

Frecuencia de Agentes Virales en Niños con Afectación del Sistema Nervioso Central en el estado Zulia – Venezuela, durante el año 2007

Incidence of Viral Agents in Children with CNS Affectation in the State of Zulia, Venezuela, during 2007

**Bermúdez F., John E.¹; Levy G., Alegria C.²;
González C., Kelita¹; Espina G., Luz M.¹;
Hernández J., José R.¹; Porto de E., Leticia D.³;
Valero C., Nereida J.¹**

¹Sección de Virología, Instituto de Investigaciones Clínicas “Dr. Américo Negrette”. ²Cátedra de Embriología, Departamento de Morfofisiopatología, Escuela de Bioanálisis. ³Laboratorio Regional de Referencia Viroológica. Facultad de Medicina, Universidad de Zulia. Maracaibo, estado Zulia, Venezuela.
E-mail: nere98@hotmail.com.

Resumen

Introducción: Diversos virus afectan el sistema nervioso central (SNC) ocasionando encefalitis, principalmente en la edad pediátrica. **Objetivo:** Determinar la implicación de agentes virales en infecciones del sistema nervioso central (SNC) en niños del estado Zulia, Venezuela durante el año 2007. **Población y Métodos:** Se recolectaron 109 muestras de líquido cefalorraquídeo (LCR) y suero, provenientes de pacientes entre 1 día de nacido a 14 años, que presentaron sintomatología clínica sugestiva de afectación del SNC y cuyo estudio bacteriológico convencional de LCR resultó negativo. Se determinó la relación albúmina LCR/suero a fin de descartar contaminación, resultando 24 pares óptimos para la determinación por la técnica de ELISA de anticuerpos IgM específicos para los virus Herpes Simple (VHS), Epstein Barr (VEB), Dengue, Rubéola, Sarampión y Encefalitis Equina Venezolana (EEV). **Resultados:** De los 24 casos analizados, 15 (62,5%) resultaron positivos. Los agentes causantes de encefalitis fueron: 11 casos de Dengue (45,8%) ($p < 0,05$), 3 de VHS (12,5%) y un caso de VEB (4,2%). No se detectaron casos de Rubéola, Sarampión, ni EEV. La pleocitosis con predominio de linfocitos fue el hallazgo más frecuente en los casos con encefali-

tis viral (EV) confirmada, sin diferencias significativas al relacionarlo con el agente viral infectante. **Conclusiones:** Se evidencia que una proporción significativa de los niños con encefalitis es debida a agentes virales y se destaca un incremento en los casos de dengue con afectación del SNC en la región.

Palabras clave: Dengue, Encefalitis, LCR, Sarampión, VHS.

Abstract

Introduction: Various viruses affect the central nervous system (CNS) causing encephalitis, mainly in pediatric patients. **Objective:** To determine the involvement of viral agents for central nervous system (CNS) infections in children in the State of Zulia, Venezuela during the year 2007. **Patients and Methods:** 109 samples of cerebrospinal fluid (CSF) and serum were collected from patients between 1 day and 14 years of age, who presented clinical symptoms suggestive of CNS involvement and whose conventional CSF bacteriological study proved negative. The CSF Albumin /serum relationship was determined in order to rule out contamination, resulting in 24 optimal pairs for determining the IgM and IgG antibodies specific for herpes simplex virus (HSV), Epstein Barr (EBV), Dengue fever, rubella, measles and Venezuelan Equine Encephalitis (VEE) using the ELISA technique. **Results:** Of the 24 cases examined, 15 (62.5%) were positive. The causative agents for encephalitis were 11 cases of Dengue (45.8%) ($p < 0.05$), 3 VHS (12.5%) and 1 case of EBV (4.2%). There were no cases of rubella, measles or VEE. Pleocytosis with lymphocyte predominance was the most common finding in cases with confirmed viral encephalitis (VE), without significant differences related to the infecting viral agent. **Conclusions:** Results show that a significant proportion of encephalitis in children is due to viral agents, highlighting an increase in dengue cases with CNS affection in the region.

Key words: CSF, dengue, encephalitis, measles, VHS.

Introducción

Las afecciones del sistema nervioso central (SNC) son diversas; constantemente, están implicados agentes infecciosos, siendo más frecuentes los virus que aquellas causadas por bacterias, hongos, y parásitos, las cuales constituyen un importante problema de salud pública (1-3). La meningitis aséptica al igual que la encefalitis, es la causa más común de afectación del SNC, sin discriminación de edad, sexo o raza (4-6).

El diagnóstico clínico de encefalitis y meningitis viral está basado en signos y síntomas como: fiebre súbita, cefalea intensa y rigidez de nuca; convulsiones, estupor, coma, y signos neurológicos relacionados. En los

casos más graves, los síntomas neurológicos pueden ser náuseas, vómitos y convulsiones, confusión y desorientación, somnolencia, fotofobia y pérdida del apetito (5, 7).

La incidencia de estas infecciones en una población determinada obedece a diversos factores, sobre todo en la infancia, donde la frecuencia de los diferentes agentes es variable, la ubicación geográfica (especialmente para los transmitidos por artrópodos), el estado de vacunación de la población, periodo de estudio, criterios de inclusión y tipo de técnicas y métodos de diagnóstico utilizados (1, 8). Además se considera, que la actividad humana, el cambio climático y factores propios del hospedador y de los vectores podrían contribuir en la propagación de los *Flavivirus* (9, 10).

Los virus neurotrópicos comprometen al SNC por infección aguda o crónica de las células nerviosas o meníngeas (Encefalitis y Meningitis, respectivamente) o desencadenando una respuesta autoinmunitaria hacia los antígenos de la mielina o de los oligodendrocitos, determinando una enfermedad desmielinizante monofásica (encefalomielitis aguda diseminada, síndrome de Guillain-Barré) (10,11).

En Venezuela, para el año 2006 se encontró un 34,4% de positividad para distintos agentes infecciosos en pacientes con diagnóstico clínico de meningoencefalitis (12). Mientras que en el estado Zulia, se reportó una alta incidencia de infecciones virales del SNC en trastornos neurológicos de causa inespecífica, al resultar positivos el 61,1% de los pacientes evaluados, estableciendo como principal agente implicado el Virus de Encefalitis Equina Venezolana (EEV), con un 42,42% seguido del Virus de Herpes simple (VHS) con un 33,33%, Virus Epstein-Barr (VEB) en un 15,15% y el Virus Dengue con un 9,09% (13,14).

A pesar de la magnitud de las epidemias por virus en diversos países de América, pocos son los casos descritos sobre complicaciones neurológicas asociadas; sin embargo, se ha reportado que donde el virus se encuentre en carácter endemoepidémico y donde se presuma circulación simultánea de varios serotipos virales, hay que considerarlo como agente causante de trastornos neurológicos (15).

El control de las infecciones virales del SNC, es una labor complicada debido a las consecuencias perjudiciales potenciales de la respuesta inmunitaria en este sitio. Debido a esto, este sistema presenta mecanismos para el control y la regulación del desarrollo de procesos inflamatorios locales que incluyen la Barrera Hemato-Encefálica (BHE), con li-

mitada capacidad para la presentación de antígenos y modulación funcional de reacciones inmunitarias por los gangliósidos y astrocitos (16).

Estudios experimentales y clínicos han demostrado la presencia de ARN viral e IgM intratecal en LCR en pacientes con encefalopatía indicando infección localizada, mientras que otros señalan que la ausencia de síntesis de anticuerpos en LCR puede deberse a características antigénicas modificadas del virus (17,18). Sin embargo, la demostración de un incremento relativo de los niveles de anticuerpos específicos contra el virus es usado en el diagnóstico de infección viral en el SNC (19).

Debido a lo antes planteado y tomando en consideración que las infecciones virales del SNC constituyen una emergencia médica, se consideró importante determinar la frecuencia de agentes virales en niños con afectación del SNC en Maracaibo, estado Zulia – Venezuela, durante el año 2007.

Pacientes y Métodos

Lugar y fecha de la realización del estudio: Se evaluaron niños provenientes de diversas instituciones de salud del estado Zulia (Hospital Chiquinquirá, Hospital de Niños, Hospital de Especialidades Pediátricas y La Maternidad “Dr. Armando Castillo Plaza” de la Ciudad de Maracaibo) utilizando como coordinador la Sección de Virología del Instituto de Investigaciones Clínicas “Dr. Américo Negrette”, durante el periodo de Enero a Diciembre del año 2007.

Diseño: Se evaluaron 109 niños en un rango de edad de 1 día de nacido a 14 años, con diagnóstico presuntivo de infección del SNC y previa autorización por escrito de los padres, representantes o responsables del niño. De éstos, se seleccionaron pacientes

que presentaban criterios clínicos sugestivos en alto grado de encefalitis de origen infeccioso, como fiebre, alteración del estado de la conciencia, disfunción cerebral difusa o local, signos de irritación meníngea, convulsiones locales o generalizadas y signos neuro-psiquiátricos; acompañado o no de leucocitosis y pleocitosis (Leucocitos en LCR mayor de 5×10^3) en quienes se descartaron patologías previas como isquemia, anoxia, alteraciones metabólicas, deficiencias nutricionales, presencia de tóxicos, enfermedades severas, hipertensión, traumatismo cerebral y epilepsia (20). Otros criterios de inclusión fueron: Índice de albúmina LCR/Suero menor de 0,0075 (21), estudios bacteriológicos convencionales de LCR y sangre negativos, pruebas de coagulación de antígenos en LCR negativos, VDRL en LCR y suero No Reactivo y serología para Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) negativa.

A cada paciente se le llenó una ficha para investigación de agentes neurotrópicos primarios y secundarios. Los pacientes se clasificaron según Quintero (22) en los siguientes grupos de edades: Periodo neonatal precoz (0-7 días de nacido), Periodo neonatal tardío (8-28 días de nacido); Lactante menor (desde 1 mes hasta los 11 meses y 29 días); Lactante Mayor (12 meses hasta los 23 meses con 29 días); Preescolar, (2 años hasta 6 años con 11 meses) y Escolar (7 hasta los 14 años).

Se le tomaron aproximadamente 3 ml de sangre venosa en tubos sin anticoagulante para la obtención del suero. La muestra de LCR (aproximadamente 1 ml) fue tomada por punción lumbar realizada por el médico especialista adscrito a los centros de salud participantes. Las muestras de sangre venosa fueron centrifugadas, separadas para la obtención de suero y posteriormente fue dividida, al igual que el LCR, en dos alícuotas las

cuales fueron guardadas a -70°C hasta su procesamiento.

La relación Albúmina LCR/ albúmina suero se determinó cuantitativamente por método espectrofotométrico, con la finalidad de descartar contaminación sanguínea del LCR. Para cuantificar la albúmina sérica, se empleó el protocolo de trabajo descrito por Doumas *et al.*, 1971 (23). Luego se calculó la relación Albúmina LCR/Albúmina suero, tomando como valor aceptable menor de 0,0075, según lo establecido por Tibbling *et al.* (21).

La detección de anticuerpos IgM en LCR y suero contra los virus Dengue (Diagnostic Automation, Inc., California, USA), Sarampión (Bioline., Kyonggido, South Korea), Epstein-Barr, Rubéola y VHS (SmarTest Diagnostics, London, United Kingdom) se realizaron por la técnica de ELISA de captura de fase sólida. Por esta misma técnica se determinó IgM específica contra el Virus de EEV, según el protocolo de trabajo de Rosato *et al.* (24).

Consideraciones éticas: Los procedimientos empleados respetaron los criterios éticos del comité responsable de experimentación humana (Comité Internacional de Directores de Revistas Médicas) y la Declaración de Helsinki de 1975, enmendada en 1983, y fueron sometidos a las consideraciones del Comité de Ética del Instituto de Investigaciones Clínicas "Dr. Américo Negrette".

Análisis estadístico: Los datos obtenidos fueron ordenados y analizados estadísticamente mediante el programa Graph Pad Prism 5.0. Se aplicaron determinaciones de estadística descriptiva (media, aritmética, desviación estándar, porcentajes, entre otros) y como pruebas de asociación se utilizó Ji cuadrado, con un límite de significancia de $p < 0,05$.

Resultados

Se evaluaron 109 pacientes con sospecha de infección del SNC, de estos se seleccionaron 33 casos (30,3%) con diagnóstico clínico de encefalitis viral según los criterios de inclusión establecidos, pero por razones particulares de los individuos involucrados sólo se pudo obtener cantidad apropiada de muestra en 24 casos (22,0%).

Desde el punto de vista etiológico, en 15 (62,5%) pacientes con encefalitis/meningitis se determinó que la causa del trastorno neurológico era de origen viral por cumplir con los criterios de inclusión y 9 (37,5%) se clasificaron como encefalitis/meningitis inespecífica de probable etiología viral (EPEV), los cuales fueron casos que cumplieron con todos los criterios de inclusión pero que no resultaron positivos para los agentes virales estudiados. En relación a la positividad para IgM a los agentes virales, se confirmaron 11 casos de Dengue (45,8%; $p < 0,001$), en relación a la infección por VHS (3/12,5%) y VEB (1/4,2%). No hubo casos de rubéola, sarampión, ni EEV (Tabla 1).

Para el diagnóstico confirmatorio de Dengue se obtuvo que al determinar la presencia de IgM anti-Dengue en los 24 pares de muestras analizadas (LCR/suero), 3 (12,5%) resultaron positivas en LCR y 8 (33,3%) en suero. Resultando con respecto a la serología para VHS, 2 casos (8,3%) presentaron IgM positiva en LCR y 1 (4,2%) en suero y VEB 1 caso (4,2%) en suero. Con la finalidad de corroborar la infección viral en estos pacientes, en los casos cuyo LCR arrojó un resultado negativo para IgM fueron determinados anticuerpos IgG tanto en el suero como en el LCR de los pacientes, hallándose 100% de positividad para los agentes encontrados en todos los casos (datos no mostrados).

Tabla 1. Distribución de pacientes con infección viral según diagnóstico etiológico.

Agente Causal	Encefalitis/Meningitis n (%)
Dengue	11 (45,83)*
VHS	3 (12,5)
VEB	1 (4,2)
EPEV	9 (37,5)*
Total	24 (100)

* $p < 0,001$ con respecto a VHS y VEB
EPEV: Encefalitis de Probable Etiología Viral.

La distribución por grupos etarios de la población analizada con encefalitis viral confirmada (n:15) correspondió a 100% (3/3) pacientes en edad neonatal del sexo masculino; 55,6% (5/9) lactantes para el sexo femenino y 44,4% (4/9) para el masculino; 2 pre-escolares (50,0%) (1 de cada sexo) y 1 escolar (100,0%) del sexo femenino, sin diferencias significativas entre los grupos estudiados (Tabla 2).

En cuanto a los signos presentados, se evidenció que la fiebre, irritabilidad e hipereflexia fueron los signos más frecuentemente observados. Es importante destacar que el grupo con encefalitis viral (EV) confirmada presentó mayor porcentaje de convulsiones, secuelas neurológicas y signos de hi-

Tabla 2. Distribución por edad y sexo de pacientes con infección viral confirmada.

Grupo Etario	Sexo	
	F (%)	M (%)
Neonatal	0	3 (100)
Lactante	5 (55,6)	4 (44,4)
Pre-escolar	1 (50,0)	1 (50,0)
Escolar	1 (100)	0
Total	7 (46,7)	8 (53,3)

pertensión arterial endocraneana. Sin embargo, sólo hubo diferencia significativa ($p < 0,01$) entre los pacientes con EPEV y EV en cuanto a la presencia de insuficiencia respiratoria en el último grupo (Tabla 3).

Los hallazgos citocúimicos mostraron pleocitosis con predominio de linfocitos encontrándose en 2/11 casos de dengue (18,18%) ($p < 0,05$), respecto a VHS y VEB y a diferencia de la relación glucosa/LCR, los demás parámetros estaban dentro de límites considerados normales (25) (Resultados no tabulados).

Discusión

Este trabajo muestra evidencias que una proporción significativa (62,5%) de los niños cursan con procesos infecciosos del SNC de etiología viral, hecho que concuerda con los hallazgos obtenidos anteriormente en esta región geográfica, donde se observó un porcentaje similar (61,11%) de infección viral del SNC en niños y adultos para el año 2001 (14).

El mayor porcentaje de los casos fue producido por el virus Dengue (45,83%). Es-

tudios previos han demostrado que los arbovirus ocupan el primer lugar como causante de encefalitis en las regiones geográficas en las que existe actividad viral continua (26). Este alto porcentaje se debe probablemente a que este virus en la actualidad es un agente hiperendémico en la región; donde se reportaron 19.380 casos confirmados de Dengue en el estado Zulia, según el Boletín Epidemiológico del Ministerio del Poder Popular para la Salud (MPPS) del año 2007 (27), lo cual destaca un incremento en los casos de dengue con afectación del SNC en la región. Aunado a esto, se consideran las condiciones climáticas de esta región tropical. Todos los pacientes presentaban infección primaria, pero en dos de estos casos, se cree que hubo transferencia de anticuerpos maternos, lo que pudo potenciar la respuesta inmunitaria anormal que se observa en los pacientes que evolucionan a un cuadro grave de dengue o que presentan complicaciones, como lo describe un estudio similar realizado por Cam *et al.* en el 2001 (17).

Tabla 3. Signos Neurológicos en pacientes con encefalitis.

Signos	Encefalitis Viral		EPEV	
	n=15	%	n=9	%
Fiebre	11	73,3	6	66,7
Alteración de la conciencia	7	46,7	1	11,1
Irritabilidad	6	40,0	4	44,4
Vómitos	6	40,0	0	0,0
Hiperreflexia	5	33,3	4	44,4
Convulsión	5	33,3	1	11,1
Insuficiencia Respiratoria	1	6,7	5*	55,6
Hipertonía	2	13,3	4	44,4
Ataxia	1	6,7	0	0,0
Signos de Hipertensión Endocraneal	2	13,3	0	0,0

* $p < 0,01$ con respecto a EV.

La encefalitis por VHS, cuya frecuencia fue de 12,5%, ocupó el segundo lugar de incidencia. Similar a lo reportado en otros países como EE.UU. (12%), Eslovenia (10%), India (15%) y en el Reino Unido (11%) (1, 6, 24, 25). Se observó un descenso de esta frecuencia comparado con lo reportado en el 2001 (14), donde se describe un 33,3% de afectación de VHS en la misma zona. Este hallazgo pudiera sugerir que se han mejorado las medidas de prevención primaria en el control prenatal y en la transmisión sexual de enfermedades infecciosas, debido a que en ese estudio, el 29,2% ocurrió en neonatos. No obstante, un caso de los confirmados del presente estudio es compatible con una infección perinatal.

De igual manera, se analizaron los virus de Rubéola y Sarampión dado a que trabajos similares realizados en Norteamérica reportaron casos de encefalitis por ambos virus (4,26). Sin embargo, en el presente estudio no se observó positividad a estos agentes, lo que puede ser explicado por la implementación de la vacuna trivalente viral (Rubéola, Sarampión y Parotiditis) en las campañas realizadas en el estado Zulia motivado por la epidemia de Sarampión ocurrida en el 2002 (28).

No se reportaron casos de EEV a diferencia de lo reportado en el 2001 (14), debido a que en ese estudio algunas de las muestras fueron tomadas durante la última epidemia de EEV ocurrida en el año 1995 en el estado Zulia. Es importante mencionar que el único caso con antecedente epidemiológico compatible con EEV, resultó negativo.

El 37,5% de los pacientes analizados resultaron negativos al estudio en LCR/Suero, pero cumplieron con los criterios descritos para EV, clasificándose como EPEV. Se pudiese asumir que estos pacientes sufrieron una infección de alguna otra etiología viral diferente a los agentes investigados, tales

como enterovirus que en otros países se le atribuye una prevalencia elevada (20, 29-31); o por otros virus de alta circulación en la región.

Es de hacer notar que la distribución de la positividad y afectación por los agentes encontrados fue homogénea en la población analizada dado que no se encontraron diferencias en cuanto a edad y sexo, no obstante fue similar a lo reportado por otros autores a nivel mundial (2, 3, 6, 14).

Tanto en individuos sanos como enfermos, las inmunoglobulinas son sintetizadas extravascularmente y cuando ocurre daño en la Barrera Hematoencefálica (BHE) estas difunden al LCR. Sin embargo, se ha sugerido una producción local. En esta investigación, se detectaron anticuerpos IgM en LCR en el 20,8% de los casos de infección viral confirmada, correspondiendo el 12,5% a casos de encefalitis por Dengue, similar a lo reportado por otros investigadores (26). Se debe recordar que la dinámica de la respuesta inmunitaria que se observa en la sangre no se cumple en LCR y en la fase aguda no existe la típica respuesta de IgM con posterior síntesis de IgG. Según Dorta-Contreras, los patrones de síntesis que se observan en LCR dependen del agente biológico, de la edad del paciente y de si la punción lumbar se realiza en los primeros momentos junto al diagnóstico o se trata de una punción evolutiva (18).

En esta investigación se determinó una producción intratecal de IgM anti-Dengue, lo que constituye un hallazgo sugestivo de replicación viral en el SNC. Estudios similares demostraron la presencia de anticuerpos IgM intratecales, verificando que los títulos medidos en LCR no se debieron a pérdida o contaminación de anticuerpos IgM sistémicos, a través de la determinación individual de títulos de anticuerpos es-

pecíficos para poliovirus en LCR en contra de los títulos correspondientes en la muestra de suero recolectadas al mismo tiempo, por lo que representan una respuesta inmunitaria local regulada independientemente y no una disfunción de la BHE (19). El otro 20% correspondió a IgM anti VHS y VEB; se ha sugerido que en infecciones agudas la presencia de síntesis intratecal de anticuerpos contra el Virus Herpes Zoster, VHS o su combinación es relevante desde el punto de vista diagnóstico (32).

Por otro lado, a pesar que la evaluación del LCR es fundamental en los procesos infecciosos del SNC, no se demostró alteración de los parámetros citoquímicos en LCR que pudieran indicar trastornos de origen viral, sin embargo, un hallazgo destacable constituye la pleocitosis observada en los pacientes con EV a expensas de los virus Dengue y *Herpesviridae*. Estudios similares reflejan que el LCR muestra hallazgos inespecíficos, sin embargo, la pleocitosis se encuentra casi siempre presente, los polimorfonucleares pueden predominar tempranamente (33), dando paso a un perfil linfocitario dentro de 8 a 48 horas. Además, aunque infrecuente, puede presentarse una leve hipogluorraquia y poco aumento de proteínas (34, 35). En esta investigación solo se encontró pleocitosis pudiendo indicar que las anormalidades del LCR pocas veces se correlacionan con la severidad clínica o histológica, aún cuando existe descripción de aumento en el recuento de células y de proteínas (1). En la encefalitis viral, típicamente se observa una pleocitosis linfocítica con glucorraquia normal y proteínas dentro de límites normales o poco elevados. El perfil del LCR de la meningitis aséptica es indistinguible de la encefalitis viral, además, se ha señalado que una pleocitosis está presente en más del

95% de los casos (20). Un pequeño porcentaje de pacientes (aproximadamente 3-5%) con infección viral severa del SNC (que incluyen a la encefalitis por VHS), puede tener el LCR totalmente normal (33). La pleocitosis es un hallazgo importante que puede ayudar en el diagnóstico, sin embargo, no se demostraron alteraciones de los parámetros citoquímicos en LCR que pudieran indicar trastornos de origen viral.

Conclusión

Los virus resultaron patógenos frecuentes en niños con meningitis aséptica o encefalitis en la región, dado que el 62,5% de los pacientes seleccionados con criterio clínico de encefalitis/meningitis infecciosa resultaron casos confirmados de etiología viral. Tres de cada cinco pacientes de la población analizada resultaron seropositivos para Dengue y VHS, por tanto, hay que considerar a los virus como agentes causantes de trastornos neurológicos, principalmente en dengue, donde se demostró un alto porcentaje de complicaciones neurológicas. Se recomienda el estudio del 37,5% de los casos de EPEV con el fin de conocer el agente etiológico implicado. Finalmente, se evidencia la importancia de incluir el diagnóstico viral dentro del diferencial en los casos sospechosos de infección del SNC, para así poder dilucidar el agente implicado en estas enfermedades, recibir tratamiento oportuno y un manejo adecuado de los casos.

Agradecimientos

Agradecemos al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia (CONDES) y al Fondo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (FONACIT-2002000407), por el financiamiento otorgado.

Referencias Bibliográficas

- (1) Arroyo H, Bologna A. Encefalitis Viral. *Rev. Neurol* 1997; 25:912-919.
- (2) Mendoza L, De Moraes Bronzoni R, Massaiti Takayanagui O, Aquino V, Morales Figueiredo L. Viral infections of the central nervous system in Brazil. *Journal of Infection* 2007; 54: 589-596.
- (3) Romero JR, Newland JG. Viral meningitis and encephalitis: traditional and emerging viral agents. *Semin Pediatr Infect Dis* 2003; 14(2):72-82.
- (4) Davidson KL, Crowcroft NS, Ransay ME, Brown D, Andrew NJ. Viral Encephalitis in England 1989-1998: What did we miss? *Emerg Infect Dis* 2003; 19(2): 02-0218.
- (5) Parasurama T, Deverka P, Toscani M. Estimating the Economic Impact of Viral Meningitis in the United States. *Infect Med* 2000; 17(16):417-427.
- (6) Kimberly D. Herpes Simplex Virus, Meningitis and Encephalitis in Neonates. *Herpes* 2004; 11 Suppl 2:65A-76A.
- (7) National Institute of Neurological Disorders and Stroke. "Meningitis y Encefalitis", NINDS. Bethesda, Febrero 2007.
- (8) Venturi G, Martelli P, Mazzolini E, Fiorentini C, Benedetti E, Todone D, et al. Humoral immunity in natural infection by tick-borne encephalitis virus. *J Med virol* 2009; 81(4): 665-71.
- (9) Sang RC, Dunster LM. La actividad humana y el cambio climático podrían ayudar a la propagación de flavivirus. *The Lancet*; 2008, 371:500-509.
- (10) Sessions OM, Barrows NJ, Souza-Neto JA, Robinson TJ, Hershey CL, Rodgers MA, et al. Discovery of insect and human dengue virus host factors. *Nature* 2009; 458 (7241): 1047-50.
- (11) Rosete E, Mejía L, Morayta A, Gómez C, Gómez F. Encefalitis viral. *Revista de enfermedades infecciosas en pediatría* 2005; 19(74):43-51.
- (12) Zambrano Y, Chiarello A, Soca A, Villalobos I, Marrero M, Soler M, et al. Utilización de la Reacción en Cadena de la Polimerasa para el diagnóstico de infecciones del Sistema Nervioso Central. *Invest. Clin* 2006; 47(4):41-56.
- (13) Valero N, Añez F, Ryder S, Teruel E. Venezuelan Equine Encephalomyelitis a Dengue Outbreak in Northwestern Region of Venezuela. *Am J. trop. Med. Hyg* 1996; 55:203.
- (14) Valero N, Henriquez R, Hernandez C, Pineda O, Romero M., Urdaneta F, et al. Agentes Virales en Pacientes con Procesos Infecciosos del Sistema Nervioso Central. *Invest. Clin* 2001; 42: 255-267.
- (15) Cuhha-Mata A, Soares-Moreno S, Cardozo A, Aquilera V, Carod-Artal. Complicaciones Neurológicas de Infección por Virus Dengue. *Rev. Neurol* 2004; 39:233.
- (16) Griffin D. Cytokines in the Brain during Viral Infection Clues to HIV Associated Dementia. *J. Clin. Invest* 1997; 100:2948-2551.
- (17) Cam B, Fonsmark L, Hue N, Phuong N, Poulsen A, Heegaard D. Prospective Case Control Study of Encephalopathy in Children with Dengue Hemorrhagic Fever. *Am. J. Trop* 2001; 65:848-851.
- (18) Dorta-Contreras A, Reiber H, Lewczuk P, Noris-García E, Escobar-Pérez X, Buciofiú-Fanego R, et al. Patrones de síntesis de Inmunoglobulinas en pacientes pediátricos con meningoencefalitis por Coxsackie A 9 durante la epidemia de neuropatía en Cuba. *Rev Neurol* 2000; 30(8):716-718.
- (19) Rovainen M, Agboatwalla M, Stenvick M, Rysä T, Akram D. S, Hovi T. Intratecal Immune Response and Virus-Specific Immunoglobulin M Antibodies in Laboratory Diagnosis of Acute Poliomyelitis. *J. Clin Microbiology* 1993; 9:(3): 2427-2432.
- (20) Chadhuri A, Kennedy P. Diagnosis and Treatment of Viral Encephalitis *Post-Graduate Medical Journal* 2002; 78:575-583.
- (21) Tibbling G. Principle of Albumin and IgG Analysis in Neurological Disorders Establishment of reference values. *Scan J. Clin. Invest* 1977; 37:385-390.
- (22) Quintero R. Puericultura Atención Primaria en la Salud Infanto-juvenil. Ediluz 1ª; 2001. Edición Capítulo 1:(9).
- (23) Doumas B, Watson W, Biggs HG. Albumin standards and the Measurement of Serum

- albumin with Bromocresol Green. *Clin Chem Acta* 31 1971; 87-96.
- (24) Rosato R, Macasaet F, Jahrling P. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Detection of immunoglobulins G and M to Venezuelan Equine Encephalomyelitis virus in vaccinated and naturally infected Humans, J. Clin Microbiology 1998; 26: 421-425.
- (25) Jacobs R. General problems in viral Infectious Diseases. En Current 2000 Medical diagnoses and Treatment. Editado por Tierne L, McPhee S, Papadikis M. 39th Edition. McGrawill. 2000; 1249.
- (26) Solomon T, Dung N, Vaughn D, Kneen R, Thu L, Raengsakulrach B, et al. Neurological manifestations of dengue infection. *The Lancet* 2000; 355:1053-59.
- (27) Ministerio del Poder Popular para la Salud. Acumulado del Año en el estado Zulia. 2007.
- (28) González, I. 2009 Ministerio de salud fortalece apoyo a las regiones contra el sarampión. [Http://www.mpps.gob.ve/ms/modules.php?name=News&file=article&sid=858](http://www.mpps.gob.ve/ms/modules.php?name=News&file=article&sid=858). [consultado 20.06.2009].
- (29) Martins L, Contente ML, Alves L, Fonseca C, Araujo L, Santana M, et al. Investigation of Enterovirus in Cases of Aseptic Meningitis Syndrome of Belém, PA. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop* 2005; 38(5):391-395.
- (30) Sarmiento L, Mas P, Goyenechea A, Palomera R, Morier L, Capó V. First Epidemic of Echovirus 16 Meningitis in Cuba. *Emerg Infect Dis* 2001; 7(5):887-889.
- (31) Cheshier R, Tu E, Glaser C, Bryant K, Arnold K, Brenner E, et al. Outbreaks of Aseptic Meningitis Associated with Echovirus 9 and 30 and Preliminary Surveillance Reports on Enterovirus- Activity – United States, 2003. *Report Weekly morbidity & Mortality* 2003; 52(32); 761-764.
- (32) Dorta-Contreras A. Respuesta inmune poliespecífica en el sistema nervioso central. Empleo del índice de anticuerpos. *Rev Neurol* 2000; 31(11):1070-1073.
- (33) Palencia R. Neuropediatría Meningitis Purulentas y Encefalitis Víricas. Protocolo Diagnóstico y Terapéutico. *Bol Pediatr* 2000; 40:115-126.
- (34) Nigrovic L. What's new with enteroviral infections? *Curr Op Pediatr* 2001; 13:89-94.
- (35) Jaha LE, Sila CA, Lederman RJ, Prayson RA, Isada CM, Gordon SM. West Nile Virus infection: a new acute paralytic illness. *Neurology* 2003; 61:55-9.