

ESTUDIO VIROLOGICO DE CASOS MORTALES DE POLIOMIELITIS PARALITICA

II. Aislamiento de Poliovirus de Líquido Cefalorraquídeo (Post Mortem)

EDUARDO CÉLIZ G.² y NELLY NICHU N.³

INTRODUCCION

En 1907, Flexner y Lewis (10) buscaron la presencia de poliovirus en líquido cefalorraquídeo, pero sus resultados fueron negativos; sin embargo, los mismos investigadores en 1910 encontraron poliovirus en líquido cefalorraquídeo de monos, inoculados por varias rutas. Pero su presencia ha sido demostrada muy infrecuentemente. La mayoría de autores como Bejinov (1), Cooper (5), Chin (6), Diebel (7), Godenne (9), (10), Horstmann (11), Johnson (12), Neves (15), Smith (18), Voiculesco (19), Wilterdink (20), Wriqht (21), refirieron que estos

hallazgos son ocasionales y raros, y otros no aceptan su presencia en el líquido cefalorraquídeo.

Deseosos de conocer nuestras posibilidades de aislar poliovirus del líquido cefalorraquídeo sometimos a estudio muestras de 6 casos mortales de Poliomiélitis Paralítica ocurridos en el Hospital del Niño (Lima) y los resultados obtenidos los damos a conocer.

MATERIAL Y METODOS

Las muestras de líquido cefalorraquídeo fueron tomadas asépticamente por punción lumbar, en el menor tiempo posible después del fallecimiento. Eran colectadas en tubos estériles de 15 ml. con tapa de rosca, transportadas bajo refrigeración. Todas las muestras de líquido fueron cristal de roca, libres de hematíes.

Los líquidos cefalorraquídeos fueron inoculados directamente, sin recibir tratamiento alguno, ni antibióticos, (8), (9), (10), (12), (15), (16), (17), (18), (21), en la cantidad de 0.1 ml. por cada uno

¹ Trabajo realizado en el Laboratorio de Virología de la Cátedra de Bacteriología de la Facultad de Medicina de la U.N.M.S.M., siendo jefe del Laboratorio de Virología el Dr. Manuel Cuadra, a quien agradecemos su valiosa dirección.

² Ex-Jefe Instructor Dedicación Exclusiva de la Cátedra de Bacteriología de la Facultad de Medicina. U.N.M.S.M.

³ Biólogo de la Cátedra de Medicina Tropical. U.N.M.S.M.

de una serie de 4 tubos de cultivo de tejidos que mostraban una capa homogénea de células, los que previamente habían recibido 0.9 ml. de medio de mantenimiento de reciente preparación. Luego son incubados a 37°C y se efectuó las lecturas diarias. Cuando los primeros días son negativos, la incubación se prolonga 21 días, al final de los cuales, el fluido sobrenadante de los 4 tubos es hecho una mezcla y se inoculó de ésta, 0.1 ml. por cada uno de una nueva serie de 4 tubos de cultivo de tejidos, a los que previamente se les había cambiado el medio de crecimiento antiguo por 0.9 ml. de medio de mantenimiento de reciente preparación y se continúa el proceso como ya hemos indicado más arriba. Si continúa negativa, repetimos este proceso, mínimo tres veces y, en caso necesario, usamos otro tipo de células e incluso ratones blancos de diferentes edades. Se utilizó las cepas establecidas Hela, Av3, KB y cultivo primario de riñón humano; el crecimiento y mantenimiento se efectuó de acuerdo al método ya descrito, (2), (3), (4), (14). En cada inoculación que se efectuaba, se dejaba un tubo de cultivo de tejidos sin inocular, que servía como control.

Las cepas de virus aisladas se identificaron mediante el test de neutralización (2). Se usó suero antipoliomielítico preparado en el "Institut Serotherapique et Vaccinal" Suisse-Berne, que fue recibido en calidad de obsequio.

RESULTADOS

A) *Datos generales y resultados obtenidos.*

En el Cuadro 1, se resumen los datos más importantes de los pacientes: a)

Nombre, b) Edad, c) Procedencia, d) Diagnóstico clínico, e) Diagnóstico anatómo-patológico, f) Muestra tomada, L. C. R., post-mortem, g) Resultados obtenidos que son: en el caso 1, se aisló poliovirus tipo II; en el caso 3, poliovirus tipo III; en el caso 4, poliovirus tipo I y en los casos 2, 5 y 6, los resultados fueron negativos.

B) *Cuadro Comparativo.*

En el Cuadro 2, se han reunido los resultados de diferentes autores y los resultados alcanzados por nosotros en esta experiencia, que fue el 50% de éxitos en los aislamientos.

NOTA. En el caso 1, la muestra fue tomada el día 10-IV-66, siendo positiva en cultivo primario de riñón humano el 2-VII-66, ó sea a los 62 días de tomada la muestra. En el caso 3 fue tomada el día 14-VIII-66, siendo positiva el día 28-IX-66 o sea a los 65 días en cultivo primario de riñón humano. La muestra del caso 4, fue tomada el día 29-IX-66 y fue positiva en cultivo de células Hela, línea establecida, el día 28-II-67, o sea a los 120 días de tomada la muestra.

DISCUSION

Se efectuó el estudio virológico de 6 muestras de líquido cefalorraquídeo (Cuadro 1), todos post-mortem, habiéndose obtenido 3 positivas y 3 negativas, lo que da un 50% de éxitos. Esto comparado (Cuadro 2) con los resultados de otros autores nos ponen en ventaja pero es menester recalcar, que la cantidad de muestras por nosotros estudiadas es muy pequeña, lo cual nos obliga, a continuar estos estudios.

Creemos necesario como lo hacen otros investigadores, tratar de responder

Cuadro 1. Datos generales y resultados obtenidos

	Nomb.	Edad	Procedencia	Diagnóstico Clínico	Diagnóstico Anatómico- Patológico	Muestra Tomada. Líquido Cefalorraquídeo (post mortem)	Resultados	
							Virus	Tipo
1	D.C.R	1 a 24 d	Jesús María Cayatano Heredia. 438.	Polioencefalitis	No Hubo Diagnóstico. Definido	si	Polio	II
2	V.A	2 a 18 d	La Victoria Pisagua. 979 Interior. 3	Poliomielitis Forma Espinal Alta	Poliomielitis	si	Negativo	tivo
3	M.I.Z	10 m	Chimbote	Poliomielitis Cuadriplejia	No Hubo Diagnóstico. Definido	si	Polio	III
4	Y.A	2 a	Pamplona Manzana. F. Lote 29. Km. 13	Poliomielitis. Paraplejia Flacida	No Hubo Autopsia	si	Polio	I
5	R.T.A	1 a	Villa María Planeta	Poliomielitis Forma Espinal	Poliomielitis Bronconeumonía	si	Negativo	tivo
6	G.H	6 a 10 d.	Lima-Jirón Cuzco. 7534	Poliomielitis Paraplejia Flacida	Poliomielitis Bronconeumonía	si	Negativo	tivo

ciertas interrogaciones que se desprenden de estos aislamientos.

1. ¿Estuvo efectivamente el virus en el L.C.R. o fue introducido en la muestra por la punción lumbar, motivada por la contaminación fecal de la piel?. Creemos que no pudo ocurrir esta contaminación porque la punción lumbar se efectuó asépticamente.

2. ¿El resultado pudo haber sido contaminación en el laboratorio? Esta posibilidad quedó eliminada, porque en

dos los tubos de control siempre fueron negativos.

3. ¿Es posible que la aguja de punción lumbar, perforó la médula espinal y esto realmente contaminó la muestra de L.C.R.? No pudo ocurrir este accidente porque la punción fue efectuada entre la cuarta y quinta vértebras lumbares, y desde que el final de la médula espinal llega al borde de la primera vértebra lumbar en los adultos y un poco ligeramente más bajo en los niños, el margen de seguridad es considerable y, por lo

Cuadro 2. Cuadro comparativo

A u t o r e s	Exámenes Realizados	R e s u l t a d o s	
		Positivos	%
Chin (6)	27	1	3.7
Godenne (10)	140	1	0.71
Neves (15)	17	1	5.88
Smith (18)	25	3	12
Voicoulesco(19)	70	3	4.28
Wright (21)	306	8	2.61
Celiz y Nicho ₊	6	3	50

el caso 4, que no se realizó autopsia, efectuamos reaislamiento del virus polio Tipo I, de la muestra original y en los casos 1 y 3, creímos que no era necesario este reaislamiento, ya que fue aislada la misma cepa de poliovirus Tipo II y III respectivamente, de material de autopsia, previamente, de los mismos pacientes. To-

tanto, esta contaminación no pudo ocurrir.

Smith (18) sostiene como una posible explicación a la presencia del virus en el L.C.R., la propagación desde la sangre, donde se ha demostrado viremia.

El virus presente en el líquido cefalorraquídeo, podría haber llegado a) De

la sangre. b) De leucocitos de la sangre o de acumulaciones perivasculares en las meninges. c) Procedente del tejido nervioso central.

La posibilidad que el poliovirus pudo estar asociado con los leucocitos presentes en el L.C.R., procedentes desde los plexos coroides, de las acumulaciones perivasculares en las meninges, de los espacios de Virchow-Robins, o que el virus ganó acceso a los espacios subaracnoideos de los adyacentes del sistema nervioso central, no pueden ser descartados.

Godenne (10) hace notar que el líquido cefalorraquídeo positivo por ellos reportado, fue obtenido del paciente el séptimo día de evolución o sea en la fase mayor de la enfermedad, al tiempo que los anticuerpos neutralizantes estuvieron presentes al máximo título y cuando el virus no pudo ser aislado de la sangre de los pacientes. Smith (18) hace notar que el aislamiento fue también realizado después del brote de la fase neurológica de la enfermedad. Por muchos autores es señalada la gran facilidad como otros enterovirus (Coxsackie, ECHO), que no son los poliovirus, pueden ser aislados del L.C.R. La razón para esta diferencia en relación a los agentes de la familia de los enterovirus no es conocida.

Estos aislamientos de poliovirus del L.C.R., tienen importancia y su valor es diagnóstico. Hay investigadores como Kelen (13) que consideran que el aislamiento de un virus del L.C.R. tiene significado diagnóstico sin el soporte serológico.

CONCLUSIONES

En nuestro medio es posible realizar aislamiento de poliovirus de L.C.R.

2. Estos aislamientos tienen valor diagnóstico.

RESUMEN

Se sometió al estudio virológico 6 muestras de líquido cefalorraquídeo post-mortem, provenientes de 6 casos de Poliomielitis Paralítica ocurridos en el Hospital del Niño (Lima), habiéndose obtenido los siguientes resultados: En el caso 1, se aisló poliovirus Tipo II; en el caso 3, se aisló poliovirus Tipo III; en el caso 4, se aisló poliovirus Tipo I y los casos 2, 5 y 6 fueron negativos.

BIBLIOGRAFIA

1. Bojinov, S.; Kirov, Georgien; Mitov, M. K.; Ninov, N.; Savov, Z. et Kaneva. Encéphalo-Myélo-Polyradiculonévrites a la suite de L'utilisation de vaccin antipoliomyélitique de Sabin a germe vivant. La Presse Medicale. 72: 75-79, 1964.
2. Celiz, G. E.; Nicho, N. N. y Cuadra, M. Prevalencia relativa de los Poliovirus en la ciudad de Lima. Anales de la Facultad de Medicina de "San Fernando". Volumen 49. Número 3: 369-396, 1966.
3. Celiz, G. E. y Nicho, N. N. Estudio preliminar de las aguas servidas (Aguas de albañal, de mar, de piscina). Arch. Peruanos de Patología y Clínica. 11: 237-247, 1967.
4. Celiz, G. E. y Nicho, N. N. Cultivo primario de Riñón Humano. Arch. Peruanos de Patología y Clínica. Volumen XXII-Junio, 1969. (En prensa).
5. Cooper, M. R.; Lesiak, J. M.; Belbin, D. and Labzoffsky, N. A. Isolation of enteric viruses during the poliomyelitis season in Ontario 1956-1959. Canad. M. A. J. 84: 200-205, 1961.
6. Chin, T. D.; Marine, M. W. Hall, E. C.; Gravelle, C. R. and Spers, J. F. Poliomyelitis in Des Moines Iowa 1959. The influence of Salk vaccination on

- the virus in the community. *AM. J. Hyg.* 74: 67-94, 1961.
7. Deibel, R. and Macdonald, D. Serodifferentiation of type 3 poliovirus strains isolated 1960-1965 from patients and Healthy vaccines. Characterization of strains associated with disease in vaccination persons and Household contacts. *Amer. J. of Epidem.* 87: 396-410, 1968.
 8. Dubin, L. and Horstmann. The epidemiology of aseptic meningitis and related nonspecific disease in Connecticut, 1957: Virological and Clinical studies. *Yale. J. Biol. Med.* 30: 429, 1958.
 9. Godenne, M. O. and Riordan, J. T. Tissue culture diagnosis of Poliomyelitis and aseptic meningitis. *J.A.M.A.* 158: 707-712, 1955.
 10. Godenne, M. Isolation of type I poliomyelitis virus from human cerebrospinal fluid. *Pediatric.* 19: 869-875, 1957.
 11. Horstmann, D. M. Enterovirus infections of the central nervous system. (The present and future of Poliomyelitis. *Med. Clin. N. Amer.* 51: 681-692, 1967.
 12. Johnson, R.; Buescher, E. L.; Rogger, N.; Funkenbusch, M. and Olin, M. Epidemic central nervous system disease of mixed enterovirus etiology. *Am. J. Hyg.* 71: 331-341, 1960.
 13. Kelen, A. E.; Belbin, J. M. L. and Labzoffsky, N. A. Isolation of virus enteric in Ontario during 1960-1962. *Canad. Med. Ass.* 89: 921-6, 1963.
 14. Kopel, F. B.; Shore, B. and Hodes. Nonfatal bulbospinal paralysis due to Echo 4 virus. *Journal of Pediatrics* 67: 588-594, 1965.
 15. Neves Da Silva; Feklin, D.; Ruido Dos Santos, W. e Haas. Isolamento e tipagem de enterovirus de 72 casos de Poliomielite paralitica e 12 casos de meningite assética. *O. Hospital (Rio)* 68: 17-21, 1965.
 16. Rawls, W. E.; Shorter, R. C.; Herrmann. Fatal neonatal illness associated with Echo 9 (Coxsackie A-23) virus. *Pediatric.* 33: 278-279, 1964.
 17. Saslaw, S.; Wooley, Ch. F. and Anderson, G. Aseptic meningitis syndrome. *Arch. Inter. Med.* 105: 69-75, 1960.
 18. Smith, L. Isolation of poliovirus from spinal fluid. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine.* 59: 490-495, 1962.
 19. Voicoulesco, M. Problèmes de diagnostic de la Poliomyelite dans une population vaccinee. *Revue Medicale de Liege.* 20 (10): 281-287, 1965.
 20. Wilterdink, J. B.; Metselaar; Vander, K. E. and Verlinde, J. D. Poliomyelitis in Surinam. Report on one brote to type I in 1953 and their control with vaccine oral trivalente antipolio. *Trop. Geor. Med.* 16: 120-128, 1964.
 21. Wright, H. T. and Ward, R. Detection of poliovirus Tipo I in human cerebrospinal fluid. *The Journal of Pediatric.* 56: 489-494, 1965.

Se agradece: Al Dr. Guillermo Filomeno, jefe del Pabellón 7 del Hospital del Niño. Al Dr. Gerardo Boisset, jefe del Departamento de Anatomía Patológica del Hospital del Niño. Al "Institut Serotherapique et Vaccinal" Suisse-Berne, por su valiosa colaboración.