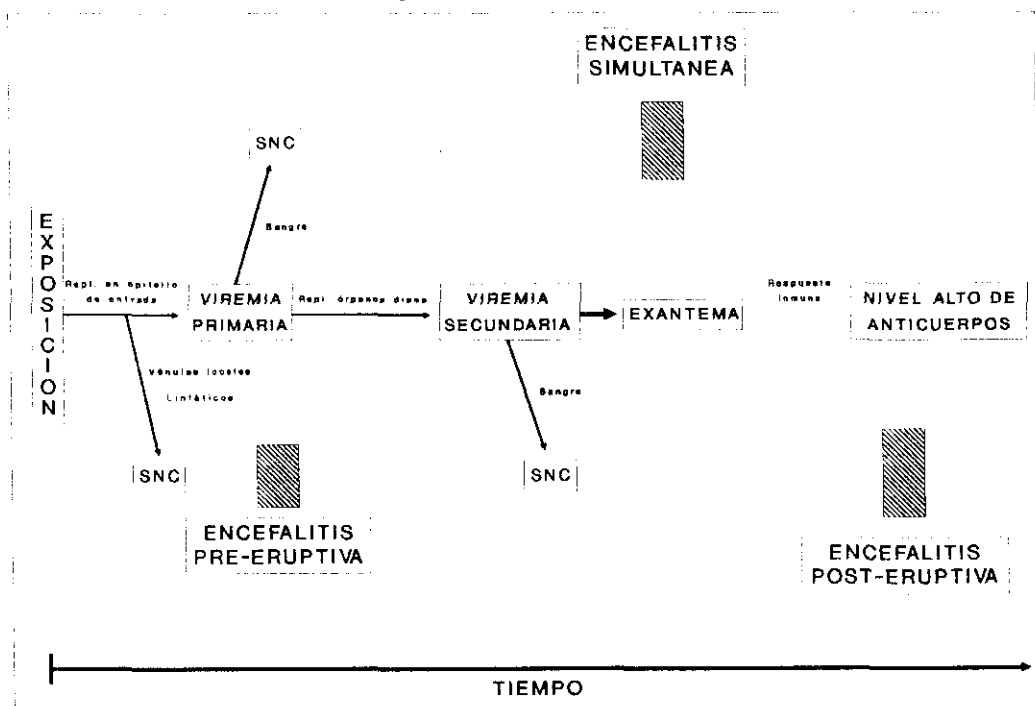
La encefalitis asociada a la infección primaria por el VVZ se produce días después de la aparición del exantema y responde a un fenómeno inmunopatológico. Sin embargo, en pacientes inmunodeprimidos existen cuadros de encefalitis que derivan de la invasión del SNC por el virus durante la primoinfección y de su replicación en el tejido nervioso. En estos casos, los síntomas pueden coincidir con el exantema o aparecer algunos días



después. Además, se han descrito dos casos de encefalitis en niños inmunocompetentes en los que los síntomas neurológicos precedieron en 8-11 días la aparición del exantema [Goldston et al., 1966; Maguire y Meissner, 1985]. La interpretación de estos hallazgos se esquematiza en la Figura 19, que recoge las ideas expresadas por Charles Grose en torno a la invasión del SNC durante la varicela primaria aguda [Grose, 1986], distinguiéndose tres posibles vías de acceso del virus al SNC: desde el propio epitelio de entrada, tras algunas rondas de replicación del virus y a través de linfáticos y/o vénulas locales (encefalitis pre-eruptiva); desde el torrente circulatorio, durante la viremia primaria (encefalitis simultánea al exantema) o durante la viremia secundaria (encefalitis post-eruptiva). En todos los casos, la vía de llegada sería a través de fluidos circulantes (linfáticos o sangre) como consecuencia temprana o tardía de una infección sistémica en ausencia de inmunidad específica.

La aplicación de un modelo similar a la infección recurrente implicaría, a mi entender, dos fenómenos previos a la invasión del SNC: 1. Replicación previa y en cantidad suficiente en un tejido permisivo y accesible desde el lugar de la latencia; 2. Fallo de los mecanismos de control inmune en grado tal que permita la diseminación del virus por vía linfática o hemática hacia el SNC. La primera premisa se satisfaría en los casos de enfermedad neurológica asociada a zóster, en los que la piel inervada por el ganglio que experimenta la recurrencia amplificaría las escasas partículas infecciosas allí originadas.

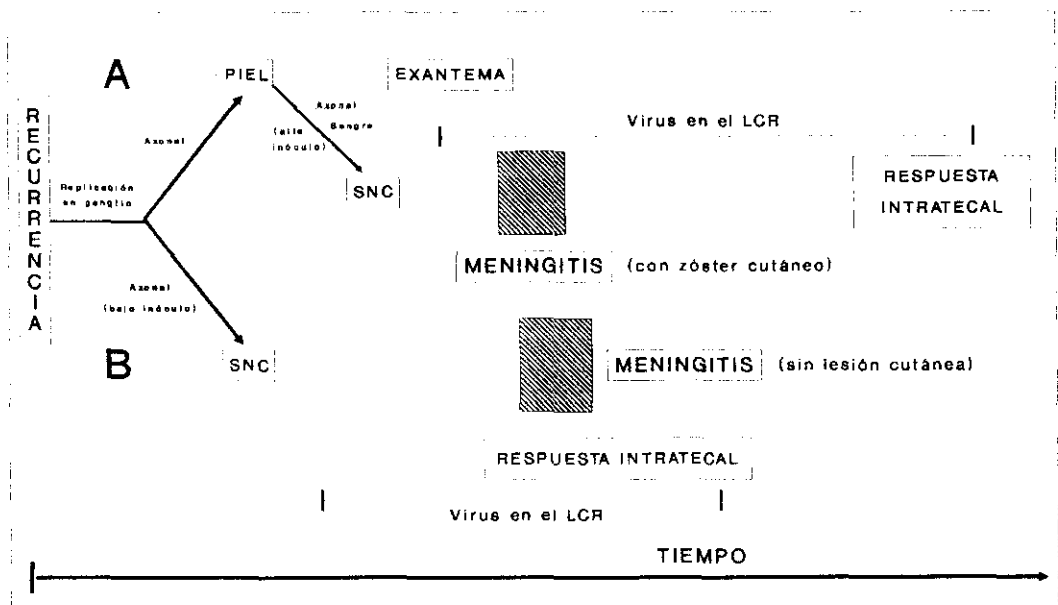
Figura 19. Esquema propuesto para la patogenia de las infecciones del SNC durante la varicela primaria aguda [Grose, 1986].



La segunda sólo se satisfaría, en principio, en pacientes con deficiencias en la inmunidad celular, en los que también es frecuente la infección de otros órganos, si bien hay que considerar que la aparición de un zóster ya es, en sí misma, reflejo de un cierto grado de inmunodepresión transitoria, al menos en lo que se refiere a la inmunidad específica frente al VVZ. No obstante, el hecho de que muchos de los pacientes que sufren una MLA asociada a zóster cutáneo presenten lesiones cutáneas mínimas y la ausencia de infecciones en otros órganos internos (p.e., pulmón) en individuos normales habla, en mi opinión, a favor de la existencia de un mecanismo de diseminación alternativo e independiente de la replicación del virus en la piel y de su extensión vía sangre o linfáticos. La existencia de este mecanismo alternativo resulta, además, necesaria para explicar los casos de MLA por VVZ que cursan sin lesiones cutáneas detectables. En estos pacientes, no existe ninguna evidencia de que el virus replique en ningún otro lugar distinto del sistema nervioso, por lo que el único mecanismo que puede explicar su llegada al SNC es el transporte axonal de las partículas infecciosas producidas en el ganglio durante la recurrencia, sin que medie ningún otro tejido que amplifique el número de partículas disponibles para la infección.

De acuerdo a estas ideas, la Figura 20 esquematiza los mecanismos que propongo para la infección del SNC asociada a la recurrencia del VVZ. Las partículas infecciosas producidas en el ganglio que experimenta la recurrencia podrían viajar hacia la piel (A) o ser

Figura 20. Propuesta de esquema para la patogenia de las infecciones del SNC asociadas a la recrudescencia del VVZ (ver texto).



transportadas directamente hacia el SNC (recurrencia centrípeta) (B). En el primer caso, las células infectadas en la piel actuarían amplificando el número de partículas infecciosas disponibles para la infección del SNC, que sería alcanzado por diseminación a través de sangre/linfáticos o, más probablemente, por vía axonal retrógrada. El SNC recibiría, así, un inóculo amplificado que daría lugar a la rápida aparición de síntomas neurológicos, coincidiendo con el exantema o sucediéndolo en pocos días. En consecuencia con esto, la respuesta inmune intratecal se detectaría retrasada respecto al comienzo de los síntomas y sería posible detectar virus en el LCR en ausencia de anticuerpos una vez que dichos síntomas se hubieran presentado. En el segundo caso, el SNC sería alcanzado por un bajo inóculo de partículas infecciosas, por lo que transcurriría más tiempo hasta la aparición de los síntomas. Durante este tiempo, habría suficiente estimulación antigénica como para inducir respuesta inmune intratecal, que sería ya detectable al comienzo de los síntomas y coexistiría con la presencia de virus en el LCR en los momentos tempranos de la enfermedad. Al no haber recurrencia hacia piel, los pacientes no presentarían lesiones cutáneas. Por último, no se puede descartar que ambos mecanismos puedan operar de forma simultánea, lo que conduciría a una situación intermedia.

Este esquema patogénico explicaría lo que mayoritariamente se ha observado en los pacientes incluidos en este estudio. Salvo excepciones (pacientes no. 3, 5 y 8), los pacientes con zóster

comenzaron su cuadro de MLA en los días inmediatos a la aparición del exantema, presentaron un LCR temprano con ADN viral detectable en ausencia de anticuerpos específicos y mostraron producción intratecal de anticuerpos en momentos más tardíos. Por el contrario, fué frecuente entre los pacientes sin zóster el encontrar ADN viral en LCR y anticuerpos de producción local muy pronto tras el comienzo de la meningitis, estabilizandose o declinando los niveles de anticuerpos en LCR en momentos más tardíos.

Un factor común a todos los pacientes estudiados ha sido el hallazgo de una respuesta inmune humoral a nivel sistémico comparable en todos los casos. Esto indica que aún en los casos en los que la infección sólo implica clínicamente al SNC, existe suficiente estimulación antigénica del sistema inmune como para generar una respuesta a ese nivel. Este fenómeno no es tampoco infrecuente en la encefalitis por VHS, e indica que la recurrencia, aún cuando únicamente produzca lesiones a nivel del SNC, debe implicar otras rutas de diseminación del virus capaces de originar dicha respuesta. Probablemente, la diseminación hacia piel y linfáticos regionales se produce siempre, con lo que quizás sea la suma de los dos mecanismos propuestos en la Figura 20 (A+B) lo que, en mayor o menor medida de uno y otro, sucede en todos los casos.

Muy recientemente, nuestro grupo ha demostrado que existen pacientes con encefalitis, meningoencefalitis, meningitis y otros

síndromes del SNC en los que es posible demostrar la presencia simultánea o consecutiva de secuencias de ADN específicas de VVZ y VHS en coexistencia con respuesta intratecal de anticuerpos frente a ambos virus [Casas, 1993]. En base a estos hallazgos, se ha propuesto que existe algún grado de interacción entre los mecanismos de latencia y recurrencia de ambos que permite la aparición de recurrencias simultáneas o la inducción de la recurrencia de uno como consecuencia de la del otro. La explicación de estos casos resulta mucho más fácil si se acepta, al hilo de lo que el presente trabajo parece sugerir, la capacidad del VVZ para recurrir directamente hacia el SNC.

## 6. CONCLUSIONES

1. El VVZ es causa de cuadros de meningitis linfocitaria aguda en individuos adultos sin evidencia pasada o presente de inmunodepresión, tanto en presencia como en ausencia de las lesiones cutáneas que son típicas de su recrudescencia (herpes zóster).

2. En base a los resultados comunicados previamente por nosotros y por otros grupos, y a la luz de lo aquí discutido, resulta muy probable que el espectro clínico de las infecciones del SNC asociadas a recurrencia del VVZ en ausencia de zóster sea amplio, y que este virus sea causa común y frecuente de cuadros benignos y autolimitados de meningitis linfocitaria en la población adulta normal.

3. La amplificación de secuencias de ADN específicas del VVZ en muestras de LCR mediante la reacción en cadena de la polimerasa y la demostración de anticuerpos específicos de producción intratecal son aproximaciones complementarias, útiles para el diagnóstico de estos casos en el laboratorio. Sus resultados deben interpretarse en función de las características del paciente y del tiempo transcurrido desde el comienzo de los síntomas en el momento de la toma de muestras.

4. Parece posible y probable que el VVZ sea capaz de alcanzar el SNC directamente desde el ganglio que experimenta la recurrencia,



y que este mecanismo juegue algún papel en la patogenia de las recrudescencias que cursan con afectación neurológica.

5. La ausencia de zóster cutáneo no se debe considerar un criterio para excluir al VVZ como agente etiológico de cualquier cuadro neurológico de probable etiología viral.

6. La aplicación sistemática de las herramientas de diagnóstico aquí descritas al estudio de estos cuadros podría facilitar, en el futuro, nuevos datos que ayuden a enjuiciar mejor estos extremos.

## 7. BIBLIOGRAFIA

- Alvarez Cermeño JC, Echevarría JM, Villar LM, Lázaro I, Bootello A, González Porque P. Soluble class I antigens in serum and CSF of patients with varicella-zoster virus meningitis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1989; 52:1194-1196.
- Appelbaum E, Rachelson MH, Dogopol VB. Varicella encephalitis. *Am J Med* 1953; 15:223-230.
- Arnadottir T, Reunanen M, Salmi A. Intrathecal synthesis of virus antibodies in multiple sclerosis patients. *Infect Immun* 1982; 38:399-407.
- Arvin AM, Koropchak CM. Immunoglobulins M and G to varicella-zoster virus measured by solid-phase radioimmunoassay: antibody responses to varicella and herpes zoster infections. *J Clin Microbiol* 1980; 12:367-374.
- Arvin AM, Koropchak CM, Wittek AE. Immunologic evidence of reinfection with varicella-zoster virus. *J Infect Dis* 1983; 148:200-205.
- Asano Y, Hiroishi Y, Itakura N, Hirose S, Kajita Y, Nagai T, Yazaki T, Takahashi M. Immunoglobulin subclass antibodies to varicella-zoster virus. *Pediatrics* 1987; 80:933-936.
- Aurelius E, Johansson B, Sköldenberg B, Staland A, Forsgren M. Rapid diagnosis of herpes simplex encephalitis by nested polymerase chain reaction assay of cerebrospinal fluid. *Lancet* 1991; 337:189-192.
- Aurelius E, Johansson B, Sköldenberg B, Forsgren M. Encephalitis in immunocompetent patients due to herpes simplex virus type 1 and 2 as determined by type-specific polymerase chain reaction and antibody assays of cerebrospinal fluid. *J Med Virol* 1993; 39:179-186.
- Burke BL, Steele RW, Beard OW, Wood JS, Cain TD, Marmer DJ. Immune responses to varicella-zoster virus in the aged. *Arch Intern Med* 1982; 142:291-293.
- Casas I. Caracterización de la respuesta de anticuerpos a nivel sistémico e intratecal y detección de virus en las infecciones del sistema nervioso central producidas por virus herpes neurotrópicos. *Memoria de Tesis Doctoral. Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid. Madrid, 1993.*
- CDS Unit. Reports of viral and associated infections. Review of criteria. *Commun Dis Scotland (Weekly Rep)* 1982; 85,16:ii.
- Cradock-Watson JE, Ridehalgh MKS. Specific immunoglobulin responses after varicella and herpes zoster. *J Hyg Camb* 1979; 82:319-336.

- 
- Davidson AJ, Scott JE. The complete DNA sequence of varicella-zoster virus. *J Gen Virol* 1986; 67:1759-1816.
  - Doerr HW, Reintschler M, Scheiffer G. Serologic detection of active infections with human herpesviruses (CMV,EBV,HSV,VZV): diagnostic potential of IgA class and IgG subclass-specific antibodies. *Infection* 1987; 15:93-98.
  - Dubey L, Steinberg SP, LaRussa P, Oh P, Gershon AA. Western blot analysis of antibody to varicella-zoster virus. *J Infect Dis* 1988; 157:882-888.
  - Easton HG. Zoster "sine herpette" causing acute trigeminal neuralgia. *Lancet* 1970; ii:1065-1066.
  - Falcó V, Alegre J, García A, Fernández de Sevilla T. Meningitis aséptica por virus de la varicela-zóster. Aislamiento de virus en LCR. *Enf Inf Microbiol Clín* 1991; 9:94.
  - Fenner F. The pathogenesis of acute exanthems: an interpretation based on experimental investigations with mousepox. *Lancet* 1948; 2:915-920.
  - Forghani F, Myoraku CK, Dupuis KW, Schmidt NJ. Antibody class capture assays for varicella-zoster virus. *J Clin Microbiol* 1984; 19:606-609.
  - Forsberg P, Frydén A, Kam-Hansen S. Production of specific antibodies by CSF lymphocytes in patients with herpes zoster. *Lancet* 1984; i:404-405.
  - García Blanco MA, Cullen B. Molecular basis of latency in pathogenic human viruses. *Science* 1991; 254:815-820.
  - Gershon A. IgM to VZV during health and disease. En "Herpesvirus: clinical, pharmacological and basic aspects". H Shiota, YC Cheng y WH Prosoff eds.. Excerpta Medica. Oxford, 1982.
  - Gershon A, Steinberg S, Geenberg S, Taber L. Varicella-zoster associated encephalitis: detection of specific antibody in cerebrospinal fluid. *J Clin Microbiol* 1980; 12:764-767.
  - Gershon A, Steinberg S, Gelb L and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Collaborative Varicella Vaccine Study Group. Clinical reinfection with varicella-zoster virus. *J Infect Dis* 1984; 149:137-142.
  - Gilden DH, Vafai A, Shtram Y, Becker Y, Devlin M, Wellish M. Varicella-zoster virus DNA in human sensory ganglia. *Nature* 1983; 306:478-480.
  - Gilden DH, Dueland AN, Devlin ME, Mahalingam R, Cohrs R. Varicella-zoster virus reactivation without rash. *J Infect Dis*

1992; 166:S30-S34.

- Glikmann G, Pedersen M, Mordhorst C-H. Detection of specific immunoglobulin M to mumps virus in serum and cerebrospinal fluid samples from patients with acute mumps infection using antibody-capture enzyme-immunoassay. *Acta Path Microbiol Immunol Scand Sect C* 1986; 94:145-146.
- Glimaker M, Abebe A, Johansson B, Ehrnst A, Olcén P, Strannegard O. Detection of enteroviral RNA by polymerase chain reaction in faecal samples from patients with aseptic meningitis. *J Med Virol* 1992; 38:54-61.
- Gold E. Serologic and virus isolation studies of patients with varicella or herpes zoster infection. *New Engl J Med* 1966; 274:181-185.
- Goldstone AS, Millichap JG, Miller RH. Cerebellar ataxia with pre-eruptive varicella. *Am J Dis Child* 1966; 106:111-114.
- Grandien M, Olding-Stenkvist E. Rapid diagnosis of viral infections in the central nervous system. *Scand J Infect Dis* 1984; 16:1-8.
- Grist NR. Complement fixation test. En "Diagnostic methods in clinical virology". Blackwell Scientific Publ.. London, 1979.
- Grose C. Pathogenesis of central nervous system disease caused by varicella virus. *Ped Infect Dis* 1986; 5:607-608.
- Grose C, Litwin V. Immunology of the varicella-zoster virus glycoproteins. *J Infect Dis* 1988; 157:877-881.
- Hacham M, Leventon-Kriss S, Sarov I. Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of virus-specific IgM antibodies to varicella-zoster virus. *Intervirology* 1980; 13:214-222.
- Hadar T, Tovi F, Sidi J, Sarov B, Sarov I. Specific IgG and IgA antibodies to herpes simplex virus and varicella-zoster virus in acute peripheral facial palsy patients. *J Med Virol* 1983; 12:237-245.
- Heller HM, Carnevale MT, Steigbigel RT. Varicella-zoster virus transverse myelitis without cutaneous rash. *Am J Med* 1990; 88:550-551.
- Hill TJ. Herpes simplex virus latency. En "The Herpesviruses, vol.3". B Roizman ed.. Plenum Press. New York, 1985.
- Hope-Simpson RE. The nature of herpes zoster: a long term study and a new hypothesis. *Proc R Soc Med* 1965; 58:9-20.

- 
- Javier RT, Stevens JG, Dissette VB, Wagner EK. A herpes simplex virus transcript abundant in latently infected neurons is dispensable for establishment of the latent state. *Virology* 1988; 166:254-257.
  - Jefferis R, Reimer CB, Skvaril F, de Lange G and the IUIS/WHO Collaborative Study Group. Evaluation of monoclonal antibodies having specificity for human IgG subclasses: results of a IUIS/WHO collaborative study. *Immunol Lett* 1985; 10:223-252.
  - Jemsek J, Greenberg SB, Taber L, Harvey D, Gershon A, Couch RB. Herpes zoster-associated encephalitis: clinico-pathologic report of 12 cases and review of the literature. *Medicine* 1983; 62:81-97.
  - Kalmovarin N, Tirawatpong T, Rattanasiwamoke R, Tirawatpong R, Panpanich T, Hemachuda T. Diagnosis of rabies by polymerase chain reaction with nested primers. *J Infect Dis* 1993; 157:207-210.
  - Kangro HO, Ward A, Argent S, Heath RB, Cradock-Watson JE, Ridehalgh MKS. Detection of specific IgM in varicella and herpes zoster by antibody-capture radioimmunoassay. *Epidem Infect* 1988; 101:187-195.
  - Kangro HO, Manzoor S, Harper R. Antibody avidity following varicella-zoster virus infections. *J Med Virol* 1991; 33:100-105.
  - Klapper PE, Laing I, Longson M. Rapid non-invasive diagnosis of herpes encephalitis. *Lancet* 1981; ii:607-609.
  - Klapper PE, Cleator GM, Dennett C, Lewis AG. Diagnosis of herpes encephalitis via southern blotting of cerebrospinal fluid DNA amplified by polymerase chain reaction. *J Med Virol* 1990; 32:261-264.
  - Klapper PE, Cleator GM. The diagnosis of herpes simplex encephalitis. *Rev Med Microbiol* 1992; 3:151-158.
  - Krause PR, Croen KD, Strauss SE, Oskode JM. Detection and preliminary characterization of herpes simplex type 1 transcripts in latently infected human trigeminal ganglia. *J Virol* 1988; 62:4819-4823.
  - Larkin M, Heckels JE, Ogilvie MM. Antibody response to varicella-zoster virus surface glycoproteins in chickenpox and shingles. *J Gen Virol* 1985; 66:1785-1793.
  - Levy E, Sarov I. Detection of specific IgA antibodies in serum of patients with varicella and zoster infections. *Intervirology* 1981; 15:103-110.
  - Maguire JF, Meissner HC. Onset of encephalitis early in the course of varicella infection. *Ped Infect Dis* 1985; 4:699-701.

- 
- Mahalingam R, Wellish M, Wolf W. Latent varicella-zoster viral DNA in human trigeminal and thoracic ganglia. *N Engl J Med* 1990; 323:627-631.
  - Martínez Martín P, García Sáiz A, Rapún JL, Echevarría JM. Intrathecal synthesis of IgG antibodies to varicella-zoster virus in two cases of acute aseptic meningitis with no cutaneous lesions. *J Med Virol* 1985a; 16:201-209.
  - Martínez Martín P, Estévez E, Grande J, Valenzuela MP, Rapún JL, García Sáiz A, Echevarría JM. Características clínicas y aplicación del enzimoimmunoanálisis a una serie de meningitis por herpes zóster. *Med Clin* 1985b; 84:138-142.
  - Martínez Martín P, Sáenz E, Estévez E, Rapún JL. Meningitis infecciosas del adulto: experiencia clínica de tres años. *Neurología* 1989; 4:8287.
  - Mathiessen T, Fridell E, Fredikson S. Combination ELISAs for antiviral antibodies in CSF and serum in patients with neurological symptoms and in healthy controls. *J Virol Methods* 1988; 19:169-180.
  - Mathiessen T, Linde A, Olding-Stenkvis BW, Wahren B. Antiviral IgM and IgG subclasses in varicella-zoster associated neurological syndromes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1989; 52:578-582.
  - Mayo DR, Boos J. Varicella zoster-associated neurologic disease without skin lesions. *Arch Neurol* 1989; 46:313-315.
  - McKendall RR, Klawans HL. Nervous system complications of varicella-zoster virus. En "Handbook of Neurology, vol 34", p.161-183. PJ Vinken y GW Bruin eds.. North Holland. Amsterdam, 1978.
  - Möller A, Ackermann R, Felgenhauer K, Ulm H. Zoster enzephalitis ohne exanthem. *Dtsch Med Wschr* 1982; 107:822-825.
  - Olive DM, Al-Mufti S, Al-Mulla W, Khan MA, Pasca A, Stanway G, Al-Nakib W. Detection and differentiation of picornaviruses in clinical samples following genomic amplification. *J Clin Microbiol* 1991; 29:1513-1516.
  - Palumbo PE, Arvin A, Koropchak CM, Wittek AE. Investigation of varicella-zoster virus-infected cell proteins that elicit antibody production during primary varicella using the immune transfer method. *J Gen Virol* 1984; 65:2141-2147.
  - Peterslund NA. Herpes zoster-associated encephalitis: clinical findings and acyclovir treatment. *Scand J Infect Dis* 1988; 20:583-592.

- 
- Peterson LR, Ferguson RM. Fatal central nervous system infection with varicella-zoster virus in renal transplant recipients. *Transplantation* 1984; 37:366-368.
  - Puchhammer-Stöckl E, Popov-Kraupp T, Heinz HX, Mandl CW, Kunz C. Detection of varicella-zoster virus DNA by polymerase chain reaction in the cerebrospinal fluid from patients suffering from neurological complications associated with chickenpox or herpes zoster. *J Clin Microbiol* 1991; 29:1513-1516.
  - Ragozzino NW, Melton LJ, Kurland LT, Chu CP, Perry HO. Population-based study of herpes zoster and its sequelae. *Medicine* 1982; 61:310-316.
  - Roizman B. The family Herpesviridae: an update. *Arch Virol* 1992; 123:425-449.
  - Schmidt NJ, Gallo D. Class-specific antibody responses to early and late antigens of varicella and herpes simplex viruses. *J Med Virol* 1984; 13:1-12.
  - Sears AE, Hukkanen V, Labow MA, Levine AJ, Roizman B. Expression of the herpes simplex virus 1  $\alpha$  transducing factor (VP16) does not induce reactivation of latent virus or prevent the establishment of latency in mice. *J Virol* 1991; 65:2929-2935.
  - Simmons A, Nash AA. Zosteriform spread of herpes simplex virus as a model for recrudescence and its use to investigate the role of immune cells in prevention of recurrent disease. *J Virol* 1984; 52:816-821.
  - Spivack JG, Woods GH, Fraser NW. Identification of a novel latency-specific splice donor signal within the herpes simplex virus type 1 2.0 kilobase latency-associated transcript (LAT): translation inhibition of LAT open reading frames by the intron within the 2.0 kilobase LAT. *J Virol* 1991; 65:6800-6810.
  - Steele RW, Keeney RE, Bradsher RW, Moses EB, Soloff BL. Treatment of varicella-zoster meningoencephalitis with acyclovir. Demonstration of virus in cerebrospinal fluid by electron microscopy. *Am J Clin Pathol* 1983; 80:57-60.
  - Steiner I, Spivack J, O'Boyle DR, Lavi E, Fraser NW. Latent herpes simplex virus type 1 transcription in human trigeminal ganglia from seropositive humans. *J Virol* 1988; 62:3493-3496.
  - Straus SE, Ostrove JM, Inchauspé G, Felser JM, Freifeld A, Croen KD, Sawyer M. NIH conference. Varicella-zoster virus infections: biology, natural history, treatment and prevention. *Ann Intern Med* 1988; 108:221-237.
  - Sundqvist VA. Frequency and specificity of varicella-zoster virus IgM response. *J Virol Methods* 1982; 5:219-228.

- Sundqvist VA, Linde A, Wahren B. Virus-specific immunoglobulin G subclasses in herpes simplex and varicella-zoster virus infections. *J Clin Microbiol* 1984; 20:94-98.
- Takayama M, Takayama N, Hachimori K, Minamitani M. Restriction endonuclease analysis of viral DNA from a patient with bilateral herpes zoster lesions. *J Infect Dis* 1988; 157:392-393.
- Tedder RS, Mortimer PP, Bridgget R. Detection of antibody to varicella-zoster virus by competitive and IgM-antibody capture immunoassay. *J Med Virol* 1981; 8:89-101.
- Téllez A, Bernal A, de Ory F, Estévez E, Martínez Martín P, Barreiro G, Martín Fontelos P, Echevarría JM. Meningitis linfocitaria. Estudio virológico. Análisis de estudio realizado entre 1984-1986 (632 casos). *Enf Infec Microbiol Clín* 1989; 7:77-82.
- Tibbling G, Link H, Ohman H. Principles of albumin and IgG analysis in neurological disorders. I. Establishment of reference values. *Scand J Clin Lab Invest* 1977; 37:385-390.
- Ugolini G, Kuypers HG, Strick PL. Transneuronal transfer of herpesvirus from peripheral nerves to cortex and brainstem. *Science* 1989; 243:89-91.
- Ukkonen P, Granstrom ML, Rasanen J, Salonen EM, Penttinen K. Local production of mumps IgG and IgM antibodies in the cerebrospinal fluid of meningitis patients. *J Med Virol* 1981; 8:257-275.
- Vartdal F, Vandvik B, Norrby E. Intrathecal synthesis of virus-specific oligoclonal IgG, IgA and IgM antibodies in a case of varicella-zoster meningoencephalitis. *J Neurol Sci* 1982; 57:121-132.
- Vilchez Padilla JJ, Redón J, Ruiz A, López Aldeguer J. CNS varicella-zoster vasculitis. *Arch Neurol* 1982; 39:785.
- Weigle KA, Grose C. Molecular dissection of the humoral immune response to individual varicella-zoster viral proteins during chickenpox, quiescence, reinfection and reactivation. *J Infect Dis* 1984; 149:741-749.
- Weller TH. Varicella and herpes zoster. Changing concepts of the natural history of a not-so-benign virus (first of two parts). *N Engl J Med* 1983a; 309:1362-1368.
- Weller TH. Varicella and herpes zoster. Changing concepts of the natural history of a not-so-benign virus (second of two parts). *N Engl J Med* 1983b; 309:1434-1440.
- Wittek AE, Arvin AM, Koropchak CM. Serum immunoglobulin A antibody to varicella-zoster virus in subjects with primary



varicella and herpes zoster infections and in immune subjects. **J Clin Microbiol** 1983; 18:1146-1149.

- Yoshida M, Yamagami N, Tezuka T, Hondo R. Case report: detection of varicella-zoster virus DNA in maternal breast milk. **J Med Virol** 1992; 38:108-110.

- Zweerink HJ, Neff BJ. Immune response after exposure to varicella-zoster virus: characterization of virus-specific antibodies and their corresponding antigens. **Infect Immun** 1981; 31:436-444.

**ANEXO I**

**RESULTADOS INDIVIDUALIZADOS  
EN LOS PACIENTES DE LOS  
GRUPOS CONTROL**

Título de anti-VVZ en sueros de 34 individuos sin infección actual por dicho virus (grupo control).

Muestra	Edad (años)	Título anti-VVZ		
		IgG	IgM	IgA
1	5	<40	<20	<10
2	7	150	<20	<10
3	11	<40	<20	<10
4	12	15000	<20	180
5	14	650	<20	<10
6	15	6000	<20	<10
7	15	1100	<20	<10
8	19	1800	<20	<10
9	18	1500	<20	<10
10	17	5000	<20	400
11	19	1200	<20	20
12	20	1100	<20	<10
13	21	2000	<20	10
14	23	2400	<20	20
15	23	700	<20	<10
16	24	2000	<20	80
17	25	1800	<20	<10
18	25	1700	<20	<10
19	28	1200	<20	10
20	29	1200	<20	<10
21	30	400	<20	<10
22	31	900	<20	10
23	34	3500	<20	550
24	38	2800	<20	280
25	50	1500	<20	60
26	53	2800	<20	<10
27	56	700	<20	<10
28	57	2500	<20	10
29	60	600	<20	<10
30	62	3000	<20	<10
31	63	350	<20	20
32	66	180	<20	<10
33	69	1500	<20	60
34	70	1600	<20	<10

Anticuerpos anti-VVZ y subclases de IgG específica en el suero de 22 pacientes con varicela primaria aguda.

Caso	Edad	Evolución (días)	Título anti-VVZ				Subclases IgG*			
			FC	IgG <sup>#</sup>	IgM	IgA	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
1	45	5	1024	300	850	1400	3.7	6.3	9.8	2.2
		20	1024	220	300	400	3.9	9.4	>16	5.0
2	8	5	256	12	1600	2000	3.8	0.3	6.2	1.5
		33	128	5	140	80	5.1	0.5	4.1	0.8
3	34	12	512	80	2000	500	nd	nd	nd	nd
		33	256	60	2400	340	4.9	0.3	>16	2.5
4	37	6	1024	80	3400	1600	4.5	1.5	>16	0.7
		20	1024	50	2400	250	7.1	1.9	>16	2.3
5	30	2	128	4.5	2800	650	4.0	0.0	6.0	2.9
		18	512	36	1600	1200	5.3	2.7	>16	7.9
6	25	5	64	26	1200	2700	5.3	0.5	>16	0.3
		28	512	30	1400	900	5.8	2.5	>16	0.9
7	8	5	64	14	400	80	6.8	0.0	9.7	0.1
		60	64	14	70	NEG	7.1	0.0	>16	0.7
8	42	11	1024	90	2400	5000	5.5	0.0	>16	1.3
9	8	30	256	36	NEG	100	7.1	0.3	8.3	1.1
10	3	2	64	9	160	280	5.2	0.0	4.0	0.4
11	9	15	<64	2.8	1600	230	5.5	0.0	3.4	0.0
		39	<64	1	120	NEG	nd	nd	nd	nd
12	12	10	128	5	700	NEG	6.7	0.0	6.6	0.1
13	43	3	<8	NEG	NEG	NEG	1.8	0.1	2.2	0.0
		15	256	200	20	20000	2.3	2.3	13.5	12.2
14	18	5	<8	NEG	180	NEG	0.1	0.2	0.5	0.0
15	6	45	256	20	40	10	6.2	0.1	7.3	1.1
16	31	2	8	4	30	130	6.5	0.0	0.9	0.7
17	23	15	32	3.5	3000	350	3.7	0.0	8.8	0.7
18	21	15	32	14	80	30	6.5	0.0	12.2	0.5
19	25	20	32	7	350	100	5.2	0.0	7.1	0.1
20	25	4	256	60	20	400	8.3	0.0	6.4	7.5
21	19	pre	<8	NEG	NEG	NEG	nd	nd	nd	nd
		9	128	30	350	1200	4.7	0.0	>16	0.1
22	29	8	64	100	1200	650	6.1	0.0	10.2	0.3

\*: índice absorbancia/valor de corte; #:  $\times 10^{-3}$

Anticuerpos anti-VVZ y subclases de IgG específica en el suero de 22 pacientes con herpes zóster.

Caso	Edad	Evolución (días)	Título anti-VVZ				Subclases IgG <sup>*</sup>			
			FC	IgG <sup>#</sup>	IgM	IgA	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
1	73	3	64	12	NEG	50	2.2	0.0	0.5	0.1
		10	256	100	2800	1200	7.3	1.9	>16	10.3
2	71	60	128	200	40	50	8.3	0.0	2.3	4.7
3	27	7	128	260	70	1100	8.8	0.3	7.9	2.2
4	8	3	512	80	500	2000	8.8	1.2	>16	>16
		18	256	100	150	270	8.3	1.5	>16	>16
5	73	6	128	18	NEG	1000	7.8	3.5	13.2	>16
		20	128	18	NEG	350	9.0	5.2	7.0	>16
6	61	22	128	10	100	240	9.0	0.1	5.9	1.3
		51	128	8	120	200	9.2	0.6	7.1	0.7
7	65	10	512	90	90	700	8.5	8.0	>16	>16
8	30	4	8	0.1	NEG	10	1.8	0.0	8.7	1.0
		15	128	12	40	900	7.8	0.1	5.1	>16
		24	128	9	20	600	8.9	2.3	5.0	>16
		32	64	9	NEG	600	8.2	2.4	3.3	>16
		50	32	5	NEG	600	8.8	1.1	2.2	>16
9	27	4	8	1.8	NEG	40	7.5	0.9	1.7	0.7
		14	64	9	NEG	300	9.9	2.6	>16	10.1
		28	128	9	NEG	200	8.3	1.1	15.5	3.9
		350	64	1.8	NEG	20	7.1	1.0	4.6	0.8
10	12	8	128	13	NEG	120	8.6	0.8	>16	>16
		20	128	18	NEG	90	9.5	1.3	>16	>16
11	27	4	8	0.5	NEG	NEG	4.3	0.0	0.4	0.1
		13	64	10	NEG	400	nd	nd	nd	nd
12	18	10	16	60	4000	1100	8.3	5.3	>16	11.4
		24	256	180	5000	1400	7.9	7.0	>16	>16
13	15	4	64	3.6	NEG	10	6.0	0.0	0.9	0.5
		22	64	40	NEG	30	8.3	0.0	6.3	1.1
14	45	8	8	3.6	NEG	NEG	5.5	0.0	3.7	0.4
		20	256	34	NEG	180	7.7	1.3	8.8	6.8
		30	128	38	NEG	180	6.9	1.3	13.6	5.9
15	57	5	16	17	140	6000	8.7	0.4	5.3	15.8
		23	256	50	300	2000	8.3	3.7	>16	>16
16	39	10	32	4.5	NEG	80	5.3	0.4	0.5	3.1
		17	128	12	80	250	8.1	0.4	1.3	12.2
		28	128	12	40	600	2.9	1.0	1.9	>16
17	38	5	8	0.8	40	NEG	4.1	0.0	2.0	0.1
		22	256	24	2500	380	9.8	1.2	>16	>16
18	51	12	1024	100	1300	5000	8.5	0.6	>16	4.7
19	25	10	64	18	20	1600	6.8	0.9	10.1	3.4
20	30	15	512	100	NEG	170	6.4	0.9	nd	2.9
21	22	15	1024	350	2800	6000	5.9	3.2	>16	5.0
		120	256	3	NEG	300	3.9	0.0	nd	0.2
22	56	12	64	14	NEG	560	7.3	0.0	1.9	>16

\*: índice absorbancia/valor de corte; #: x10<sup>-3</sup>

Título de anticuerpos específicos frente al virus de la parotiditis en parejas de sueros de 20 pacientes con MLA producida por dicho virus.

Caso	Edad (años)	Parot.	Anticuerpos anti-parotiditis					
			1er suero			2do suero		
			IgG	IgM	IgA	IgG	IgM	IgA
1	5	Si	3000	500	180	16000	1000	200
2	5	No	15000	10000	2000	50000	5000	800
3	6	Si	7000	2400	1600	9000	1000	1000
4	4	Si	3600	2500	350	17000	1500	250
5	5	No	3000	1800	600	15000	2000	1000
6	4	Si	7000	7000	1500	16000	2600	750
7	11	No	700	700	40	9000	1600	100
8	6	No	5500	2400	500	6000	1000	700
9	6	No	900	1000	700	10000	800	500
10	5	No	2600	2400	500	7000	500	800
11	14	Si	8500	1400	500	14000	700	800
12	7	No	450	900	280	17000	2000	800
13	5	Si	12000	4000	300	8000	500	500
14	6	No	1000	1600	200	5000	1500	300
15	7	No	4000	900	350	16000	300	1000
16	5	Si	5000	3000	700	7000	800	700
17	29	No	1000	60	100	40000	600	140
18	5	No	3000	2500	700	5000	1000	800
19	6	Si	3000	500	7000	nd	nd	nd
20	7	No	4000	6000	2000	nd	nd	nd

Título de anticuerpos específicos frente al virus de la parotiditis en LCR e índices de producción intratecal de IgG específica en 20 pacientes con MLA producida por dicho virus.

Caso	Evol. (días)	Títulos en LCR			Índices p.i. IgG específica			
		IgG	IgM	IgA	lac	lac.alb	lac.ig	leia
1	3	<10	<10	<10	-	-	-	-
2	3	700	100	180	21.4	15.6	5.10	1.40
3	4	110	20	30	63.6	1.43	1.70	1.50
4	2	<10	<10	<10	-	-	-	-
5	2	<10	40	<10	-	-	-	-
6	2	60	30	10	117	6.12	5.55	2.60
7	4	<10	<10	<10	-	-	-	-
8	2	120	150	10	45.8	5.74	4.42	1.70
9	3	40	100	40	22.5	7.80	3.26	1.40
10	5	<10	<10	<10	-	-	-	-
11	1	40	<10	<10	212	2.35	3.30	2.00
12	3	<10	20	<10	-	-	-	-
13	5	400	40	10	30.0	3.14	5.45	1.60
14	5	20	20	30	50.0	1.49	2.40	1.60
15	3	20	<10	<10	200	0.34	0.68	0.94
16	5	20	10	<10	250	0.34	0.73	1.00
17	4	80	<10	<10	12.5	12.4	18.3	6.80
18	8	<10	<10	<10	-	-	-	-
19	2	350	70	180	8.60	43.2	17.3	2.90
20	5	200	500	100	20.0	29.4	7.05	1.80

Título de anticuerpos específicos frente al virus de la parotiditis en LCR e índices de producción intratecal de IgM específica en 20 pacientes con MLA producida por dicho virus.

Caso	Evol. (días)	Títulos en LCR			Índices p.i. IgM específica			
		IgG	IgM	IgA	lac	lac.alb	lac.ig	leia
1	3	<10	<10	<10	-	-	-	-
2	3	700	100	180	100	3.30	>1.9	nd
3	4	110	20	30	120	0.76	>0.8	nd
4	2	<10	<10	<10	-	-	-	-
5	2	<10	40	<10	45.0	5.30	>3.4	nd
6	2	60	30	10	233	3.06	>1.0	nd
7	4	<10	<10	<10	-	-	-	-
8	2	120	150	10	16.0	16.4	3.70	nd
9	3	40	100	40	10.0	17.5	>2.8	nd
10	5	<10	<10	<10	-	-	-	-
11	1	40	<10	<10	-	-	-	-
12	3	<10	20	<10	45.0	7.40	>2.3	nd
13	5	400	40	10	400	0.94	>1.6	nd
14	5	20	20	30	80.0	0.93	>2.2	nd
15	3	20	<10	<10	-	-	-	-
16	5	20	10	<10	300	0.28	>0.6	nd
17	4	80	<10	<10	-	-	-	-
18	8	<10	<10	<10	-	-	-	-
19	2	350	70	180	7.10	51.9	>25	nd
20	5	200	500	100	12.0	49.0	3.10	nd



Título de anticuerpos específicos frente al virus de la parotiditis en LCR e índices de producción intratecal de IgA específica en 20 pacientes con MLA producida por dicho virus.

Caso	Evol. (días)	Títulos en LCR			Índices p.i. IgA específica			
		IgG	IgM	IgA	lac	lac.alb	lac.ig	leia
1	3	<10	<10	<10	-	-	-	-
2	3	700	100	180	11.1	30.0	>8.7	nd
3	4	110	20	30	53.3	1.70	>1.8	nd
4	2	<10	<10	<10	-	-	-	-
5	2	<10	40	<10	-	-	-	-
6	2	60	30	10	150	4.80	>0.7	nd
7	4	<10	<10	<10	-	-	-	-
8	2	120	150	10	50.0	5.26	>3.2	nd
9	3	40	100	40	17.5	10.0	>2.8	nd
10	5	<10	<10	<10	-	-	-	-
11	1	40	<10	<10	-	-	-	-
12	3	<10	20	<10	-	-	-	-
13	5	400	40	10	30.0	3.14	>4.9	nd
14	5	20	20	30	6.70	11.2	>30	nd
15	3	20	<10	<10	-	-	-	-
16	5	20	10	<10	-	-	-	-
17	4	80	<10	<10	-	-	-	-
18	8	<10	<10	<10	-	-	-	-
19	2	350	70	180	38.9	9.50	nd	nd
20	5	200	500	100	20.0	29.4	nd	nd

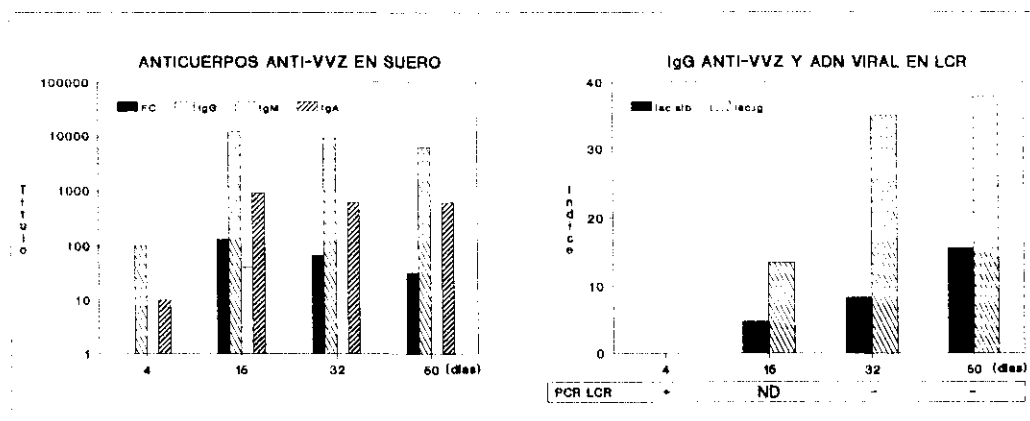
ANEXO II

FICHAS INDIVIDUALIZADAS DE  
RESULTADOS EN LOS PACIENTES CON  
MLA Y SOSPECHA DE INFECCION  
POR VVZ

PACIENTE No.: 1 (P.D.) EDAD: 30a. CENTRO: H.del Rey

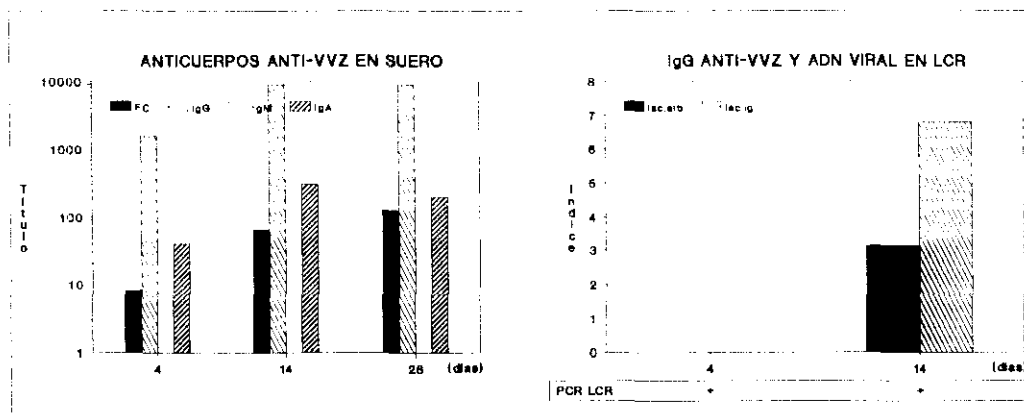
Comienzo MLA: 20/1/85 Zóster: SI Comienzo zóster: 20/1/85

PARAMETROS	Suero	LCR	Suero	LCR	Suero	LCR	Suero	LCR
Muestra	1	1	2	2	3	3	4	4
Evolución (días)	4	4	15	15	32	32	50	50
PCR		+		ND		-		-
FC	<8		128		64		32	
IgG	100	<20	12000	180	9000	320	6000	320
Subclases IgG	1,3,4		1,3,4	1,4	1,2,3,4	1,4	1,2,3,4	1,4
IgM	<40	<10	40	<10	<40	<10	<40	<10
IgA	10	<10	900	20	600	30	600	20
Albúmina (mg/dl)	3290	40.5	3900	12.5	4030	17.2	3800	13.1
IgG (mg/dl)			1700	1.9	1580	1.6	1350	1.9
IgM (mg/dl)								
IgA (mg/dl)			150	<0.8	140	<0.8	150	<0.8
IaIb (x10 <sup>-3</sup> )		12.0		3.0		4.2		3.4
IaC IgG			66.7		28.1		18.8	
IaC IgA			45.0		20.0		30.0	
IaC.aIb IgG			4.68		8.33		15.5	
IaC.aIb IgA			7.40		11.9		9.80	
IaC.Ig IgG			13.4		35.1		37.8	
IaC.Ig IgA			>4.17		>8.70		>6.25	



PACIENTE No.: 2 (L.S.)      EDAD: 27a.      CENTRO: H.del Rey  
 Comienzo MLA: 29/3/84      Zóster: SI      Comienzo zóster: 31/3/84

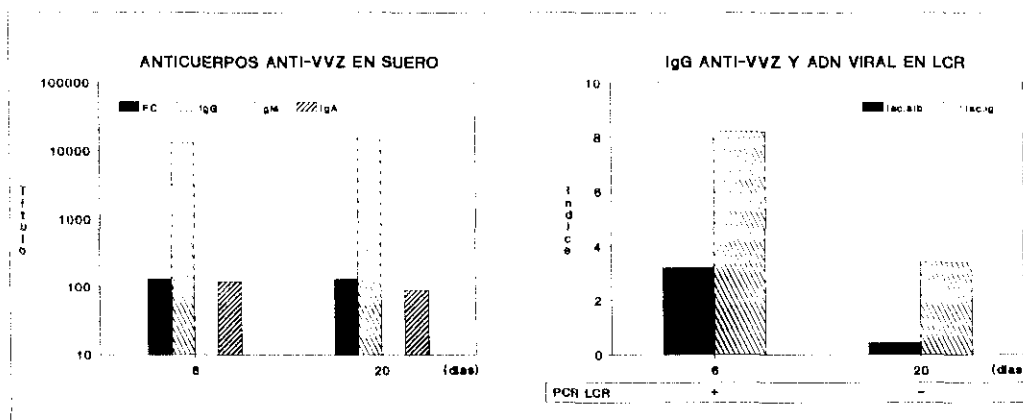
PARAMETROS	Suero	LCR	Suero	LCR	Suero	LCR	Suero	LCR
Muestra	1	1	2	2	3			4
Evolución (días)	4	4	14	14	28			135
PCR		+		+				ND
FC	8		64		128			
IgG	1600	<20	9000	120	9000			60
Subclases IgG	1,3		1,2,3,4	1,3	1,2,3,4			1,3
IgM	<40	<10	<40	<10	<40			<10
IgA	40	<10	300	<10	200			<10
Albúmina (mg/dl)	4775	33.8	5500	23.5				
IgG (mg/dl)			970	1.9				
IgM (mg/dl)								
IgA (mg/dl)								
IaIb (x10 <sup>-3</sup> )		7.1		4.3				
Iac IgG				75				
Iac IgA				3.12				
Iac.aIb IgG				6.8				
Iac.aIb IgA								
Iac.Ig IgG								
Iac.Ig IgA								



PACIENTE No.: 3 (M.J.) EDAD: 12a. CENTRO: H.del Rey

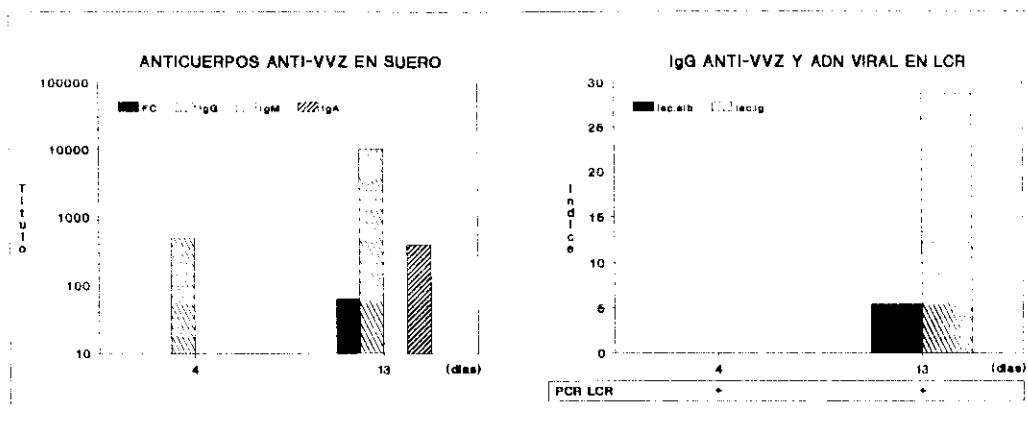
Comienzo MLA: 17/4/84 Zóster: SI Comienzo zóster: 17/4/84

PARAMETROS	Suero	LCR	Suero	LCR	Suero	LCR	Suero	LCR
Muestra	1	1	2	2				
Evolución (días)	6	6	20	20				
PCR		+		-				
FC	128		128					
IgG	13000	160	18000	30				
Subclases IgG	1,3,4	1,3,4	1,2,3,4	1				
IgM	<40	<10	<40	<10				
IgA	120	<10	90	<10				
Albúmina (mg/dl)	3690	14.2	2540	10.1				
IgG (mg/dl)	1465	2.2	1640	0.8				
IgM (mg/dl)								
IgA (mg/dl)								
Ialb (x10 <sup>-3</sup> )		3.8		4.0				
Iac IgG		81.3		600				
Iac IgA								
Iac.alb IgG		3.20		0.42				
Iac.alb IgA								
Iac.Ig IgG		8.20		3.41				
Iac.Ig IgA								



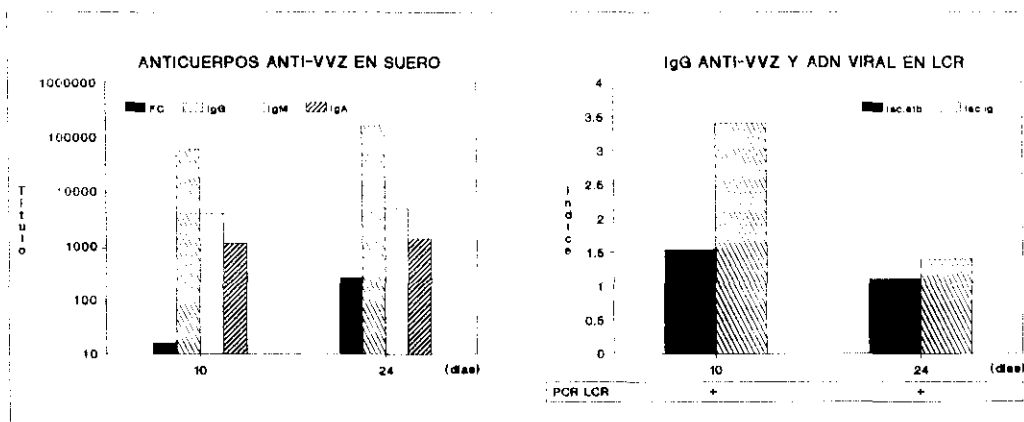
PACIENTE No.: 4 (J.A.) EDAD: 27a. CENTRO: H.del Rey  
 Comienzo MLA: 7/6/84 Zóster: SI Comienzo zóster: 10/6/84

PARAMETROS	Suero	LCR	Suero	LCR	Suero	LCR	Suero	LCR
Muestra	1	1	2	2				
Evolución (días)	4	4	13	13				
PCR		+		+				
FC	<8		64					
IgG	500	<20	10000	200				
Subclases IgG	1		ND	1,4				
IgM	<40	<10	<40	<10				
IgA	<10	<10	400	<10				
Albúmina (mg/dl)	4150	<44.8	3800	14.2				
IgG (mg/dl)			1300	0.9				
IgM (mg/dl)								
IgA (mg/dl)								
IaIb (x10 <sup>-2</sup> )		>11.0		3.7				
Iac IgG				50				
Iac IgA				5.35				
Iac.alb IgG				28.8				
Iac.alb IgA								
Iac.Ig IgG								
Iac.Ig IgA								



PACIENTE No.: 5 (V.R.) EDAD: 16a. CENTRO: H.del Rey  
 Comienzo MLA: 3/6/85 Zóster: SI Comienzo zóster: 12/6/85

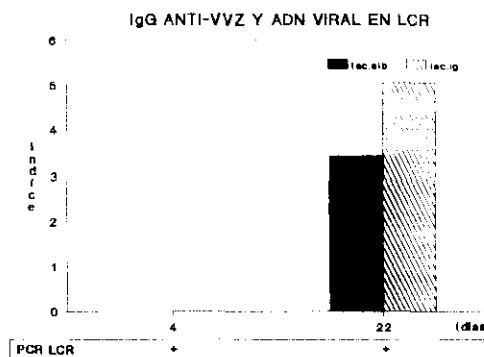
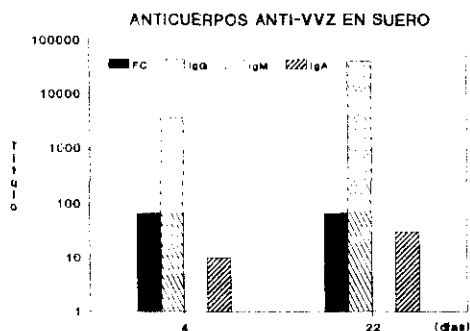
PARAMETROS	Suero	LCR	Suero	LCR	Suero	LCR	Suero	LCR
Muestra	1	1	2	2				
Evolución (días)	10	10	24	24				
PCR		+		+				
FC	16		256					
IgG	60000	360	160000	200				
Subclases IgG	1,2,3,4	1,2,3	1,2,3,4	1,3				
IgM	4000	<10	5000	<10				
IgA	1100	<10	1400	<10				
Albúmina (mg/dl)	5375	21.0	4775	5.4				
IgG (mg/dl)	908	1.6	908	<0.8				
IgM (mg/dl)								
IgA (mg/dl)								
Ialb (x10 <sup>-3</sup> )		3.9		1.1				
Iac IgG		167		800				
Iac IgA								
Iac.alb IgG		1.54		1.11				
Iac.alb IgA								
Iac.Ig IgG		3.40		>1.40				
Iac.Ig IgA								



PACIENTE No.: 6 (A.G.B.) EDAD: 15a. CENTRO: H.del Rey

Comienzo MLA: 7/7/85 Zóster: SI Comienzo zóster: 10/7/85

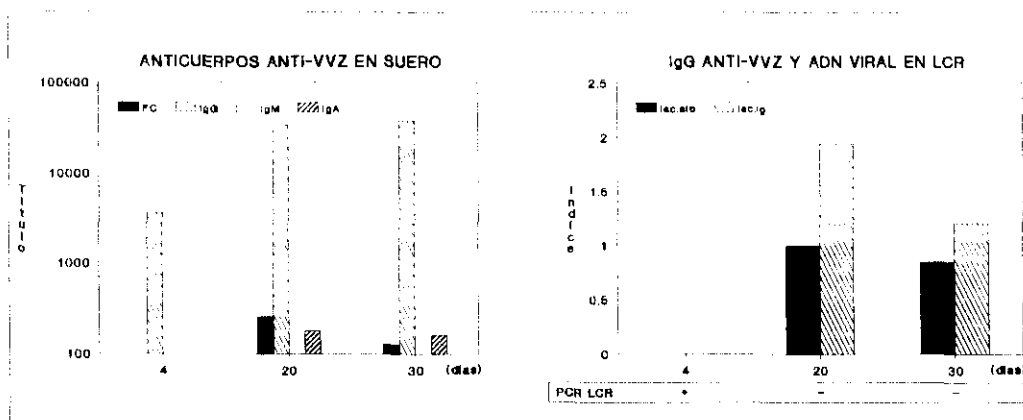
PARAMETROS	Suero	LCR	Suero	LCR	Suero	LCR	Suero	LCR
Muestra	1	1	2	2				
Evolución (días)	4	4	22	22				
PCR		+		+				
FC	64		64					
IgG	3600	<20	40000	600				
Subclases IgG	1		1,3,4	1,3				
IgM	<40	<10	<40	<10				
IgA	10	<10	30	<10				
Albúmina (mg/dl)	3692	33.0	3800	16.6				
IgG (mg/dl)			908	2.7				
IgM (mg/dl)								
IgA (mg/dl)								
IaIb (x10 <sup>-3</sup> )		8.9		4.4				
Iac IgG			66.7					
Iac IgA			3.43					
Iac.alb IgG			5.04					
Iac.alb IgA								
Iac.Ig IgG								
Iac.Ig IgA								





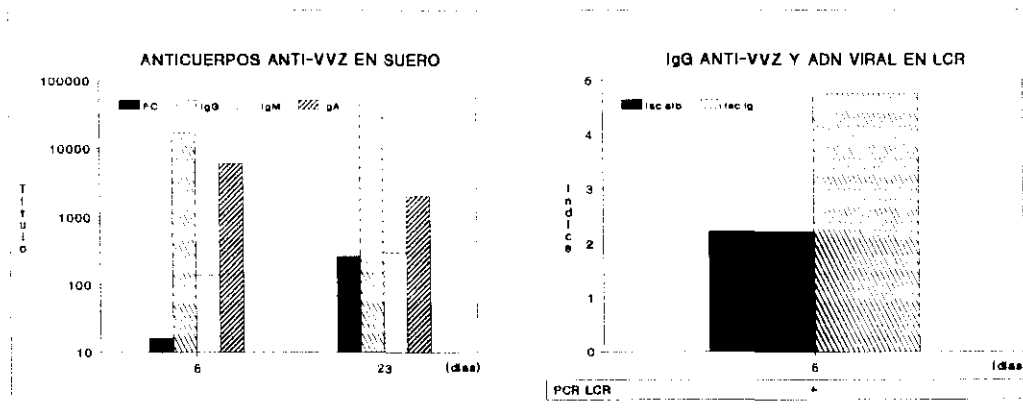
PACIENTE No.: 7 (L.C.) EDAD: 45a. CENTRO: H.Clinico Tenerife  
 Comienzo MLA: 23/10/86 Zóster: SI Comienzo zóster: 23/10/86

PARAMETROS	Suero	LCR	Suero	LCR	Suero	LCR	Suero	LCR
Muestra	1	1	2	2	3	3		
Evolución (dias)	4	4	20	20	30	30		
PCR		+		-		-		
FC	<8		256		128			
IgG	3600	<20	34000	250	38000	90		
Subclases IgG	1,3		1,2,3,4	1	1,2,3,4	1		
IgM	<40	<10	<40	<10	<40	<10		
IgA	<10	<10	180	<10	160	<10		
Albúmina (mg/dl)	4650	50.5	2325	17.2	3200	9.0		
IgG (mg/dl)			1190	4.5	1430	2.8		
IgM (mg/dl)								
IgA (mg/dl)								
IaIb (x10 <sup>-3</sup> )		10.8		7.4		2.8		
Iac IgG				136		422		
Iac IgA								
Iac.aIb IgG				0.99		0.84		
Iac.aIb IgA								
Iac.Ig IgG				1.94		1.21		
Iac.Ig IgA								



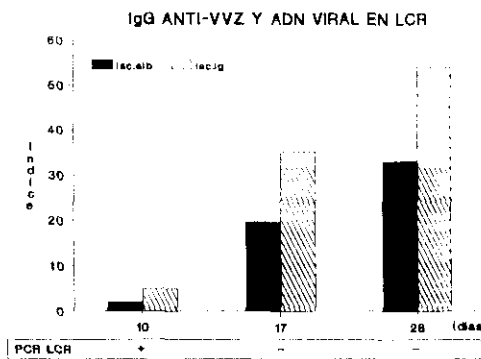
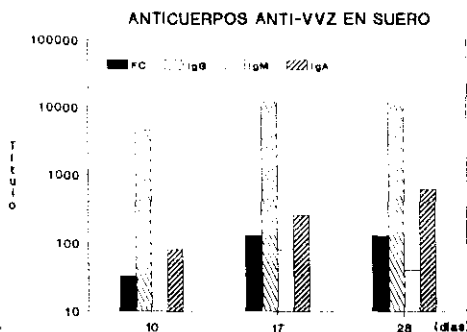
PACIENTE No.: 8 (J.S.) EDAD: 57a. CENTRO: H.Insalud Logroño  
 Comienzo MLA: 6/12/86 Zóster: SI Comienzo zóster: 6/12/86

PARAMETROS	Suero	LCR	Suero	LCR	Suero	LCR	Suero	LCR
Muestra	1	1	2					
Evolución (días)	5	5	23					
PCR		+						
FC	16		256					
IgG	17000	1500	50000					
Subclases IgG	1,3,4	1,3,4	1,2,3,4					
IgM	140	<10	300					
IgA	6000	40	2000					
Albúmina (mg/dl)	3290	131.5						
IgG (mg/dl)	463	8.6						
IgM (mg/dl)								
IgA (mg/dl)	118	2.0						
IaIb (x10 <sup>-3</sup> )		40.0						
Iac IgG		11.3						
Iac IgA		150						
Iac.atb IgG		2.21						
Iac.atb IgA		0.17						
Iac.Ig IgG		4.75						
Iac.Ig IgA		0.39						



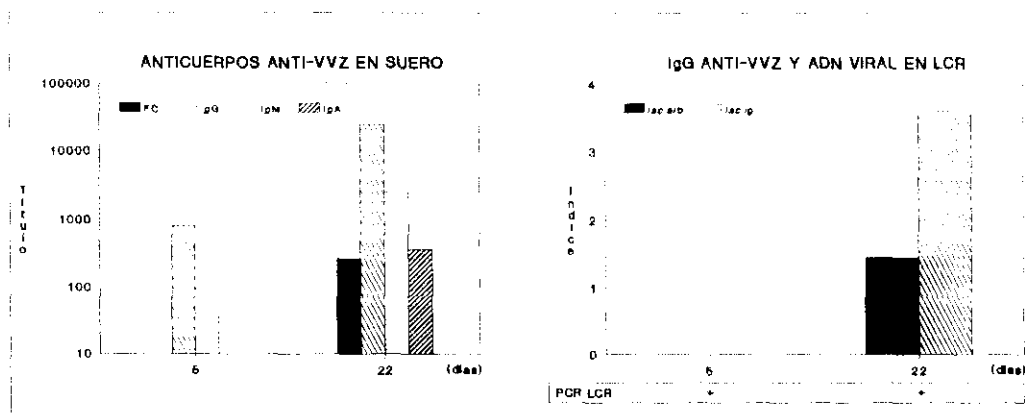
PACIENTE No.: 9 (N.B.) EDAD: 39a. CENTRO: H.del Rey  
 Comienzo MLA: 12/1/87 Zóster: SI Comienzo zóster: 22/1/87

PARAMETROS	Suero	LCR	Suero	LCR	Suero	LCR	Suero	LCR
Muestra	1	1	2	2	3	3		
Evolución (días)	10	10	17	17	28	28		
PCR		+		-		-		
FC	32		128		128			
IgG	4500	180	12000	3000	12000	3000		
Subclases IgG	1,4	1	1,3,4	1,4	1,2,3,4	1,4		
IgM	<40	<10	80	<10	40	<10		
IgA	80	<10	250	15	600	<10		
Albúmina (mg/dl)	3016	62.5	3016	38.8	4150	31.4		
IgG (mg/dl)	855	7.0	802	5.7	908	4.2		
IgM (mg/dl)								
IgA (mg/dl)			181	<0.8				
IaIb (x10 <sup>-3</sup> )		20.7		12.9		7.6		
Iac IgG		25.0		4.0		4.0		
Iac IgA				4.7				
Iac.sIb IgG		1.93		19.4		33.0		
Iac.sIb IgA				13.6				
Iac.Ig IgG		4.88		35.1		54.0		
Iac.Ig IgA				>13.6				



PACIENTE No.: 10 (T.F.) EDAD: 38a. CENTRO: H.del Rey  
 Comienzo MLA: 1/7/87 Zóster: SI Comienzo zóster: 1/7/87

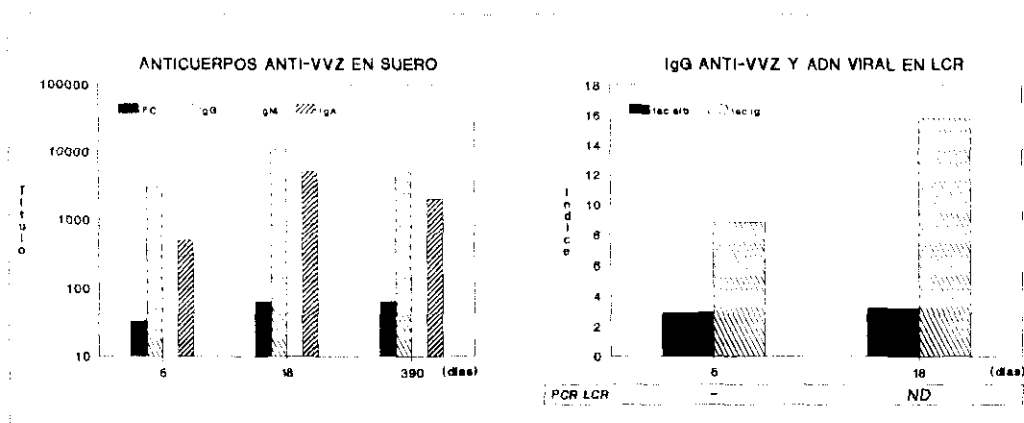
PARAMETROS	Suero	LCR	Suero	LCR	Suero	LCR	Suero	LCR
Muestra	1	1	2	2				
Evolución (dias)	5	5	22	22				
PCR		+		+				
FC	<8		256					
IgG	800	<20	24000	160				
Subclases IgG	1,3		1,2,3,4	1,3				
IgM	40	<10	2500	<10				
IgA	<10	<10	360	<10				
Albumina (mg/dl)	4868	60.0	4386	20.3				
IgG (mg/dl)			651	1.2				
IgM (mg/dl)								
IgA (mg/dl)								
Ialb (x10 <sup>-3</sup> )		12.3		4.6				
Iac IgG				150				
Iac IgA								
Iac.alb IgG				1.44				
Iac.alb IgA								
Iac.Ig IgG				3.60				
Iac.Ig IgA								



PACIENTE No.: 11 (A.M.A.) EDAD: 16a. CENTRO: H.del Rey

Comienzo MLA: 29/1/84 Zóster: NO

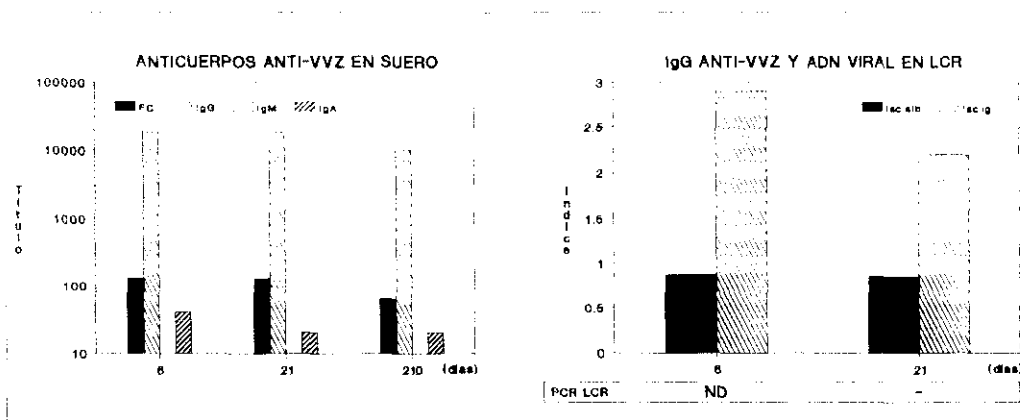
PARAMETROS	Suero	LCR	Suero	LCR	Suero	LCR	Suero	LCR
Muestra	1	1	2	2	3			
Evolución (días)	5	5	18	18	390			
PCR		-		ND				
FC	32		64		64			
IgG	3000	60	11000	180	5000			
Subclases IgG	1	1	1,3	1	1			
IgM	<40	<10	<40	<10	<40			
IgA	500	30	5000	120	2000			
Albúmina (mg/dl)	3690	25.7	4900	25.0				
IgG (mg/dl)	970	2.2	1065	1.1				
IgM (mg/dl)								
IgA (mg/dl)	140	1.0	150	<0.8				
IaIb (x10 <sup>-3</sup> )		7.0		5.1				
Iac IgG		50.0		61.0				
Iac IgA		16.7		41.7				
Iac.alb IgG		2.9		3.20				
Iac.alb IgA		8.6		4.70				
Iac.Ig IgG		8.8		15.8				
Iac.Ig IgA		8.4		>4.5				



PACIENTE No.: 12 (C.V.) EDAD: 15a. CENTRO: H.del Rey

Comienzo MLA: 2/8/84 Zóster: NO

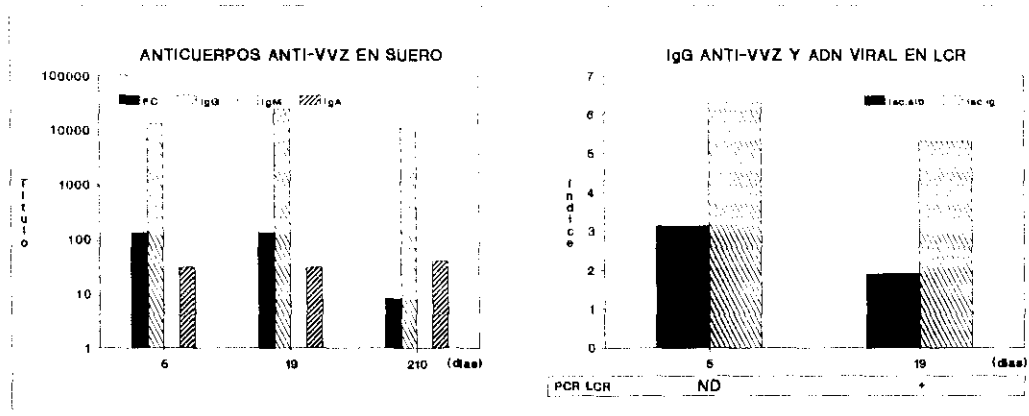
PARAMETROS	Suero	LCR	Suero	LCR	Suero	LCR	Suero	LCR
Muestra	1	1	2	2	3			
Evolución (días)	6	6	21	21	210			
PCR		ND		-				
FC	128		128		64			
IgG	18000	90	18000	40	10000			
Subclases IgG	1,3,4	1	1,3,4	1	1,2,3,4			
IgM	<40	<10	<40	<10	<40			
IgA	40	<10	20	<10	20			
Albúmina (mg/dl)	4325	25.0	5025	13.1				
IgG (mg/dl)	1110	1.9	1300	1.3				
IgM (mg/dl)								
IgA (mg/dl)								
Ialb (x10 <sup>-3</sup> )		5.8		2.6				
Iac IgG		200		450				
Iac IgA								
Iac.alb IgG		0.87		0.85				
Iac.alb IgA								
Iac.Ig IgG		2.90		2.20				
Iac.Ig IgA								



PACIENTE No.: 13 (F.L.) EDAD: 21a. CENTRO: H.del Rey

Comienzo MLA: 8/8/84 Zóster: NO

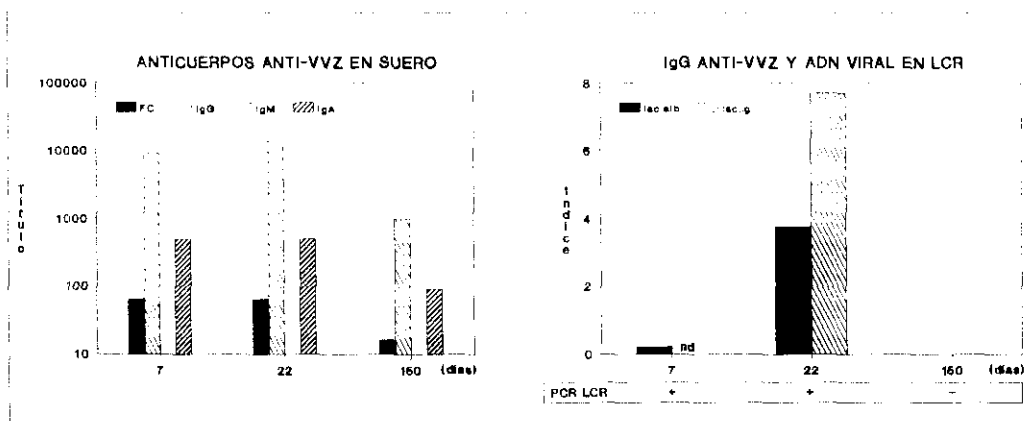
PARAMETROS	Suero	LCR	Suero	LCR	Suero	LCR	Suero	LCR
Muestra	1	1	2	2	3			
Evolución (días)	5	5	19	19	210			
PCR		ND		+				
FC	128		128		8			
IgG	13000	220	24000	200	11000			
Subclases IgG	1,3,4	ND	1,3,4	1	1,3,4			
IgM	<40	<10	<40	<10	<40			
IgA	30	<10	30	<10	40			
Albumina (mg/dl)	3385	18.4	4650	20.4				
IgG (mg/dl)	970	2.6	1200	1.9				
IgM (mg/dl)								
IgA (mg/dl)								
IaIb (x10 <sup>-3</sup> )		5.4		4.4				
Iac IgG		59.1		120				
Iac IgA								
Iac.aIb IgG		3.11		1.90				
Iac.aIb IgA								
Iac.Ig IgG		6.30		5.30				
Iac.Ig IgA								



PACIENTE No.: 14 (L.V.) EDAD: 15a. CENTRO: H.del Rey

Comienzo MLA: 5/12/84 Zóster: **NO** (Lo desarrolla el 27/12/84, tras su alta médica)

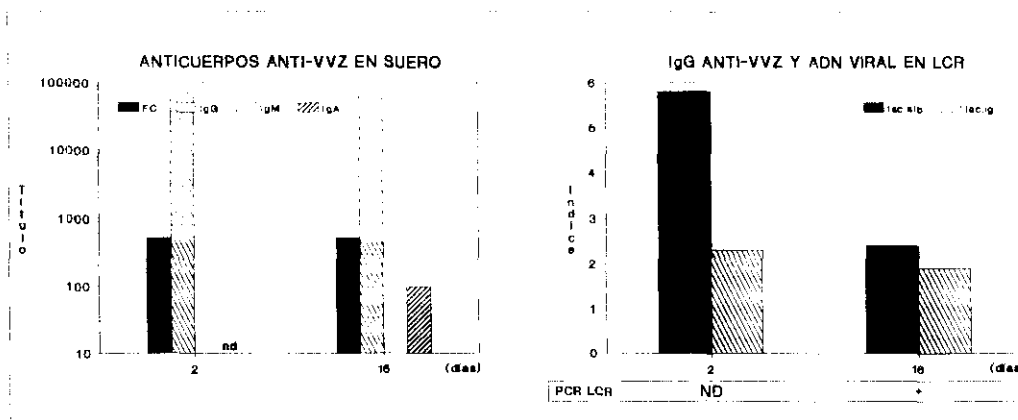
PARAMETROS	Suero	LCR	Suero	LCR	Suero	LCR	Suero	LCR
Muestra	1	1	2	2	3	3		
Evolución (días)	7	7	22	22	150	150		
PCR		+		+		-		
FC	64		64		16			
IgG	9000	20	14000	140	1000	<20		
Subclases IgG	1,3,4	1	1,3,4	1	1,3,4			
IgM	<40	<10	<40	<10	<40	<10		
IgA	500	<10	500	<10	90	<10		
Albúmina (mg/dl)	4025	40.5	6000	16.0				
IgG (mg/dl)			1700	2.2				
IgM (mg/dl)								
IgA (mg/dl)								
IaIb (x10 <sup>-3</sup> )		10.0		2.7				
Iac IgG		450		100				
Iac IgA								
Iac.aIb IgG		0.20		3.75				
Iac.aIb IgA								
Iac.Ig IgG				7.70				
Iac.Ig IgA								





PACIENTE No.: 15 (P.M.) EDAD: 9a. CENTRO: H.Niño Jesús  
 Comienzo MLA: 8/1/85 Zóster: NO

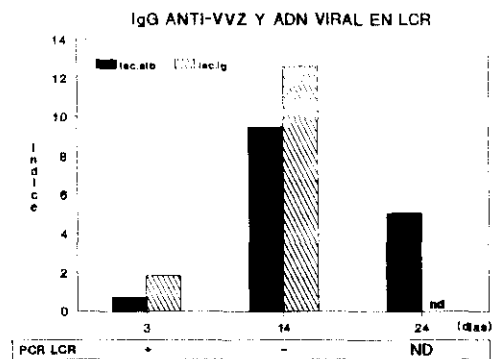
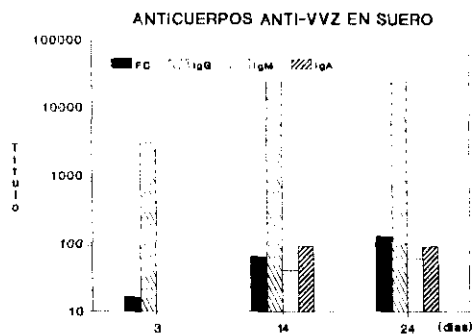
PARAMETROS	Suero	LCR	Suero	LCR	Suero	LCR	Suero	LCR
Muestra	1	1	2	2				
Evolución (días)	2	2	16	16				
PCR		ND		+				
FC	512		512					
IgG	70000	1000	70000	100				
Subclases IgG	ND	ND	1,3,4	1				
IgM	<40	<10	<40	<10				
IgA	ND	<10	100	<10				
Albúmina (mg/dl)	5500	13.6	6000	3.6				
IgG (mg/dl)	970	6.0	1065	0.8				
IgM (mg/dl)								
IgA (mg/dl)								
Ialb (x10 <sup>-3</sup> )		2.5		0.6				
Iac IgG		70		700				
Iac IgA								
Iac.alb IgG		5.8		2.4				
Iac.alb IgA								
Iac.Ig IgG		2.3		1.9				
Iac.Ig IgA								



PACIENTE No.: 16 (A.G-C.) EDAD: 22a. CENTRO: H.Clinico Tenerife

Comienzo MLA: 10.11.85 Zóster: NO

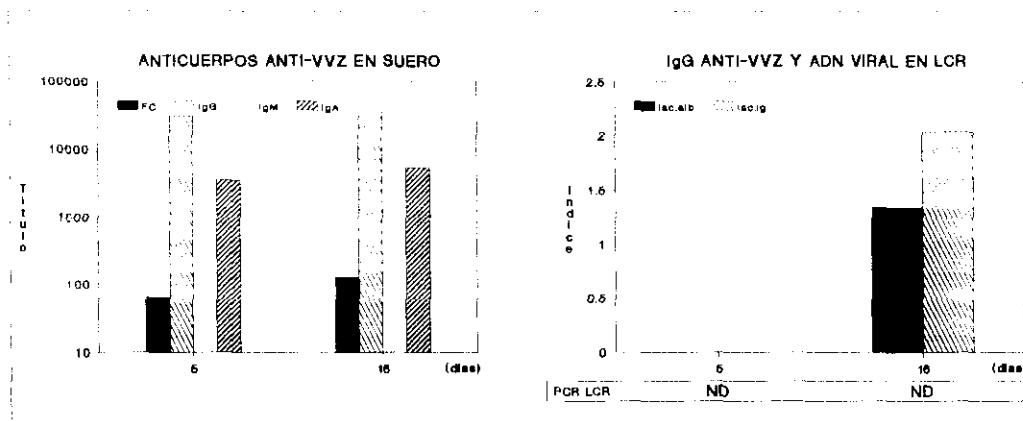
PARAMETROS	Suero	LCR	Suero	LCR	Suero	LCR	Suero	LCR
Muestra	1	1	2	2	3	3		
Evolución (días)	3	3	14	14	24	24		
PCR		+		-		ND		
FC	16		64		128			
IgG	3000	50	24000	800	24000	500		
Subclases IgG	1,3,4	1,3	1,3,4	1,3,4	1,3,4	ND		
IgM	<40	<10	40	<10	60	<10		
IgA	<10	<10	90	<10	90	<10		
Albumina (mg/dl)	3292	77.4	4033	14.2	1630	6.7		
IgG (mg/dl)	1020	9.2	1020	2.7	ND	ND		
IgM (mg/dl)								
IgA (mg/dl)								
Ialb (x10 <sup>-3</sup> )		23.5		3.5		4.1		
Iac IgG		60		30		48		
Iac IgA								
Iac.alb IgG		0.71		9.47		5.07		
Iac.alb IgA								
Iac.Ig IgG		1.85		12.6		ND		
Iac.Ig IgA								



PACIENTE No.: 17 (A.H.) EDAD: 20a. CENTRO: H.Clinico Tenerife

Comienzo MLA: 22.2.86 Zóster: NO

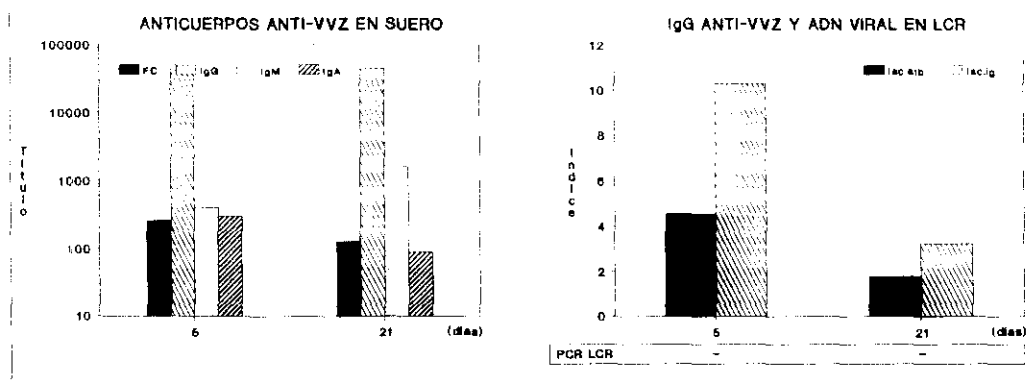
PARAMETROS	Suero	LCR	Suero	LCR	Suero	LCR	Suero	LCR
Muestra	1	1	2	2				
Evolución (días)	5	5	16	16				
PCR		ND		ND				
FC	64		128					
IgG	30000	>40	35000	160				
Subclases IgG	1,3	ND	1,3,4	ND				
IgM	<40	<10	<40	<10				
IgA	3500	ND	5500	20				
Albúmina (mg/dl)	ND	ND	2925	10.0				
IgG (mg/dl)			802	1.8				
IgM (mg/dl)								
IgA (mg/dl)			231	<0.8				
IgG (x10 <sup>-3</sup> )			3.4					
IgG			219					
IgA			275					
IgG			1.34					
IgA			1.06					
IgG			2.03					
IgA			1.62					



PACIENTE No.: 18 (J.G.) EDAD: 69a. CENTRO: H.del Rey

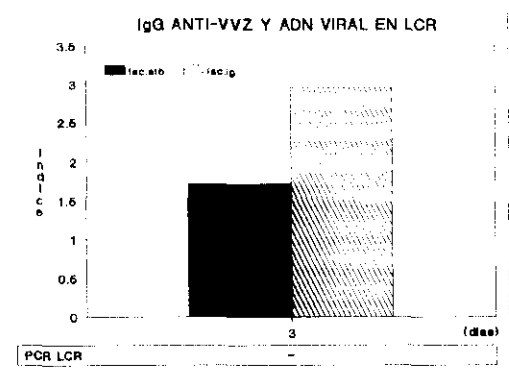
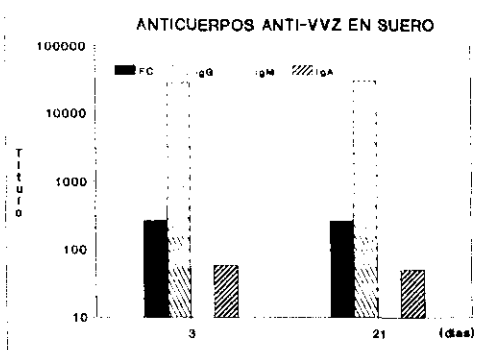
Comienzo MLA: 28/5/86 Zóster: NO

PARAMETROS	Suero	LCR	Suero	LCR	Suero	LCR	Suero	LCR
Muestra	1	1	2	2				
Evolución (días)	5	5	21	21				
PCR		-		-				
FC	256		128					
IgG	50000	6500	45000	1000				
Subclases IgG	1,2,3,4	1,4	1,2,3,4	1,4				
IgM	400	<10	1600	<10				
IgA	300	20	90	<10				
Albúmina (mg/dl)	3108	89.0	3475	43.1				
IgG (mg/dl)	855	10.8	963	6.6				
IgM (mg/dl)								
IgA (mg/dl)	274	1.4						
IaIb (x10 <sup>-3</sup> )		28.6		12.4				
IaIc IgG		7.7		45.0				
IaIc IgA		15.0						
IaIc.aIb IgG		4.54		1.79				
IaIc.aIb IgA		2.33						
IaIc.Ig IgG		10.3		3.24				
IaIc.Ig IgA		13.0						



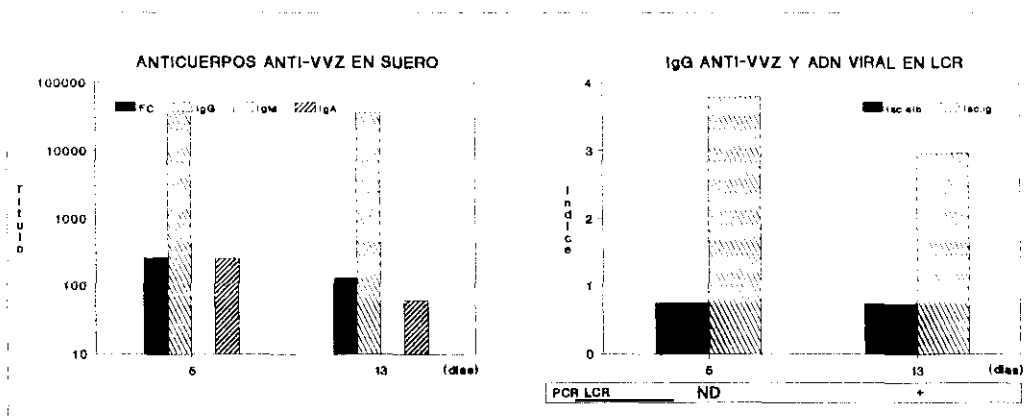
PACIENTE No.: 19 (S.M.) EDAD: 20a. CENTRO: H.del Rey  
 Comienzo MLA: 7/7/86 Zóster: NO

PARAMETROS	Suero	LCR	Suero	LCR	Suero	LCR	Suero	LCR
Muestra	1	1	2					
Evolución (días)	3	3	21					
PCR		-						
FC	256		256					
IgG	28000	260	30000					
Subclases IgG	1	1	1,4					
IgM	<40	<10	<40					
IgA	60	<10	50					
Albúmina (mg/dl)	3383	18.4						
IgG (mg/dl)	700	2.2						
IgM (mg/dl)								
IgA (mg/dl)								
Ialb (x10 <sup>-3</sup> )		5.4						
Iac IgG		107						
Iac IgA								
Iac.alb IgG		1.71						
Iac.alb IgA								
Iac.ig IgG		2.95						
Iac.ig IgA								



PACIENTE No.: 20 (G.H.) EDAD: 15a. CENTRO: H.Clinico Tenerife  
 Comienzo MLA: 18/9/86 Zóster: NO

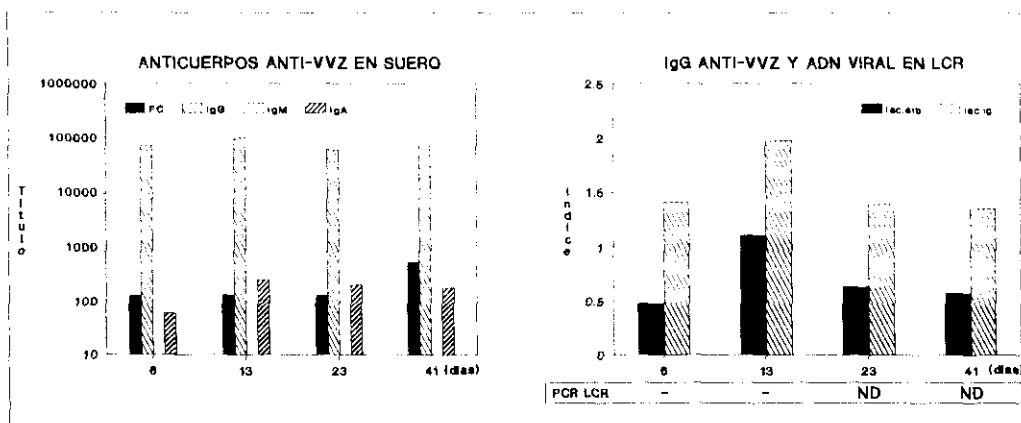
PARAMETROS	Suero	LCR	Suero	LCR	Suero	LCR	Suero	LCR
Muestra	1	1	2	2				
Evolución (días)	5	5	13	13				
PCR		ND		+				
FC	256		128					
IgG	34000	200	36000	150				
Subclases IgG	ND	1,4	1,3,4	1,4				
IgM	<40	<10	<40	<10				
IgA	250	<10	60	<10				
Albúmina (mg/dl)	3385	27.0	3585	20.4				
IgG (mg/dl)	983	1.5	855	1.2				
IgM (mg/dl)								
IgA (mg/dl)								
Ialb (x10 <sup>-3</sup> )		8.0		5.7				
Iac IgG		170		240				
Iac IgA								
Iac.alb IgG		0.74		0.73				
Iac.alb IgA								
Iac.Ig IgG		3.78		2.97				
Iac.Ig IgA								



PACIENTE No.: 21 (J.G.) EDAD: 19a. CENTRO: H.del Rey

Comienzo MLA: 16/12/86 Zóster: NO

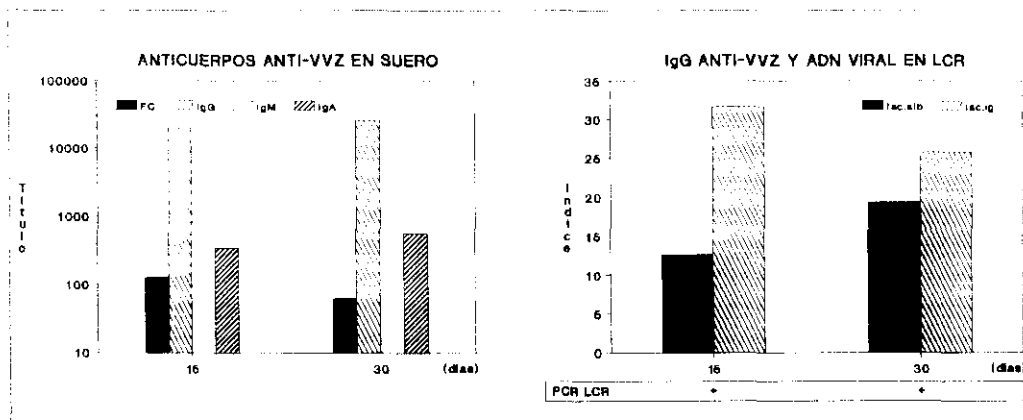
PARAMETROS	Suero	LCR	Suero	LCR	Suero	LCR	Suero	LCR
Muestra	1	1	2	2	3	3	4	4
Evolución (días)	6	6	13	13	23	23	41	41
PCR		-		-		ND		ND
FC	128		128		128		512	
IgG	70000	800	100000	1400	60000	500	70000	260
Subclases IgG	1,2,3,4	1,4	1,3,4	1,4	1,3,4	1,4	1,3,4	1,4
IgM	<40	<10	<40	<10	<40	<10	<40	<10
IgA	60	<10	250	<10	200	<10	180	<10
Albúmina (mg/dl)	3383	80.0	3383	43.1	3200	42.3	3383	22.2
IgG (mg/dl)	802	6.5	802	5.7	802	4.8	802	2.2
IgM (mg/dl)								
IgA (mg/dl)								
Ialb (x10 <sup>-3</sup> )		23.6		12.7		13.2		6.5
Iac IgG		88		71		120		269
Iac IgA								
Iac.alb IgG		0.48		1.10		0.63		0.57
Iac.alb IgA								
Iac.ig IgG		1.41		1.97		1.39		1.35
Iac.ig IgA								



PACIENTE No.: 22 (C.P.) EDAD: 38a. CENTRO: H.Gral. Lugo

Comienzo MLA: 15/5/87 Zóster: NO

PARAMETROS	Suero	LCR	Suero	LCR	Suero	LCR	Suero	LCR
Muestra	1	1	2	2				
Evolución (días)	15	15	30	30				
PCR		+		+				
FC	128		64					
IgG	20000	7000	26000	5000				
Subclases IgG	1,2,3,4	1,3,4	1,2,3,4	1,3,4				
IgM	<40	<10	<40	<10				
IgA	350	40	560	50				
Albúmina (mg/dl)	2433	67.7	2925	29.0				
IgG (mg/dl)	1070	11.8	1250	9.3				
IgM (mg/dl)								
IgA (mg/dl)	144	0.8	181	<0.8				
Ialb (x10 <sup>-3</sup> )		27.8		9.9				
Iac IgG		2.9		5.2				
Iac IgA		8.8		11.2				
Iac.alb IgG		12.6		19.3				
Iac.alb IgA		4.1		9.0				
Iac.Ig IgG		31.7		25.8				
Iac.Ig IgA		20.6		20.2				





## APÉNDICE

### PUBLICACIONES REALIZADAS

## LISTA DE PUBLICACIONES REALIZADAS EN BASE A ESTOS RESULTADOS

1. Echevarría JM, Martínez Martín P, Téllez A, de Ory F, Rapún JL, Bernal A, Estévez E, Nájera R. Aseptic meningitis due to Varicella-Zoster virus: serum antibody levels and local synthesis of specific IgG, IgM and IgA. *Journal of Infectious Diseases* 1987; 155:959-967.
2. Echevarría JM, de Ory F, León P, Téllez A. Definition of high-proficiency serological markers for diagnosis of Varicella-Zoster virus infections by enzyme immunoassay. *Journal of Medical Virology* 1989; 27:224-230.
3. Echevarría JM, de Ory F, León P, Téllez A, Martínez Martín P, Martín Fontelos P. Comparative sensitivity of different criteria for interpreting antibody tests in cerebrospinal fluid from patients with acute viral meningitis. *Serodiagnosis and Immunotherapy in Infectious Disease* 1990; 4:193-199.
4. Echevarría JM, Téllez A, Martínez Martín P. Subclass distribution of the serum and intrathecal IgG antibody response in Varicella-Zoster virus infections. *Journal of Infectious Diseases* 1990; 162:621-626.
5. Echevarría JM, Casas I, Tenorio A, de Ory F, Martínez Martín P. Detection of Varicella-Zoster virus-specific DNA sequences in cerebrospinal fluid from patients with acute aseptic meningitis and no cutaneous lesions. *Journal of Medical Virology* 1994; 43:331-335.