

ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA. ESTUDIO CLINICO Y DE
LABORATORIO EN PACIENTES PEDIATRICOS

Dorothy Gaskin de Pellacani* y Armando Soto Escalona**

RESUMEN

Se hizo el estudio clínico y de laboratorio de nueve niños con encefalitis producida por el virus de la encefalitis equina venezolana, demostrado por aislamiento del virus y por la prueba de inhibición de la hemaglutinación. Casi todos los pacientes tenían anticuerpos demostrables en el séptimo día de evolución de la enfermedad. El examen clínico indica que los síntomas y signos más frecuentes fueron: fiebre, convulsiones y otras manifestaciones de excitación cortical.

Los exámenes hemáticos revelaron leucocitosis inicial con ulterior tendencia hacia leucopenia. Con fórmula leucocitaria normal al comienzo seguida de neutropenia en la mayoría de los casos. El líquido céfalorraquídeo presentó pleocitosis con linfocitos en dos casos y neutrófilos en otro. Hubo hiperglucorraquia en el 50% de los niños y aumento de la albúmina raquídea. Las pruebas cualitativas para globulinas fueron positivas en tres oportunidades.

INTRODUCCION

En el año de 1968, se desencadenó un brote de encefalitis equina venezolana en el Distrito Páez del Estado Zulia, cuyas características fueron ampliamente descritas por otros investigadores^{2,3}, armonizando su cuadro sintomatológico con las observaciones de Negrette en 1959^{1,5,16} y los estudios del brote de 1962². Al siguiente año, 1969, cabalgando con la aparición de las lluvias y con el aumento de la población de vectores se inició un nuevo brote en el Distrito Páez^{1,9}, que rápidamente se extendió

* Cátedra de Virología, Escuela de Bioanálisis, y

** Sección de Virología, Instituto de Investigación Clínica, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela.

al Distrito Mara, siendo éste el más afectado en esta ocasión. El brote se propagó a Maracaibo, municipios circunvecinos y aún a otros distritos donde los brotes son menos frecuentes.

En el presente trabajo se sigue la evolución de un grupo de niños provenientes de diferentes áreas del Estado que fueron internados en el Hospital de Niños de Maracaibo en noviembre de 1969 por sospecha de encefalitis venezolana y su objeto primordial es contribuir al estudio de la enfermedad en la región.

MATERIAL Y METODOS

Se estudiaron nueve niños internados en el Hospital de Niños de Maracaibo cuyas edades oscilaban entre 15 días y 8 años. Cinco de ellos provenían de diferentes barrios de Maracaibo, uno de Santa Cruz (Distrito Mara), dos del Distrito Miranda y otro de Yaguasirú (Distrito Páez).

Se extrajo sangre por punción venosa diaria de cada niño, durante siete días consecutivos. Esta fue transportada al laboratorio en condiciones adecuadas de refrigeración, donde fue centrifugada, separado el coágulo y el suero guardado a -70°C hasta el momento de su utilización.

Para el aislamiento de virus se utilizaron fibroblastos de embrión de pollo en medio mínimo esencial de Eagle adicionado de suero de ternera al 10%, bicarbonato de sodio al 7,5% y antibióticos (penicilina 100 u/ml, estreptomina 100 mcg/ml y fungizona 2,5 mcg/ml). Como medio de mantenimiento se utilizó el mismo medio de Eagle con suero de ternera en concentración del 2%. Antes de inocularse con las muestras de suero, las células fueron lavadas dos veces con solución 0,15M salina en buffer fosfato 0,1M pH 7,4, luego se les añadió 0,2 ml de la muestra de suero, se incubaron las células por una hora a 37°C y se les adicionó el medio de mantenimiento. Se hicieron observaciones diarias al microscopio para buscar efecto citopatogénico.

Además, cada uno de los sueros fue estudiado mediante la prueba de inhibición de la hemaglutinación. Los inhibidores inespecíficos se eliminaron por adsorción con caolín. El método utilizado fue el de Clarke y Casals⁸ adaptado a la microtécnica por Severs^{2,2}. La prueba se realizó en placas plásticas desechables con fondo en "U" (Cooke Engineering Co. Alexandria, Virginia, U.S.A.). Se emplearon en la prueba 8 unidades hemaglutinantes de antígeno viral de EEV a un pH de 6,0.

A todos los niños se les practicó exámenes de cuenta blanca y fórmula leucocitaria, de líquido cefalorraquídeo y de electrolitos.

Todos los niños fueron dados de alta por curación y se desconoce su ulterior evolución.

RESULTADOS

Aislamiento: Tres de los niños estudiados presentaron viremia, evidenciada por multiplicación de virus en los cultivos de fibroblastos de embrión de pollo inoculados con sus sueros (Tabla N° 1).

TABLA N° 1
ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA
EN NIÑOS HOSPITALIZADOS.
NOVIEMBRE 1969.
DEMOSTRACION DE POSITIVIDAD DEL VIRUS EEV

Paciente	Edad	Positividad EEV		Procedencia.
		Aisl.	Serolog.	
1	2 a	+	+	Maracaibo
2	2 a	+	+	Maracaibo
3	1 a	-	+	Miranda
4	3 m	-	+	Maracaibo
5	1 a	-	+	Mara
6	15 d	-	+	Maracaibo
7	8 a	-	+	Maracaibo
8	5 m	+	+	Miranda
9	5 m	-	-	Páez

Serología: En la prueba de inhibición de la hemaglutinación se obtuvieron títulos significativos anti-EEV en ocho niños y uno que fue consecutivamente negativo hasta el séptimo día cuando tuvo un título de 1:10 (Tabla N° 2).

Estudio Clínico: En la Tabla N° 3 se observa la agrupación por edades. Cuatro de los casos se encuentran por debajo de 1 año (15 días, 3 meses y dos de cinco meses). La fiebre destaca como uno de los síntomas predominantes y sus características principales se resumen en las Tablas N° 4, 5 y 6. El tipo de fiebre que predominó fue la bifásica. Además de la fiebre se hicieron presentes una variedad de síntomas que ponían

TABLA N° 2

ENCEFALITIS ESQUINA VENEZOLANA EN NIÑOS HOSPITALIZADOS. NOVIEMBRE 1.969
TITULOS DE ANTICUERPOS ANTIEEV EN RELACION A DIAS DE EVOLUCION.

Paciente No.	DIAS DE EVOLUCION												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1	*	-	-	-	-	-	-	10**	40	320	640	1280	1180
2	-	-	-	80	160	320	-	1280	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	40	160	320	320	640	-	-
4	-	-	10	20	40	640	640	640	640	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	10	40	40	160	160	-	-	-
6	-	10	10	10	10	10	10	160	-	-	-	-	-
7	10	80	80	80	80	80	80	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	10	10	10	10	10	10	80	-	-
9	-	-	-	10	10	10	10	-	-	-	-	-	-

(*) No fué hecho

(**) Reciproco del Titulo Final

TABLA N° 3

ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA
EN NIÑOS HOSPITALIZADOS.
NOVIEMBRE 1969.
DISTRIBUCION POR EDADES

Edades	N° de Casos	Porcentaje
< 1 año	4	45%
1 año	2	22%
2 a 4 años	2	22%
5 a 9 años	1	11%
Total	9	100%

claramente de manifiesto la afectación del sistema nervioso (Figura 1) y que corresponden a la sintomatología atribuida a la clasificación tipo II de acuerdo con las pautas tomadas en 1962².

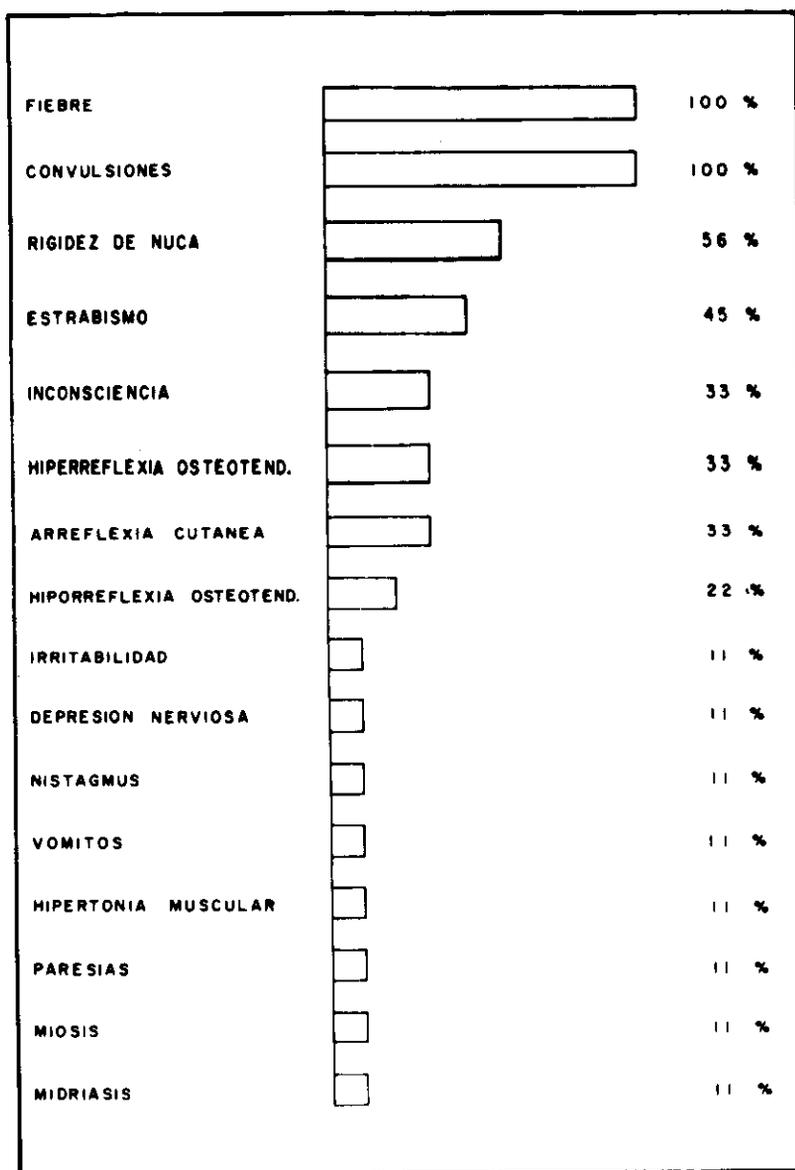
Cuenta blanca y fórmula leucocitaria: El estudio hematológico revela una cuenta normal en un caso, leucopenia moderada en dos y leucocitosis en los otros seis. Para las leucocitosis las cifras variaron entre 12.600 y 24.200 leucocitos por cc y en el curso de la enfermedad bajaron a límites normales y aún por debajo de lo normal. En la Figura 2 se aprecia la dispersión de los valores leucocitarios en relación con las cifras normales máximas y mínimas. Las fórmulas leucocitarias, leídas entre 2 y 8 días después del comienzo de la enfermedad, indicaron normalidad en 6 casos,

TABLA N° 4

ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA
EN NIÑOS HOSPITALIZADOS.
NOVIEMBRE 1969.
DURACION DE LA ENFERMEDAD

Duración	N° de Casos	Porcentaje
3 a 6 días	4	45%
7 a 14 días	4	45%
> 14 días	1	10%
Total	9	100%

FIG. 1



neutropenia con linfocitosis en 2 casos y neutrofilia con linfocitopenia en uno. A algunos de los niños se les practicaron análisis seriados y tres de los que presentaron fórmulas normales al comienzo, demostraron una tendencia ulterior de la neutropenia (Tabla N° 7).

Electrolitos: Los valores sanguíneos de electrolitos fueron normales.

TABLA N° 5

ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA
 EN NIÑOS HOSPITALIZADOS.
 NOVIEMBRE 1969.
 INTENSIDAD DE LA FIEBRE

Grados de Temperatura	N° de Casos	Porcentaje
38°C – 38,9°C	2	22%
39°C – 39,9°C	6	67%
40°C o >	1	11%

Fosfatasas y glicemia: Las fosfatasas estuvieron ligeramente aumentadas en tres casos y la glicemia fue normal.

Líquido céfalo-raquídeo: Se hizo este examen a ocho de los nueve niños, reportándose de aspecto cristalino en tres ocasiones, sanguinolento en uno y el resto no se indicó. El examen citológico fue normal en la mayoría de los casos, observándose pleocitosis a predominio linfocítico en dos ocasiones y neutrofílico en una. Las cifras de cloruros fueron

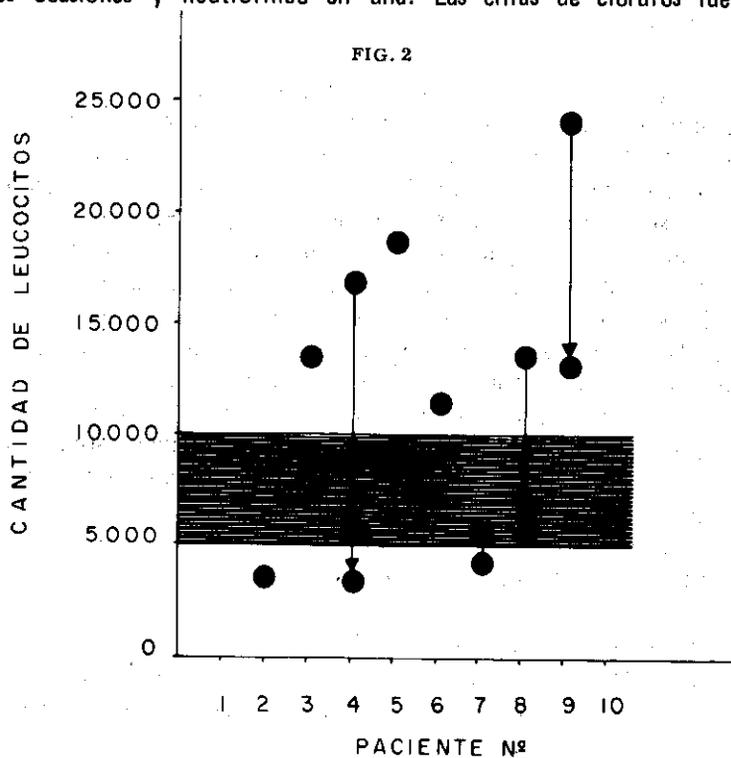


TABLA N° 6

ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA
EN NIÑOS HOSPITALIZADOS.
NOVIEMBRE 1969.
TIPO DE FIEBRE

Tipo de Fiebre	N° de Casos	Porcentaje
Continua	2	22%
Intermitente	1	11%
Remitente	1	11%
Bifásica	5	56%
Total	9	100%

normales. Hubo hiperglucorraquia en el 50% de los casos. Además, hubo un discreto aumento de la albúmina y las pruebas cualitativas para globulinas fueron positivas en tres ocasiones (Tabla N° 8).

DISCUSION

El estudio serológico seriado demuestra la presencia significativa de anticuerpos en casi todos los niños en la semana siguiente a la iniciación de la enfermedad. Esto, en parte, explica la poca cantidad de aislamientos de virus, pues es sabido que el virus desaparece de la circulación tan pronto se hacen presentes las primeras señales de anticuerpos. Ha sido demostrado^{4,10} que se puede lograr hasta un 90% de aislamientos si la muestra es tomada en los 3 primeros días de la enfermedad, pero en este estudio los niños ingresaron al hospital con lapsos variables de tiempo de evolución que oscilaban entre 2 y 7 días. Sin embargo uno de los niños presentó viremia demostrable hasta el 8° día de evolución y sólo presentó alza de anticuerpos después del undécimo día. El momento de aparición de las tasas de anticuerpos fue muy variado; en un caso se observó al segundo día de evolución, y en un caso en el día undécimo, que fue el más tardío en aparecer. Con esta sola excepción, todos los niños tenían títulos de anticuerpos demostrables al séptimo día del comienzo de la enfermedad. El título de anticuerpos varió entre 1:80 y 1:1280.

No hay criterio unánime en la literatura sobre las cifras de leucocitos en esta enfermedad. Algunos autores^{9,12,14} han encontrado leucocitosis de variada amplitud. Sin embargo, otros, en infecciones experimentales en equinos^{1,13} o en inoculaciones accidentales de laboratorio^{3,5,6} o en

TABLA N° 7
ENCEFALITIS ESQUINA VENEZOLANA EN NIÑOS HOSPITALIZADOS.
NOVIEMBRE 1969. FORMULA LEUCOCITARIA.

Paciente No.	Días de Evolución	Edad	Neutrófilos	Linfocitos	Eosinófilos
1	8	2a	48	43	9
2	3	2a	55	42	3
3	3		65	35	
	13	1a	58	42	0
4	2		12	27	
	9	3m	45	55	0
	20		33	67	
5	5	1a	82	17	1
6	2	15d	36	62	2
7	2		74	26	
	7	8a	56	43	1
8	4		54	44	
	17	5m	59	41	1
9	7	5m	40	59	1
			67	33	

TABLA N° 8

ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA EN NIÑOS HOSPITALIZADOS.
NOVIEMBRE 1.969. EXAMEN DEL LIQUIDO CEFALO RAQUIDEO.

Paciente No.	Aspecto	Células	Glob. Rojos	Gluc.	CI Meq/L	Alb.	Pandy	Noneap.	Weich.
1	-	NO SE PRACTICO EL EXAMEN	-	-	-	-	-	-	-
2	Crist.	I(L)*	-	0.70	108	24	-	-	-
3	Crist.	103(N)**	-	0.65	116	27	-	-	-
4	No Report.	3(L)	-	0.46	110	1.40	4	4	3
5	Crist.	232(L)	-	0.85	116	3	-	-	-
6	Sang.	8(L)	4+	-	118	-	2	2	2
7	No Report.	104(L)	-	0.35	114	1.25	4	4	4
8	No Report.	19(L)	-	1.20	110	46	-	-	-
9	No Report.	4	-	1.15	116	1.26	-	-	-

(*) L = Linfocito
(**) N = Neutrofilo

infecciones voluntarias del hombre²¹ o después de vacunaciones^{1,24} o en infecciones naturales^{7,18,20}, han descrito cifras de franca leucopenia tan bajas como 2.300 leucocitos por cc.

Nuestro estudio hematológico fue hecho en todos los casos dentro de los tres primeros días del ingreso con lapsos de evolución entre 2 y 7 días. Nuestros resultados indican una franca leucocitosis inicial seguida de una probable depresión del sistema leucopoyético, evidenciada por la caída de las cifras leucocitarias a niveles normales muy cercanos a los límites de leucopenia y en algunos casos a verdadera leucopenia.

Existe disparidad de opiniones en cuanto a fórmula leucocitaria en EEV. Algunos autores^{7,9,12,15} describen neutrofilia; otros¹⁷ dan igual porcentaje de distribución para neutropenia y para neutrofilia. Otros aún^{1,5} describen neutropenia inicial que luego se normaliza. Experimentalmente tampoco se ha logrado unificación de datos. Gochenour¹¹ encuentra linfocitopenia en burros, mientras que Kissling¹³ encuentra neutropenia en caballos.

En nuestro estudio aunque la mayoría de los niños presentaba una cuenta relativa normal en el comienzo de la enfermedad hay la evidencia de que la neutropenia es la característica primordial ya que en estudios seriados se observa una caída paulatina hacia niveles bajos de neutrófilos y en dos casos la neutropenia fue manifiesta desde el inicio de la enfermedad.

Las alteraciones del sistema nervioso central señalan un predominio de manifestaciones de excitación cortical y en un bajo porcentaje de casos hubo depresión sensorial como hipo y arreflexia ósteotendinosa y cutánea ya descrito por otros autores²⁰. Nosotros añadimos rigidez de nuca, estrabismo e inconciencia. Se consiguió hiperglucorraquia en el 50% de los casos lo que corrobora los hallazgos descritos por Castillo en la epidemia de 1962⁷. La albúmina raquídea alcanzó niveles muy altos en tres de los pacientes lo cual no había sido descrito, en evidente contradicción con los datos de la serie anterior que destaca hipoalbuminorraquia en el 80% de los casos.

Los tres casos que presentaron pleocitosis del líquido céfalorraquídeo estaban entre los que tenían leucocitosis acentuada. No hubo correlación entre el predominio de algún tipo de células blancas en líquido céfalorraquídeo y el predominio de las mismas en sangre periférica.

Venezuelan equine encephalitis. Clinical and laboratory studies in pediatric patients.

Gaskin-Pellacani D (Cátedra de Virología, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela) and Soto-Escalona A. *Invest Clin* 14(4): 145-158, 1973.- Clinical and laboratory studies were conducted in nine children with encephalitis produced by the VEE virus. The etiologic agent was determined by isolation of the virus from blood and/or hemagglutination-inhibition test. Most of the patients had developed antibodies against VEE after the 7th day of evolution of the disease. The more frequent signs were fever, convulsions, and other manifestations of cortical excitation. Blood tests revealed leukocytosis at the beginning followed by leukopenia. Leucocyte counts were normal followed shortly by neutropenia in most of the children. CSF had pleocytosis with lymphocytes in two cases and neutrophils in another one. There were hyperglucorraquia in 50% of the patients, high levels of albumin and positivity of the qualitative test for glubulins.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1- ALEVIZATOS A, KINNEY R, FEIGIN RD: Live attenuated Venezuelan equine encephalomyelitis virus vaccine. Clinical effects in man. *Am J Trop Med Hyg* 16: 762, 1967.
- 2- AVILAN JM: El brote de encefalitis venezolana al norte del Estado Zulia a fines de 1962. *Rev Ven SAS* 29: 231, 1964.
- 3- BAQUERIZO L, MARMOL F: Encefalitis a virus transmitidos por artrópodos. I. Variedades, vectores y posibles reservorios. II. Confirmación serológica de un caso humano. *Rev Ecuador Hig Med Trop* 15: 139, 1958.
- 4- BAQUERIZO L, MARMOL F: Aislamiento del virus de la encefalitis equina de tipo venezolano del suero sanguíneo y faringe de un caso humano. *Rev Ecuador Hig Med Trop* 16: 1, 1959.
- 5- CARPIO F, MUSSGAY M, SATURNO A: Cuatro casos humanos de infección por el virus de encefalitis equina venezolana. *Acta Científica Venezolana* 13: 90, 1962.
- 6- CASSALS J, CURNEN E, THOMAS L: Venezuelan equine encephalomyelitis in man. *J Expt Med* 77: 521, 1943.
- 7- CASTILLO CE: Informe sobre una reciente epidemia de encefalitis equina venezolana en la zona norte del Estado Zulia, Venezuela. *Rev Ven SAS* 29: 325, 1964.

- 8- CLARKE DH, CASSALS J: Techniques for hemagglutination inhibition with arthropod borne viruses. *Am J Trop Med Hyg* 7: 561, 1962.
- 9- EHRENKRANZ J, SINCLAIR MC, BUFF E, LYMAN DO: The natural occurrence of Venezuelan equine encephalitis in United States. First case and epidemiological investigations. *New England J Med* 282: 298, 1970.
- 10- FOSSAERT H: Investigación de casos humanos de encefalitis equina venezolana. Diagnóstico de laboratorio. *Rev Ven SAS* 31: 843, 1966.
- 11- GOCHENOUR WS, BERGE TO, GLEISER CA, TIGERTT WD: Immunization of burros with living Venezuelan equine encephalomyelitis virus. *Am J Hyg* 75: 351, 1962.
- 12- JOHNSON KM, SHELOKOV A, PERALTA PH, DAMIN GJ, YOUNG NA: Recovery of Venezuelan equine encephalomyelitis virus in Panama. A fatal case in man. *Am J Trop Med Hyg* 17: 432, 1968.
- 13- KISSLING RE, CHAMBERLAIN RW, NELSON DE, STAMM DD: Venezuelan equine encephalomyelitis in horses. *Am J Hyg* 63: 274, 1956.
- 14- LEVI-CASTILLO R: The problem of human and equine encephalomyelitis in Ecuador. *Acta Trop* 9: 77, 1952.
- 15- NEGRETTE A: Encefalitis equina venezolana. *Invest Clin* 1(1): 11, 1960.
- 16- NEGRETTE A: Encefalitis equina venezolana. Manifestaciones clínicas iniciales. *Invest Clín* 3(4): 51, 1962.
- 17- NEGRETTE A: Encefalitis equina venezolana. Fórmula leucocitaria relativa. *Invest Clín* 5(9): 53, 1964.
- 18- NEGRETTE A, SULBARAN-SOLIS G: Encefalitis venezolana. Cifra de leucocitos y manifestaciones clínicas iniciales. *Invest Clín* 11(33): 11, 1970.
- 19- RYDER S, FINOL LT, SOTO AJ: Encefalitis equina venezolana. Comentarios acerca de la epidemia ocurrida en el Estado Zulia, Venezuela, a fines de 1969. *Invest Clín* 12(39): 52, 1971.
- 20- RYDER S: Encefalitis equina venezolana. Aspectos epidemiológicos de la enfermedad entre 1962 y 1971, en la Guajira venezolana. *Invest Clín* 13(3): 91, 1971.

- 21- SANMARTIN-BARBERI C, GROOT H, OSORNO-MESA E: Human epidemic in Colombia caused by the Venezuelan equine encephalomyelitis virus. *Am J Trop Med Hyg* 3: 283, 1954.
 - 22- SEVER JL: Application of a microtechnique to viral serological investigation. *J Immunol* 88: 320, 1962.
 - 23- SOTO AJ, FINOL LT, RYDER S: Estudio de un brote de encefalitis venezolana en el Distrito Páez del Estado Zulia, en octubre de 1968. *Invest Clín* 10(31): 45, 1969.
 - 24- SUTTON L, BROOKE C: Venezuelan equine encephalomyelitis due to vaccination in man. *JAMA* 155: 1473, 1954.
-