

## **Incidencia del virus *Herpes simplex* en pacientes con infecciones agudas del sistema nervioso central**

*Incidence of Herpes simplex Virus Infection in Patients with Acute Central Nervous System Infections*

**Pérez S., Kriss<sup>1</sup>; Porto-Espinoza, Leticia<sup>1\*</sup>;  
Mindiola, Raimy<sup>1</sup>; Callejas M., Diana<sup>1</sup>;  
Estévez, Jesús<sup>2</sup> y Moronta, Reyna<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Laboratorio Regional de Referencia Viroológica.

<sup>2</sup>Instituto de Investigaciones Clínicas, Facultad de Medicina.

<sup>3</sup>Cátedra Biología Celular y Genética, Departamento de Biología, Facultad de Humanidades y Educación, Universidad del Zulia.

\*Telf: 0261-7597273; 0416-8632862. Fax: 0261-7597231; 7313990  
letiporto@yahoo.com

### **Resumen**

Los Virus Herpes Simple son responsables de una variedad de infecciones a nivel de mucosas bucal y genital, son neurotrópicos, capaces de alojarse en células nerviosas y permanecer latentes con subsecuentes reactivaciones, en algunos casos pueden provocar meningitis y encefalitis. tienen una morbilidad significativa y una mortalidad elevada. El presente estudio tiene como objetivo determinar la incidencia de VHS en la etiología de los síndromes agudos del SNC mediante la detección en suero y LCR de anticuerpos específicos. Se estudiaron 93 muestras pareadas de pacientes con afecciones neurológicas que mostraron resultados negativos en el estudio bacteriológico de LCR y cuya relación Alb-LCR/Alb-suero fue  $<0,0075$ . Los anticuerpos fueron detectados por el método de inmunoensayo enzimático Elisa: Enzygnost<sup>®</sup> anti virus VHS/IgM-IgG (Behring, 1994), donde 1,2% (1/93) de las muestras de suero resultaron positivas para IgM; 89,24% (83/93) de los sueros resultaron positivos para IgG; y 27,39% (20/93) de las muestras de LCR presentaron anti-IgG positivo. La presencia de IgG en LCR sugiere la producción intratecal de estos anticuerpos en el SNC, lo que muestra una participación importante de este agente viral en las infecciones y enfermedades asociadas al SNC.

**Palabras clave:** Herpesvirus, meningitis, encefalitis, líquido cefalorraquídeo (lcr), suero, anticuerpos.

## Abstract

Herpes simplex viruses are agents responsible for a variety of infections on buccal and genital mucosa; they are neurotropic, capable of lodging in the nerve cells and remaining latent with subsequent reactivations; in some cases, they can provoke meningitis and encephalitis; and they have a significant morbidity and are associated with a high mortality. The present project aims to determine HSV's effect on the etiology of acute central nervous system (CNS) syndromes using the detection of specific antibodies in serum and cerebrospinal fluid. The 93 paired samples from patients with neurological affectations studied demonstrated negative results in the LCR bacteriological study and their Alb-LCR/Alb-serum relation was  $< 0.0075$ . Antibodies were detected by the enzymatic immunoassay ELISA method, where 1.2% (1/93) of the serum samples turned out positive for IgM; 89.24% (83/93) of the serum samples resulted positive for IgG; and 27.39% (20/93) of LCR samples were positive for anti-IgG. IgG presence in LCR suggested the intrathecal production of these antibodies inside the CNS, which demonstrates a significant participation by this viral agent in infections and diseases associated with the CNS.

**Key words:** Herpes viruses, meningitis, encephalitis, cerebrospinal fluid, antibodies.

## Introducción

La infección por virus herpes simplex (VHS) se adquiere durante la infancia. El virus ingresa y se multiplica en la mucosa oral, generalmente sin que se exprese clínicamente la infección (asintomática en un 90%) (1-3). La seroprevalencia es mayor en grupos poblacionales de menor nivel socioeconómico y en países subdesarrollados, donde alcanza un 90% en adultos (4-5).

A nivel mundial, el VHS es la principal causa de infección genital y neonatal, la prevalencia es cercana al 85%, siendo mayor en mujeres y aumentando notablemente en las edades de inicio de la actividad sexual. Las primoinfecciones y las recurrencias genitales, en general, son asintomáticas, situación que explica el alto número de contagios que se producen anualmente y el riesgo de infección neonatal (6-8).

Los virus herpes simple son responsables de una amplia variedad de infecciones que afectan a un importante porcentaje de la población (9-11), principalmente se propaga en la piel y mucosa facial, aunque también

puede dar manifestaciones genitales y del SNC (12-13).

Las infecciones del Sistema Nervioso Central (SNC) asociadas a dichos virus, tienen una morbilidad significativa y se asocian con una mortalidad elevada (14), siendo el VHS considerado como uno de los agentes causales de meningitis y encefalitis aguda, que contribuye en un 10-20% de los casos ocurridos a nivel mundial (6).

La meningitis viral y las encefalitis de curso agudo resultan ser más moderadas; sin embargo, son más frecuentes que la meningitis bacteriana y encefalitis crónica; y suelen afectar individuos de todas las edades (8, 15-16).

El transporte del virión es por flujo retrógrado axonal desde las neuronas hasta los ganglios nerviosos (trigémino) en el caso de herpes tipo 1 (VHS-1) y (sacro) VHS-2 (6). El mecanismo por el cual las réplicas se dirigen al área del cerebro ocasionando la infección severa del SNC es desconocido; no obstante, en la mayoría de los casos cuando ocurre la interacción virus-hospedador se da un estado de latencia. Una vez que se establece este es-

tado, pueden ocurrir subsecuentes reactivaciones, con proliferación del virus y reaparición en los sitios mucocutáneos que se manifiestan en forma de vesículas o úlceras. Cada episodio dura unos días y puede recurrir en un período de meses o años (4, 17-18).

En mujeres la meningitis coincide hasta en un 39% de los casos, con la presencia de lesiones en la zona genital (19). En neonatos la infección del SNC por VHS es muy frecuente y el 70% de los casos se debe al contacto durante el parto con secreciones genitales infectadas aumentando con ello el riesgo de mortalidad hasta un 31% (20-21).

Numerosos estudios han mostrado que un 80% de pacientes con encefalitis por VHS presentan un aumento de los títulos de anticuerpos (ACs) de 7 a 11 días después del inicio de la enfermedad, donde los niveles de IgG específica para VHS en LCR aumentan en correspondencia con el nivel de IgG total (15, 22). Esta característica es la que permite la detección del virus por métodos serológicos como ELISA (23-27).

Debido a que más del 90% de la población total puede tener anticuerpos contra el VHS y a que se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza; además de no presentar los síntomas y tomando en consideración la capacidad de este virus de mantenerse latente, puede deducirse que cualquier individuo tiene la posibilidad de ser afectado por una meningitis o encefalitis en algún momento de su vida.

Por lo tanto, el presente trabajo se propuso como objetivo, determinar la incidencia del virus herpes en pacientes que presentaron un cuadro clínico de meningitis aséptica, encefalitis y meningoencefalitis agudas. La detección de anticuerpos específicos Anti-VHS se realizó a partir de muestras de líquido cefalorraquídeo (LCR) y suero provenientes de individuos de diferentes centros de asis-

tencia médica de la ciudad de Maracaibo, Edo. Zulia.

## Material y Método

### Población

Se estudiaron 186 muestras pareadas de LCR y Suero recolectadas durante un año de estudio de pacientes provenientes del: Hospital Universitario de Maracaibo, Maternidad Castillo Plaza, Hospital de Especialidades Pediátricas, y Hospital Chiquinquirá. Los criterios para la toma de muestra fueron pacientes que presentaron infección aguda del SNC y mostraron resultados negativos en el estudio bacteriológico del LCR.

### Toma de muestras

A cada paciente se le realizó una historia clínica, cuyos datos fueron aportados por los representantes legales, quienes dieron su consentimiento informado por escrito, bajo las normas del código de Bioética y Bioseguridad Capítulo 2 y 3 del FONACIT (28). Las muestras de LCR se tomaron por punción lumbar por médicos especialistas en el área, y las de sangre por punción venosa. La sangre se centrifugó para extraer el suero y se colocaron en alícuotas. Una alícuota se usó para cuantificar la albúmina y las demás se preservaron a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

### Método espectrofotométrico para cuantificar albúmina en LCR y suero

A cada una de las muestras (186 en total) se les realizó la cuantificación de albúmina aplicando la relación Albúmina-LCR/Albúmina-Suero para determinar cualquier contaminación sérica del LCR, y permitir así la detección real de la cantidad de las inmunoglobulinas presentes en el mismo.

En las muestras de suero se aplicó la técnica colorimétrica de Winner Lab. Argentina

(29); y en las muestras de LCR se utilizó el método de Redox C.A (30), dicho método posee una sensibilidad y especificidad elevada debido a que la albúmina en LCR se encuentra en menor concentración. Se calculó la relación Alb LCR/Alb suero, tomando como valor límite  $<0,0075$ , por encima del cual se considera contaminación del LCR y se descartó la muestra por no cumplir con uno de los criterios de inclusión para la determinación de anticuerpos específicos (30-31).

### Estudio citoquímico del LCR

El recuento celular y diferencial se realizó en Cámara Fuchs-Rosental, con Microscopio óptico de campo claro a 40X. Mientras que, la determinación de proteínas se realizó con el método de Molibdato-Rojo de Pirogalol y el de la glucosa por el método de la Deshidrogenasa de Hexoquinasa-Glucosa-6-Fosfato.

### Detección de anticuerpos IgG e IgM en suero e IgG en LCR por la técnica de ELISA

A las muestras cuya relación Albúmina LCR/Albúmina Suero fue  $<0,0075$  se les realizó la determinación de anticuerpos IgM en suero e IgG en suero y LCR, utilizando los kits comerciales de Elisa: (Enzygnost® anti virus HSV/IgM) y (Enzygnost® anti virus HSV/IgG). La técnica, se empleó siguiendo las indicaciones del fabricante (Behring Marburg, Germany), la lectura de las placas se ejecutó de forma automatizada en un lector de Elisa-System software (Multiskan EX) (24).

A cada uno de los valores obtenidos en las muestras y a los patrones de referencia se les determinó la diferencia de extinción  $\Delta E$  ( $= E$  antígeno  $- E$  antígeno en control). La prueba resultó válida si la DE del patrón de referencia anti-HSV P/N\* era  $< 0,10$  y el patrón de referencia anti-HSV P/P\*  $> 0,2$ ; se

consideraron positivas aquellas muestras que obtuvieron valor igual o mayor a  $0,2$  y negativas aquellas cuyo resultado fue menor a  $0,1$ ; si la  $\Delta E$  se haya entre  $0,10$  y  $0,20$  ( $0,1 \leq \Delta E \leq 0,2$ ) la muestra debía ser analizada nuevamente o considerada como “valor límite” (24).

### Análisis estadístico

Los resultados fueron analizados y ordenados en el programa SPSS for Windows 15 e Instat, y expresados en forma de proporciones en tablas de frecuencias, analizados a través del test de Ji cuadrado con la corrección de Yates, y con el test exacto de Fisher según correspondió, para definir las diferencias entre los grupos. Las relaciones entre las variables estudiadas se definieron a través del análisis de correlación de Spearman y Pearson. Se utilizó como índice de confianza el 95% y se consideró toda probabilidad  $<0,05$  como significativa.

## Resultados

En la determinación del índice albúmina LCR/albúmina suero, 50,21% (93/186) de las muestras iniciales resultaron óptimas para la detección de anticuerpos IgG en suero y LCR; ya que la relación albúmina LCR/albúmina suero fue menor a  $0,0075$  señalando la presencia de anticuerpos intratecales y ausencia de contaminación sérica por daños a nivel de la barrera hematoencefálica (BHE).

De las 93 muestras de suero procesadas, se obtuvo 1,07% (1/93) positivas en la detección de anticuerpos del tipo IgM; 89,24% (83/93) positivos para IgG y 21,5% (20/93) de las muestras de LCR fueron positivas en la detección de anticuerpos IgG específicos anti-VHS (Fig. 1). Esta figura señala la prevalencia de anticuerpos IgG específicos en LCR, lo que indica una posible producción intrate-

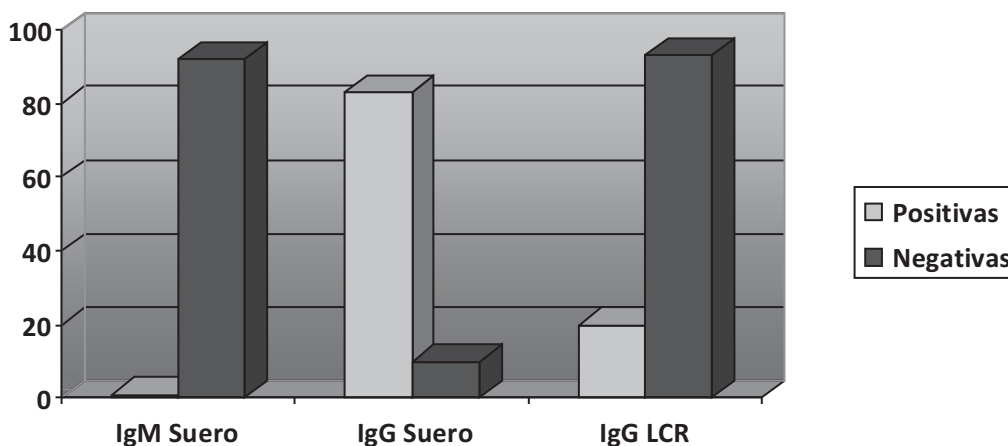
cal de anticuerpos IgG y la afección del SNC por el VHS como agente viral involucrado en enfermedades como meningitis, meningoencefalitis y encefalitis viral.

Se estudiaron 58 casos de meningitis de los cuales 87,9% fueron seropositivos para el VHS y 6,9% presentaron anticuerpos intratecal anti-VHS en el LCR; 9 casos de encefalitis, 88,9 % seropositivos a VHS y 66,7% presentaron Acs intratecales; por otro lado 14 casos de meningoencefalitis 92,9% seropositivos a VHS y 57,1% con anticuerpos intratecales; así mismo, se observaron 12 casos con sintomatología neurológica asociados a otros tipos de diagnósticos no específicos, donde 91,7% fueron positivos a VHS y 8,3% presento Acs intratecales. Se observó una relación signifi-

cante entre los pacientes con anticuerpos en LCR anti- VHS y el diagnóstico clínico indicado (Tabla 1).

Al analizar las características de la población, se observó un predominio de la infección del SNC causadas por VHS en el sexo masculino (67,07%), en comparación con el sexo femenino (32,9%). Sin embargo, se obtuvo mayor prevalencia de infección en el sexo femenino (96,4%). De todos los casos estudiados, el 1,07% refirieron haber padecido herpes genital, y 5,37% herpes cutáneo, mientras que el 91,2% manifestaron no tener antecedentes de herpes; se reportaron dos casos asociados a otros agentes virales.

En la Tabla 2 se muestra que no existen datos significativos en cuanto al sexo y edad



**Figura 1.** Representación gráfica de muestras positivas y negativas evaluadas.

**Tabla 1.** Distribución de pacientes con diagnóstico neurológico y presencia del agente viral por detección de anticuerpos.

Diagnóstico clínico	IgM		IgG Suero		IgG LCR	
	+	%	+	%	+	%
Meningitis	0	0	51/58	87,9	4/58	6,9
Encefalitis	0	0	8/9	88,9	6/9	66,7*
Meningoencefalitis	0	0	13/14	92,9	8/14	57,1*
Otras	1/12	8,3	11/12	91,7	1/12	8,3
Total	1/93	8,3	83/93	89,2	19/93	20,4

(\*) Diferentes significativamente (p<0,05) de los grupos con meningitis y otras.

**Tabla 2.** Porcentaje de anticuerpos específicos anti-VHS distribuidos por sexo y edad.

Edad	Sexo											
	Femenino						Masculino					
	IgM	%	IgG(S)	%	IgG(L)	%	IgM	%	IgG(S)	%	IgG(L)	%
0-10	0/18	0	18/18	100	1/18**	7,6	0	0	43/48	89,5	15***	31,2
11-20	0	0	5/5	100	0	0	0	0	9/13	69,2	2	15,4
21-30	1/3	33,3	3/3	100	0	0	0	0	0	0	0	0
31-40	0	0	0	0	0	0	0	0	2/2	100	0	0
41-50	0	0	1/2*	50	0	0	0	0	1/1	100	1	50
51-60	0	0	0	0	0	0	0	0	1/1	100	0	0
Total	1/28	3,5	27/28	96,4	1/28	3,5	0	0	55/65	84,6	18	27,6

Diferente significativamente ( $p < 0,05$ ): (\*) con respecto al mismo sexo; (\*\*) con respecto al sexo masculino del mismo grupo etario; (\*\*\*) con respecto a los grupos de 11-20 años y 41-50 años del mismo sexo. IgG(S)= IgG en Suero; IgG(L)= IgG en LCR.

en la detección de anticuerpos IgM en suero, mientras que para la IgG anti VHS en suero, el grupo femenino presentó mayor prevalencia en edades comprendidas entre 0-10, 11-20 y 21-30 años con respecto a individuos mayores de 41 años, el cual es significativamente diferente al resto de los grupos. Así mismo, en la detección de IgG en el LCR, el grupo femenino de 0-10 años presentó menor prevalencia en comparación con el grupo masculino del mismo grupo etario, siendo diferentes significativamente. Por último, el grupo masculino en edades comprendidas entre 0-10 años presentó diferencias significativas en comparación con los grupos etarios de 11-20 y 41-50 años del mismo sexo.

Por consiguiente, se observó una correlación significativa de  $r = 0,274$  del sexo en correspondencia con los datos obtenidos en la detección de IgG en LCR ( $p < 0,05$ ); refiriendo que en el sexo masculino se encontró el mayor porcentaje de anticuerpos IgG en LCR. De acuerdo a lo reportado en la Tabla 2, se vi-

sualiza que en el sexo femenino la infección por VHS tiene mayor prevalencia (96,4%). Sin embargo, el sexo masculino presentó el mayor número de casos de infecciones del SNC causadas por VHS (27,6%).

Las manifestaciones clínicas más frecuentes fueron fiebre con un 96,6% para meningitis, 100% encefalitis, 92,9% meningoencefalitis y 50% otros; seguida por cefalea en todos los casos, 56,9 meningitis, 77,8% encefalitis, 50% meningoencefalitis y 33,4% otros (Tabla 3); los cuales son los rasgos más característicos en alteraciones del SNC que puede acompañarse por síntomas focales a nivel del lóbulo frontotemporal (32).

Las características de las muestras de LCR evaluadas no presentaron diferencias significativas en relación a las infecciones del SNC (Tabla 4). En esta tabla se observa que parámetros del LCR tales como: glucosa, proteínas, linfocitos, entre otros, mostraron cambios leves en las muestras estudiadas, sin mostrar valores significativos entre estos.

**Tabla 3.** Manifestaciones clínicas en la población con afecciones del SNC.

Síntomas	M	%	E	%	ME	%	O	%
Fiebre	56/58	96,6	9/9	100	13/14	92,9	6/12	50
Cefalea	33/58	56,9	7	77,8	7	50	4	33,4
Náuseas/Vómitos	0/58	0	0	0	0	0	4	33,4
Signos								
Convulsión	0/58	0	0	0	0	0	1	8,4
Alteración de la visión	29	50	8	87,9	6	42,9	0	0
Diarrea	29	50	4	44,4	1	7,14	0	0
Problema psicomotor	0	0	0	0	1	7,1	2	16,7
Rash cutáneo	48	82,8	9	100	11	78,1	0	0
Mialgia	0	0	0	0	0	0	4	33,3
Astralgia	0	0	0	0	0	0	3	25
Adenopatía	0	0	0	0	0	0	3	25
Otros hallazgos								
Problemas respiratorios	43	74,1	2	22,2	2	14,3	1	8,3
Alteración hepática	14	24,1	3	33,3	8	57,1	0	0
Dolor de garganta	0	0	0	0	0	0	4	33,3

M: Meningitis; E: Encefalitis; ME: Meningoencefalitis.

**Tabla 4.** Características del líquido cefalorraquídeo en la población estudiada.

Parámetros	N	%
Glucosa		
Normal (50-80mg/dL)	22	23,6
Aumentada	36	38,7
Disminuida	35	37,6
Proteínas		
Normal (20-50mg/dL)	45	48,38
Aumentada	48	51,61
Linfocitos		
Normal (0-8x mm <sup>3</sup> )	93	100

## Discusión

El número de muestras positivas para IgM en suero es sugestivo de infección aguda o reactivación por el virus herpes en los pacientes con infección aguda del SNC. Posiblemente corresponda a un paciente con primoinfección, ya que la característica de este virus de generar infección latente con reactivación de la misma, hacen a este parámetro no adecuado para discriminar una infección activa de una reactivación (9, 13, 33). Por otro lado, el número de muestras positivas para IgG en suero representó un amplio porcentaje de la población (89,2%) infectada previamente por este agente viral.

La presencia de anticuerpos IgG específicos (21,5%) de producción intratecal en

LCR; deja en claro la participación del virus herpes en infecciones del sistema nervioso central; datos que concuerdan con los obtenidos en investigaciones nacionales e internacionales, como las realizadas por Valero y col. (16), el cual fue de un 33,33% en el año 2006. El rango menor puede deberse a que posiblemente han mejorado las medidas de prevención en la transmisión de enfermedades infecciosas, en el tratamiento antiviral y en el control prenatal. Porcentaje similar a los reportados en otros países tales como: EE.UU (12%), Eslovenia (10%), India (15%), Reino Unido (11%), Finlandia (4%), Canadá (6%), entre otros (34-37).

En relación al sexo los resultados obtenidos fueron similares a lo reportado previamente por otros investigadores (5, 15), que señalan una proporción 2:1 masculino/femenino; sin embargo se ha visto que las infecciones sobre todo por VHS tipo 2 suele ser más común en el sexo femenino (6, 10).

El grupo más afectado fue el de menores de 10 años, seguido de los adolescentes de 11-20 años, resultados que concuerdan con estudios reportados previamente, y con el que se afirma que el VHS suele aparecer principalmente durante la infancia y alcanzar un 80% en adolescentes y adultos jóvenes, debido a que inician la actividad sexual (14, 33, 38-39).

En esta investigación no se observaron cambios mayores en las muestras de LCR estudiadas. Estos datos son similares a los obtenidos por Martínez (5) y diferentes a los reportados por otros autores (32, 33, 40), quienes indican que en ciertas patologías de origen viral (encefalitis agudas, meningoencefalitis o meningitis asépticas) pueden ocurrir alteraciones a nivel del LCR, tales como: disminución de glucosa, aumento de proteínas, pleocitosis con predominio de linfocitos, entre otros.

Entre los signos más frecuente se encontró el rash cutáneo, seguido de alteraciones de la visión y diarrea, sin relación atribuible con el tipo de patología. Otros signos de interés neurológico que se encontraron fueron problemas respiratorios y alteración hepática, los cuales tuvieron una frecuencia significativa; mientras que, el resto de los síntomas tales como náuseas, dolor de garganta, mialgia, astralgia y adenopatía, no presentaron frecuencia determinante en dichas enfermedades sino, sólo en diagnósticos no definidos. Estos datos son similares a lo reportados por otros investigadores (15, 16).

Las meningoencefalitis asépticas a diferencia de las bacterianas, plantean un problema relevante para los laboratorios, ya que para estas últimas existe una estrategia diagnóstica establecida en los centros de salud (41); además, el control de las infecciones virales del SNC resulta una tarea complicada incluso para el individuo, debido a las consecuencias perjudiciales de la respuesta inmunitaria del paciente, el cual puede provocar daño neurológico (13).

## Conclusiones

Esta investigación evidenció la presencia del VHS en los pacientes estudiados, así como la necesidad de realizar un diagnóstico oportuno que permita conocer los agentes virales involucrados en las patologías agudas del SNC como lo son meningitis, meningoencefalitis y encefalitis, con la finalidad de contribuir con el personal de salud para el restablecimiento rápido del paciente y a un bajo costo. Es importante resaltar que este trabajo aporta registros epidemiológicos actuales de la prevalencia del VHS en dichas enfermedades.



## Agradecimientos

Los autores agradecen al Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología (FONACIT) por el financiamiento otorgado a través del Proyecto S1-2002000407 y por su aporte al desarrollo de este trabajo.

## Referencias bibliográficas

- (1) Mabula, J., Nilsen, A., Marsden, H., Bergström, T., Langeland, N., and Haarr L. A branched, synthetic oligopeptide corresponding to a region of glycoprotein G of HSV-1 reacts sensitively and specifically with HSV-1 antibodies in an ELISA. *Journal of Virological Methods*. 2005; 125 (2): 137-143.
- (2) Whitley, R. Therapy of herpes virus infections in children. *Adv Exp Med Biol*. 2008; 609:216-32. Review.
- (3) Yu JL., Liu SP., Luo MH. Etiology of infectious diseases in the central nervous system. *Hunan Yi Ke Da Xue Xue Bao*. 2003; (4):412-4.
- (4) Whitley, R. Herpes simplex encephalitis: Adolescents and adults. *Antiviral Research*. 2006; 71 (2-3): 141-148.
- (5) Martínez, M., Herreros, A., Tellez, A., Echevarria, JM. Meningitis víricas o de posible etiología viral en adultos: estudio de 325 casos. *Neurología*. 1990; 5(1): 410.
- (6) Costello, M., Sabatini, L., and Yungbluth P. Herpes simplex virus infections and current methods for laboratory detection. *Clinical Microbiology Newsletter*. 2006; 28 (24): 185-192.
- (7) Hernández A. Infección por Herpes Simplex Genital. Revisión Global. *Rev Haban Cienc Méd*. 2008; 7(4):13-15.
- (8) Current Management of herpes simplex infection in pregnant women and their newborn infant. *Infectious Diseases and Immunization Committee, Canadian Paediatric Society. Paediatrics & Child Health*. 2006; 11:363-5.
- (9) Klapper, P y Cleator, G. Herpes simplex virus. *Intervirology*. 1997; 40 (2-3):62-71. Review.
- (10) Riley, L. Herpes simplex virus. *Seminars in Perinatology*. 1998; 22 (4): 284-292.
- (11) Whitley, R. Herpes simplex virus infections. *Seminars in Pediatric Infectious Diseases*. 2002; 13(1): 1-6.
- (12) David, K. Herpes simplex Virus infections of the Central Nervous Systems. *Seminars in Pediatric Infectious Diseases*. 2003; 14 (2): 83-89.
- (13) Georgia Vrioni, Christos Kalogeropoulos, Constantina Gartzonika, Efthalia Priavali and Stamatina Levidiotou. Usefulness of Herpes Consensus PCR methodology to routine diagnostic testing for herpesviruses infections in clinical specimens. *Virology Journal*. 2007, 4:59-62.
- (14) Camarena, J y Nogueira, J. Diagnóstico serológico de las infecciones por los Virus Herpes Simplex. SEIMC. Valencia. 2002. 1-4 artículo online disponible en: <http://www.seimc.org/control/index.asp>.
- (15) Zambrano, Y., Chiarello, A., Soca, A., Villalobos, I., Marrero, M., Soler, M., y col. Utilización de la reacción en cadena polimerasa para el diagnóstico de infecciones del sistema nervioso central. *Invest clin*. 2006; 47 (4): 337-347.
- (16) Valero, N., Henríquez, R., Hernández, C., Pomedá, O., Romero, M., Urdaneta, F., et al. Viral agents in patients with infectious processes of the central nervous system. *Invest Clin*. 2001; 42(4):255-67.
- (17) Curtis, B and Itzhaki, R. Herpes simplex virus type 1 and Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*. 1999; 20 (4): 457-465.
- (18) Streit Wolfgang J. y Kincaid-Colton, C. Las defensas del organismo: El sistema inmunitario del cerebro. *Investigación y Ciencia año*. *Scientific american*. 2001; Artículo disponible en: [www.investigacionyciencia.es](http://www.investigacionyciencia.es).
- (19) Duin LK., Willekes C., Baldewijns MM., Robben SG., Offermans J., Vles J. Major brain lesions by intrauterine herpes simplex virus infection: MRI contribution. *Prenat Diagn*. 2007; 27(1):81-4.

- (20) Linde, A., Klapper, P., Monteyne, P., Echeverría, J., Cinque, P., Rozenberg, F., et al. Specific diagnostic methods for Herpesvirus infections of the Central Nervous System A consensus review by the European Union Concerted Action on Virus. *Journal of Clinical Virology*. 1997; 8(2) :83-104.
- (21) Mendoza, L., Vieira, R., Massaiti, O., Aquino, V., and Tadeu L. Viral infections of the Central Nervous System in Brazil. *Journal of Infection*. 2007; 54 (6): 589-96.
- (22) Sauerbrei, A y Wutzler, P. Laboratory diagnosis of central nervous system infections caused by Herpesviruses. *Journal of Clinical Virology*. 2002; 25 (1): 45-51.
- (23) Aberle, S y Puchhammer, E. Diagnosis of Herpesvirus infections of the central nervous system. *Journal of Clinical Virology*. 2002; 25 (1) 79-85.
- (24) López-Hernández S. , Eiros-Bouza J. Control de las determinaciones serológicas de individuos VIH positivos en un centro hospitalario. Control de las determinaciones serológicas de individuos VIH positivos en un centro hospitalario. *Rev Diagn Biol*. 2001; 50(4):193-196. Citado 2010-07-27. Disponible en: <http://scielo.isciii.es/scielo>.
- (25) Boivin G. Diagnosis of herpesvirus infections of the central nervous system. *Herpes*. 11 Suppl. 2004; 2:48A-56A.
- (26) Ory, F., Guisasaola, M., Casas, I., and Echevarría J. Evaluation of new reagents for typing IgG to HSV-1 and HSV-2. *Opportunistic Pathogens*. 1997; 9 (1): 39-41.
- (27) Pérez, J., Navarro, M., Cardona, C., y Montero, J. Diagnóstico de laboratorio de las infecciones por herpesvirus. *Procedimientos en microbiología clínica*. 1995. artículo on line disponible en: [www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia/cap8.htm](http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia/cap8.htm).
- (28) Briceño, E.; Pérez, E.; Villalón, M.; Aguilera, M.; Michelangeli, C.; Feliciangeli, D.; Godoy, J.; Camilloni, C.; Otaiza, E.; Ceballo, H. Código de Bioética y Bioseguridad, Capítulo 2 y 3. 2da ed. Caracas; Ministerio de Ciencia y Tecnología (FONACIT). 2008.
- (29) Doumas, Bt., Watson, Wa., Biggs, HG. Albumin standars and the measurement of serum albumin with Bromocresol Green. *Clin Chim Acta*. 1971; 7 (31): 87- 91.
- (30) Tibbling, G. Principle of albumin and IgG análisis in neurological Disorders Establishment of reference values. *Scan J. Clin. Invest*. 1977; 37: 385- 390.
- (31) Gutiérrez, J. y Maroto, C. Serodiagnóstico de la infección vírica. SEIMC. 2004. 1-8 artículo online disponible en: <http://www.seimc.org/control/index.asp>.
- (32) Wilson, H. Principios de Medicina Interna. Edición 12. México. Editorial Interamericana S.A. 1991. 1983-1987p.
- (33) Banfi A. Encefalitis: Causas y Tratamiento. *Rev Chil Infect*. 2003; 20:28-33.
- (34) Arrollo H., Bologna A. Encefalitis viral. *Rev Neurol*; 1997; 25:912-919.
- (35) Kimberly D. Herpes Simplex Virus. Meningitis and Encephalitis in Neonates. *Herpes*. 2004; 11(2):65A-76A.
- (36) Paragariya A, Jain RS, Gupta S, Garsg A, Sureka RK, Mathur V. Herpes Simplex Encephalitis in North West India. *Rev Neurol India*. 2001; 49(4)360-5.
- (37) Chauduri A, Kennedy P. Diagnosis and Treatment of Viral Encephalitis. *Postgrad Med J*. 2002; 78:575-583.
- (38) Zambrano, Y., Chiarello, A., Soca, A., Villalobos, I., Marrero, M., Soler, M., y col. Utilización de la reacción en cadena polimerasa para el diagnóstico de infecciones del sistema nervioso central. *Invest Clin vol*. 2006; 47 (4): 337-347.
- (39) Whitley, R y David, K. Herpes simplex: encephalitis children and adolescents. *Seminars in Pediatric Infectious Diseases*. 2005; 16 (1): 17-23.
- (40) Israel, D y Jhon, H. Todd-sandford. Diagnóstico clínico por el laboratorio. Sexta edición. Salvat editores, SA. 1979. 1288-1300p.
- (41) Méndez-Álvarez, S; Pérez-Roth, E. La PCR múltiple en microbiología clínica. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2004; 22:183-92.