



ARTÍCULO ORIGINAL

Estudio de la etiología de meningitis aséptica y meningoencefalitis en el Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González, mediante estrategias de virología molecular

Ramón A. Martínez-Hernández,¹ Ana María Rivas-Estilla,² Lourdes Garza-Rodríguez,² Javier Ramos-Jiménez.^{1*}

¹ Servicio de Infectología. Departamento de Medicina Interna

² Laboratorio de Infectología Molecular. Departamento de Bioquímica.

Recibido: febrero, 2009. Aceptado: agosto, 2009.

PALABRAS CLAVE

Meningitis aséptica;
Meningoencefalitis;
México; Virosis.

Resumen

Antecedentes: La meningitis aséptica y la meningoencefalitis constituyen problemas de gran importancia clínica. Sus agentes etiológicos más frecuentes son los enterovirus (ECHOvirus, Coxsackievirus, Enterovirus no-polio), Togavirus, Flavivirus, Bunyavirus y otros grupos antes conocidos como ARBOvirus (Arthropod-borne viruses) y el virus del herpes humano.

Objetivo: En este trabajo nos propusimos identificar, mediante la reacción en cadena de la polimerasa, los genomas virales de los virus del herpes simple (VHS tipos 1 y 2), del enterovirus y del virus del oeste del Nilo (VON) como causantes de meningitis aséptica y de meningoencefalitis.

Material y métodos: Se estudiaron 30 pacientes que ingresaron al Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González durante el período de febrero de 2005 a junio de 2008. Se analizaron muestras de líquido cefalorraquídeo (2 mL) para buscar, mediante la reacción en cadena de la polimerasa, el genoma del enterovirus, del VHS tipos 1 y 2, y del virus del oeste del Nilo, siguiendo protocolos estandarizados.

Resultados: Ninguno de los pacientes estudiados fue positivo para los virus buscados mediante amplificación por la reacción en cadena de la polimerasa. Entre los datos clínicos relevantes encontramos que la presencia de estupor o el coma se relacionó significativamente con la muerte ($p = 0.005$). Encontramos, además, que tres muertes ocurrieron en el grupo de pacientes con meningoencefalitis ($p = 0.021$).

Conclusiones: No encontramos el genoma de los virus analizados en el líquido cefalorraquídeo de los pacientes estudiados, probablemente debido al tamaño limitado de la muestra, a su calidad, o a diversos factores epidemiológicos en nuestra región. La información clínica y del laboratorio de los pacientes estudiados es similar a la que está publicada en estudios anteriores. Es necesario realizar estudios más amplios, incluyendo a un mayor número de pacientes que nos permitan conocer la etiología de este tipo de enfermedades en nuestra comunidad. Esto hará posible mejorar la metodología para el diagnóstico en los pacientes con patología del sistema nervioso central.

*Correspondencia: Dr. Javier Ramos Jiménez. Servicio de Infectología. Departamento de Medicina Interna. Facultad de Medicina y Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González, Universidad Autónoma de Nuevo León. Avenida Francisco I. Madero y Avenida Gonzalitos s/n. Colonia Mitras Centro, C. P. 64460 Monterrey, Nuevo León, México. Teléfono: (+52 81) 8348 5013. Correo electrónico: javramos31@hotmail.com

KEY WORDS

Meningitis; Aseptic;
Meningoencephalitis;
Mexico; Virus diseases.

Study of the etiology of aseptic meningitis and meningoencephalitis in the Dr. Jose E. Gonzalez University Hospital, through molecular virology strategies

Abstract

Background/Aim: Aseptic meningitis and meningoencephalitis constitute clinical important problems. The most frequent etiological agents reported are viruses, mainly enteroviruses (ECHOvirus, Coxsackievirus, Non-polio enterovirus), ARBOviruses and Herpes.

Objective: To search for the most frequent viral agents of aseptic meningitis and meningoencephalitis in patients at a teaching hospital by means of the identification of viral genome.

Material and Methods: The study group included patients with the diagnosis of aseptic meningitis and meningoencephalitis admitted to the University Hospital Dr. Jose E. Gonzalez from 2005 to 2008. A sample of cerebrospinal fluid (CSF, 1-2 mL) was obtained from each patient, DNA and RNA were extracted, and later a search for genomic sequences of enteroviruses, Herpes type 1 and 2 and West Nile virus was performed by polymerase chain reaction, following standardized and strict quality controlled protocols.

Results: We analyzed 30 CSF samples from 30 enrolled patients. None of the patients were positive by polymerase chain reaction for the mentioned virus. Among the relevant clinical data we found that the presence of stupor or comma were related to death ($p = 0.005$). Additionally we found three deaths occurred in the meningoencephalitis group ($p = 0.021$).

Conclusions: We did not find the genome of the studied viruses in CSF from the studied patients, probably due to limited population size, quality of the sample and/or different epidemiology in our community. The clinical and laboratory information of the studied patients is similar to the one reported in previous studies. Effort must continue in further studies increasing the number of patients in order to know the etiology of this kind of diseases in our community.

Introducción

Las infecciones agudas del sistema nervioso central constituyen un problema importante de salud, en el cual el diagnóstico y tratamiento temprano influyen de manera contundente en la evolución de la enfermedad. Las infecciones más comunes son meningitis bacteriana, meningitis aséptica, considerada viral en ausencia de prueba convencional de infección bacteriana, encefalitis e infecciones focales. Dentro de estos síndromes el estudio del líquido cefalorraquídeo (LCR) es crítico y puede orientar de manera muy importante el tratamiento inicial y, con el uso de métodos diagnósticos especializados, establecer un diagnóstico preciso.¹

La meningitis aséptica (MA) se define con datos clínicos y de laboratorio de inflamación meníngea en ausencia de bacterias en la tinción Gram y en los cultivos.^{2,3} Una vez descartada una causa bacteriana y otras causas no infecciosas como vasculitis en enfermedades autoinmunes, la principal sospecha debe ser viral, con lo que el tratamiento y el pronóstico de estos pacientes puede modificarse.^{4,5} Entre los principales virus causantes de meningitis aséptica se encuentran los enterovirus (ECHOvirus, Coxsackievirus, Enterovirus no-polio), Togavirus,

Flavivirus, Bunyavirus (antes conocidos como ARBOvirus), virus del herpes simple (VHS), y virus de la parotiditis. Los enterovirus son la principal causa de meningitis aséptica en Estados Unidos de América, con aproximadamente 75 000 casos por año.⁶

Debido a la dificultad y al tiempo requerido para aislar virus del LCR en cultivos (entre 4 a 8 días), y con aproximadamente 25% a 35% de resultados negativos en pacientes con cuadro clínico compatible con meningitis por enterovirus, se han desarrollado otros métodos con mayor efectividad para aislar estos agentes. El desarrollo y aplicación de los métodos moleculares en medicina, como la reacción en cadena de la polimerasa (polymerase chain reaction, PCR), ha logrado reducir el tiempo para establecer un diagnóstico preciso.⁷⁻⁹ En estudios de poblaciones pediátricas está bien demostrado que el costo beneficio de llevar a cabo pruebas moleculares es muy grande.⁸ Se han reportado diversos agentes virales causantes de meningitis aséptica en poblaciones adultas mediante la PCR con la cual los resultados han sido consistentes y con mejoría de sensibilidad y especificidad, en comparación con los cultivos virales y las pruebas serológicas.¹⁰⁻¹² En un estudio de 144 pacientes con MA se identificó la etiología en 66% de ellos con el uso de serología,

la PCR y cultivos. El 45% de los diagnósticos se logró por medio de la PCR, y se encontró que los enterovirus fueron la principal causa (26%), seguidos por el VHS tipo 2 (17%) y el virus de varicela zóster (VVZ) (8%).^{10,12}

En estudios en pacientes pediátricos se demostró la reducción de estancia hospitalaria y del uso de antibióticos al obtener un diagnóstico etiológico temprano mediante la identificación de genomas virales, utilizando la PCR.^{13,14}

En un estudio hecho en Guatemala en niños con meningitis bacteriana, 15% de los casos sin diagnóstico fallecieron, y no se pudo hacer mayor búsqueda del agente etiológico.¹⁵ En nuestro país actualmente sólo se han hecho descripciones clínicas de los casos de MA en poblaciones de niños, y no se han efectuado estudios para determinar los principales agentes causales. En un informe de la unidad de infectología, del Instituto Nacional de Neurología, se establece que la encefalitis viral aguda se ubica entre los tres primeros diagnósticos de egreso sin reporte de agente etiológico específico, lo que resalta la escasez de información al respecto en México.¹⁶ Actualmente, en nuestra institución no se realizan estudios moleculares de rutina para identificar los agentes causales en los casos de MA, por lo cual no contamos con datos epidemiológicos que ayuden a llevar a cabo medidas preventivas; además, el tratamiento se realiza de manera empírica.

En este trabajo nos propusimos identificar, mediante la PCR, los genomas de los virus del herpes simple (VHS tipos 1 y 2), de los enterovirus y del virus del oeste del Nilo (VON) como causantes de MA o de meningoencefalitis (ME) en pacientes del Hospital Dr. José E. González.

Material y métodos

Pacientes estudiados

En este estudio se incluyeron 30 pacientes que ingresaron al Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González, de la

Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL), con diagnóstico de MA o ME agudas, y con signos y síntomas de inflamación meníngea de tres semanas de evolución o menos, con o sin presencia de encefalitis. Los pacientes se reclutaron en un período de 40 meses (febrero de 2005 a junio de 2008). Este trabajo fue aprobado por el Comité de Investigación y Ética, de la Facultad de Medicina de la UANL. En cada caso se solicitó la carta de consentimiento informado. Los datos clínicos y de laboratorio se obtuvieron del expediente del paciente y de una encuesta realizada al momento de ingresarlo al protocolo.

Para la selección de los pacientes se tuvieron los siguientes criterios de inclusión: a) edad de un mes a 90 años; b) ingresados al Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González con diagnóstico de MA o de ME aguda por criterios de laboratorio y clínicos, y c) pacientes que aceptaron participar en el protocolo con firma de la carta de consentimiento informado.

Los criterios de exclusión fueron: a) pacientes con diagnóstico previo de meningitis bacteriana en los últimos tres meses; b) pacientes con infección por el virus de la inmunodeficiencia humana; c) pacientes con diagnóstico de inmunodeficiencia primaria o secundaria; d) pacientes con ventriculostomía o derivación ventrículo-peritoneal, y e) pacientes a quienes se había practicado neurocirugía.

Los criterios de eliminación considerados fueron: a) pacientes con cultivos bacterianos positivos en LCR, y b) pacientes en quienes se demuestre agente causal no infeccioso.

Para realizar los estudios moleculares se destinó una alícuota de LCR (de 2 mL) obtenido como procedimiento de rutina para establecer el diagnóstico de cada uno de los sujetos incluidos en el estudio.

Aislamiento e identificación de los genomas virales

La extracciones de los genomas virales se realizaron a partir de LCR utilizando el reactivo TRIzol® (Invitrogene,

Cuadro 1. Oligonucleótidos utilizados en la reacción en cadena de la polimerasa de los virus estudiados

Virus	Nombre iniciador	Secuencia nucleotídica de iniciadores de la PCR*
Enterovirus	EV 1	CGG TAC CTT TGT ACG CCT GT
Enterovirus	EV 2	GGA CAC CCA AAG TAG TCG GT
VHS familia	VHS UP	ATG GTG AAC ATC GAC ATG TAC GG
VHS tipo 1	VHS-1 DOWN	CTC GCG TTC GTC CTC GTC CT
VHS tipo 2	VHS-2 DOWN	CCT TGT CGA GGC CCC GAA AC
VON	VON 1	TTG TGT TGG CTC TCT TGG CGT TCT T
VON	VON 2	CAGCCGACAGCACTGGACATTGATA
VON (nested)	VONn 3	CAGTGCTGGATCGATGGAGAGG
VON (nested)	VONn 4	CCGCCGATTGATGACTGGT

*PCR: reacción en cadena de la polimerasa

Carlsbad, California) y siguiendo las especificaciones del proveedor. El reactivo de TRIzol nos permitió realizar tanto el aislamiento de RNA, como el de DNA de cada muestra.

Los genomas de RNA del enterovirus y el del VON fueron amplificados mediante la retrotranscripción (RT) y la PCR. Para el VON se hizo, además, una PCR anidada (PCRn). Los genomas del DNA de los VHS1 y VHS2 se amplificaron directamente por la PCR. Las reacciones de RT, PCR y PCRn se efectuaron siguiendo los procedimientos estandarizados en el laboratorio de infectología molecular, del Departamento de Bioquímica, de la Facultad de Medicina de la UANL.

Brevemente, la síntesis del ADNc para los enterovirus y el VON se hizo por medio de RT a 42 °C, utilizando la enzima superscript II según las indicaciones del proveedor (Invitrogene, Carlsbad, California). Los oligonucleótidos utilizados para los enterovirus amplifican la región 5' terminal no codificante del picornavirus (**cuadro 1**), y el producto amplificado tiene un tamaño de 497 pares de bases (pb). Para el VON se utilizaron oligonucleótidos que amplifican una región que incluye en parte genes de la proteína C y de la proteína pre-M, y se obtienen productos amplificados de 408 pb para la PCR y de 110 pb para la PCRn (**cuadro 1**).

Para la detección del genoma de los virus del herpes simple humano tipos 1 y 2 se utilizaron oligonucleótidos específicos descritos en el **cuadro 1**, los cuales amplifican una región del gen de la ADN polimerasa del virus del herpes simple humano. Los productos amplificados corresponden a un tamaño de 468 pb para el VHS-1 y de 388 pb para el VHS-2.

Todos los productos amplificados se visualizaron en geles de agarosa a 2%, teñidos con bromuro de etidio.

Análisis estadístico

La información obtenida se analizó con el programa SPSS 12.0. Se valoró la distribución normal de las variables con la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Se hizo el análisis para variables dicotómicas a través de la prueba de ji cuadrada o prueba exacta de Fisher. Las variables continuas se analizaron con la prueba *t* de Student o la prueba de *U* de Mann Whitney. Para comparación de los tres grupos se utilizó la prueba de ANOVA.

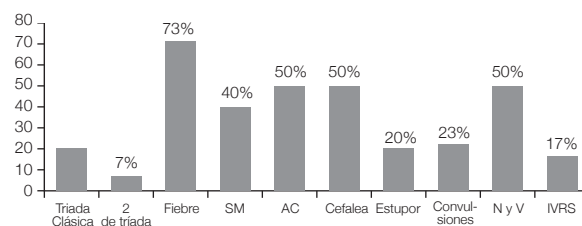
Resultados

En el periodo de estudio se ingresaron 47 pacientes con datos clínicos de MA y ME, de los cuales 30 cumplieron los criterios de inclusión.

Las características demográficas fueron las siguientes: masculino 16 (54%), femenino 14 (46%), con media de edad de 29.6 años; 14 (46%) con seis años de escolaridad; 16 (54%) con estado civil de casado. En cuanto a la comorbilidad se presentó hipertensión arterial sistémica en cinco (16%), diabetes mellitus tipo 2 en tres (10%), tabaquismo en cinco (16%), y alcoholismo en cinco (16%).

La mayor parte de los casos, 23 (76%) se presentaron en los meses de junio a noviembre; el resto se distribuyó durante el año.

Figura 1. Principales signos y síntomas presentes en los pacientes incluidos en este estudio



SM: signos meníngeos. AC: alteración de la conciencia. N y V: náusea y vómito. IVRS: infección de vía respiratoria superior

Los datos del cuadro clínico a su ingreso al hospital fueron los siguientes: fiebre en 22 (73%), alteración del nivel de conciencia en 15 (50%), cefalea en 15 (50%), signos meníngeos en 12 (40%), triada clásica (fiebre, signos meníngeos y cefalea) en seis (20%); dos de los tres signos de la triada en 20 (66%), estupor o coma en seis (20%), mialgia en 14 (47%), náusea y vómito en 15 (50%), somnolencia en 11 (36%), debilidad muscular en 11 (36%), crisis convulsivas en siete (23%), diarrea en cinco (16%), infección de vía respiratoria superior en cinco (16%), disartria en cinco (16%), parestesia en cinco (16%), insomnio en tres (10%), alucinaciones en tres (10%), y fobia en tres (10%) (**figura 1**). El citoquímico de LCR presentó las siguientes características: en el primero, pleocitosis, media de 188, desviación estándar (*DE*) 140; porcentaje de linfocitos 86 ± 18 ; glucosa 67 ± 21 ; proteínas 91 ± 61 ; cloro 120 ± 14 ; lactato 1.72, mediana 1.7 (*DE* 1.62) (**cuadro 2**). En el segundo, 26 (85%) pleocitosis, media 152, *DE* 247; porcentaje de linfocitos 79 ± 26 ; glucosa 74 ± 20 ; proteínas 65 ± 51 ; cloro 121 ± 4.6 ; y lactato 1.56 ± 0.94 . En el último LCR (54%), pleocitosis, media 35, *DE* 38; porcentaje de linfocitos 50 ± 43 ; glucosa 85 ± 27 ; proteínas 64 ± 30 ; cloro 127 ± 9 , y lactato 1.65 ± 0.73 . El tiempo de estancia hospitalaria promedio fue de 14.9 días. Hubo tres defunciones (10%).

Las muestras de LCR recibidas de cada paciente variaron en volumen desde 0.5 mL hasta 5 mL; el tiempo transcurrido entre la toma y el almacenamiento varió desde inmediato hasta cuatro horas y, en algunos casos, desconocido.

Utilizando los métodos ya descritos se intentó la extracción de ácidos nucleicos en las 30 muestras y no fue factible encontrar positividad en ninguna de las analizadas.

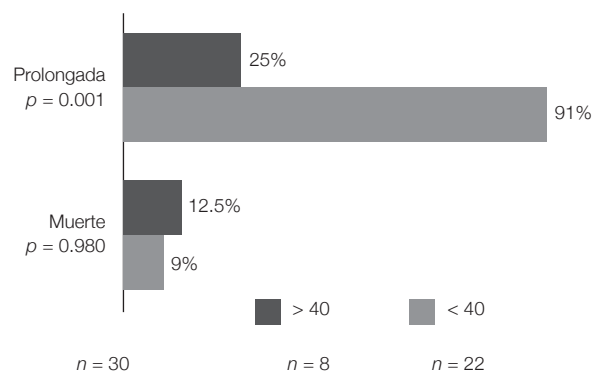
En cuanto al tratamiento, 19 (63%) pacientes recibieron antibiótico en algún momento de su internamiento. En éstos, el antibiótico más utilizado fue ceftriaxona en ocho (42%), ampicilina en cuatro (21%), vancomicina en tres (15%), ceftazidima en tres (15%), amikacina en dos (10%), y ciprofloxacino en dos (10%). La combinación más utilizada fue ceftriaxona y ampicilina en cuatro (21%). Se utilizó aciclovir en cinco (26%) y dexametasona en 10 (54%). La combinación de ceftriaxona, ampicilina y dexametasona se

Cuadro 2. Grupos clasificados por pleocitosis en líquido cefalorraquídeo

Grupos	1 \bar{X} (DS) <10 leucocitos/mm ³	2 \bar{X} (DS) 20-100 leucocitos/mm ³	3 \bar{X} (DS) >100 leucocitos/mm ³	p
Edad	37.4 (27.2)	22.2 (5.1)	31.4 (11.2)	0.191
Leucocitos	8 (2.6)	60.3 (20.4)	221 (106)	0.263
Linfocitos	90 (19.1)	75.5 (22.9)	87 (15)	0.561
Glucosa	79 (28.4)	69.1 (17.9)	58 (14.1)	0.134
Proteínas	78.1 (80)	76.7 (42.4)	123.4 (44.2)	0.161
Lactato	1.2 (0.4)	1.5 (0.5)	2.8 (1.4)	0.710
Días estancia	17.2 (8.9)	12.8 (5)	15.2 (14.1)	0.054
Defunciones	0	1	2	0.181

Cuadro 3. Número de defunciones asociadas a comorbilidad

Comorbilidad (n)	Defunciones n (%)	p
Diabetes mellitus (4)	2 (50)	0.110
Hipertensión (5)	0 (0)	0.567
Tabaquismo (4)	1 (25)	0.999
Etilismo (5)	2 (40)	0.228

Figura 2. Relación de edad con muerte y tiempo de internamiento*

utilizó en cuatro (21%). La sumatoria del total tratamiento fue: con ceftazidima, 40; con ceftriaxona, 100; con aciclovir, 93, y con dexametasona, 105.

Agrupamos a los pacientes con dos criterios: nivel de pleocitosis de LCR, y síndrome de presentación. Obtuvimos de esta manera tres y dos grupos, respectivamente. En la clasificación de acuerdo con la pleocitosis se crearon tres grupos: 1) < 20 leucocitos/mm³; 2) 20 - 100 leucocitos/mm³, y 3) > 100 leucocitos/mm³. Dentro del grupo 1 (siete pacientes) la media de edad fue de 37.4 años, el dato de presentación con mayor frecuencia fue fiebre en 71.4%, el promedio de tiempo de internamiento fue de 17.2 días, hubo un paciente con síndrome de me-

ningococcal, y no hubo defunciones. En el grupo 2 (10 pacientes) la media de edad fue 22.2 años, el dato de presentación con mayor frecuencia fue fiebre en 80%, el promedio de tiempo de internamiento fue 12.8 días, hubo cuatro pacientes con síndrome de meningococcal, y se presentó una defunción. La media de edad del grupo 3 (13 pacientes) fue de 31.4 años, el dato de presentación con mayor frecuencia fue fiebre en 69.2%, el promedio de tiempo de internamiento 15.2 días, cuatro pacientes presentaron síndrome de meningococcal, y ocurrieron dos defunciones (cuadro 2). No se encontró relación entre comorbilidad o sexo con estancia prolongada (igual o mayor a siete días) o muerte (cuadro 3).

Cuadro 4. Grupos clasificados en síndromes clínicos y sus características

	Meningitis (21)	Meningoencefalitis (9)
Edad (años)	29.2	31
Leucocitos	110.3 leucocitos/mm ³	135.2 leucocitos/mm ³
Linfocitos	84%	83.3%
Glucosa	62.9 mg/dL	75 mg/dL
Proteínas	103.5 mg/dL	82.6 mg/dL
Lactato	1.6 mmol/L	1.9 mmol/L
Días estancia	13.8	17.4
Muerte	0	3 (<i>p</i> = 0.021)

Los pacientes menores de 40 años de edad tuvieron estancia prolongada (**figura 2**) ($p = 0.001$). La presencia de estupor o coma se relacionó con muerte ($p = 0.005$), y no se relacionó con estancia prolongada. No hubo diferencia en la administración de antimicrobianos en los tres grupos. El grupo 3 recibió durante más días dexametasona que el grupo 1 (10 vs 64 días) ($p = 0.036$).

De acuerdo con la clasificación en síndromes de meningitis y meningoencefalitis separamos a nuestros pacientes en dos grupos, para valorar si existía relación con las variables (**cuadro 4**).

En nueve pacientes (30%) encontramos datos de ME. De los 30 pacientes, 28 (93%) tenían un estudio de imagenología; 26 (86%) contaban con estudio de tomografía, y nueve (30%), de resonancia magnética. Estos datos corresponden a 100% del grupo de pacientes con meningoencefalitis. Los datos observados con más frecuencia en la resonancia magnética fueron inflamación del lóbulo temporal, cerebritis y edema cerebral. Al analizar a los pacientes con meningitis, comparados con los con meningoencefalitis encontramos que no hubo diferencia en la edad y el sexo; la presencia de comorbilidad no se asoció con el síndrome de presentación; la única diferencia significativa ocurrió en las tres defunciones por ME ($p = 0.021$).

Discusión

Las características de los pacientes estudiados fueron: seis jóvenes (20%), sin predominio de sexo, sin comorbilidad asociada, con presencia de la tríada clásica (fiebre, signos meníngeos, cefalea). De los casos, 23 (76%) se presentaron en los meses de junio a noviembre, lo cual es congruente con el predominio estacional del enterovirus. Los pacientes menores de 40 años de edad tuvieron mayor tiempo de internamiento, lo que podría estar en relación con no tener en corto tiempo una certeza diagnóstica.

En los pacientes agrupados por pleocitosis se observa una tendencia a mayor número de defunciones con mayor pleocitosis, pero sin ser esto estadísticamente significativo.

La ausencia de ácido nucleico viral detectada en los patógenos estudiados podría explicarse por varios factores, como calidad de las muestras colectadas, periodo de toma de muestra dentro de la historia de la enfermedad, sensibilidad de los métodos utilizados, e influencia del tratamiento (principalmente en el caso del virus del herpes simple) en la cantidad de virus.

La epidemiología local en cuanto a los virus circulantes y la frecuencia con la que se presentan podría ser diferente a la mostrada en estudios previos en otros países, y sólo se buscó a los VHS tipos 1 y 2, a los enterovirus y al VON, por lo que no es posible descartar otros agentes.

Los hallazgos de este estudio fueron: a) los datos clínicos y de laboratorio de los pacientes estudiados están de acuerdo con los referidos en estudios previos, y b) no se detectaron ácidos nucleicos de los virus estudiados. Por lo tanto, es necesario efectuar estudios más amplios, que incluyan un mayor número de pacientes, con muestras de mejor calidad, y con menor tiempo de procesamiento, e incluir a otros patógenos en el estudio. Todo lo anterior nos permitirá conocer mejor la etiología viral de las infecciones del sistema nervioso central.

Continuando con la vigilancia para la identificación de virus causantes de meningitis aséptica, en el mes de Julio de 2009, identificamos un paciente masculino de 40 años con meningoencefalitis (ME) de probable etiología por el Virus del Occidente del Nilo (VON), ya que se obtuvo un resultado positivo en el análisis de PCR en el líquido cefalorraquídeo. Es necesario realizar más estudios amplificando otras regiones del virus y análisis de secuenciación del genoma, de confirmarse, éste sería el primer caso de ME en humanos por VON en México. Un reporte detallado del caso será publicado a la brevedad.

Referencias

1. Kronvall G. A rapid slide agglutination method for typing pneumococci by means of specific antibodies adsorbed to protein A-containing staphylococci. *J Med Microbiol* 1973;6(2):187-90.
2. Mandell G, Bennett J, Dolin R. Principles and practice of infectious diseases. 6th Ed. Churchill Livingstone; 2005.
3. Olcen P. Serological methods for rapid diagnosis of *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis* and *Streptococcus pneumoniae* in cerebrospinal fluid: A comparison of co-agglutination, Immunofluorescence and Immunoelectrosmophoresis. *Scand J Infect Dis* 1978;10:283-9.
4. Tompkins DS. Comparison of Phadebact coagglutination tests with counterimmunoelectrophoresis for the detection of bacterial antigens in cerebrospinal fluid. *J Clin Pathology* 1983;36:819-22; doi:10.1136/jcp.36.7.819.
5. Wasilavskas BL, Hampton KD. Determination of bacterial meningitis: A retrospective study of 80 cerebrospinal fluid specimens evaluated by four *in vitro* methods. *J Clin Microbiol* 1982 Sep; 16(3): 531-5.
6. Rotbart HA. Enterovirus meningitis in adults. *Clin Infect Dis* 1998;27:884-96.
7. Romero JR, Kimberlin DW. Molecular diagnosis of viral infections of the central nervous system. *Clin Lab Med* 2003;23:843-65.
8. Ramers C, Billman G, Hartin M, Ho S, Sawyer MH. Impact of a diagnostic cerebrospinal fluid enterovirus polymerase chain reaction test on patient management. *JAMA* 2000;283:2680-5.
9. Read SJ, Jeffery KJ, Bangham CR. Aseptic meningitis and encephalitis: The role of PCR in the diagnostic laboratory. *J Clin Microbiol* 1997;35(3):691-6.
10. Kupila L, Vuorinen T, Vainionpää R, Hukkanen V, Marttila RJ, Kotilainen P. Etiology of aseptic meningitis and encephalitis in an adult population. *Neurology* 2006;66:75-80.
11. Soler CH, Vergara F, Silva V. Detección de enterovirus mediante transcripción reversa y reacción de polimerasa en cadena en líquido cefalorraquídeo de niños con meningitis aséptica. *Rev Chil Infectol* 2001;3:175-81.
12. Ihekweba UK, Kudesia G, McKendrick MW. Clinical features of viral meningitis in adults: Significant differences in cerebrospinal fluid findings among herpes simplex virus, varicella zoster virus, and enterovirus infections. *Clin Infect Dis* 2008;47:783-9.
13. Sawyer M H, Holland D, Aintablian N. Diagnosis of enteroviral central nervous system infection by polymerase chain reaction during a large community outbreak. *Pediatr Infect Dis J* 1994;13:177-82.
14. Cuchacovich R. Clinical applications of the polymerase chain reaction: An update. *Infect Dis Clin North Am* 2006;20:735-58.
15. Dueger EL, Asturias EJ, Halsey NA, Guatemala Pediatric Bacterial Surveillance Working Group. Culture-and antigen-negative meningitis in Guatemalan children. *Rev Panam Salud Publica* 2008;24:248-55.
16. Soto-Hernández JL. Infecciones del sistema nervioso central. *Gac Med Mex* 2002;138(6):533-46.