

## PROTOCOLO LABORATORIAL – MENINGITES VIRAIS

A meningite viral ou asséptica é causada, em geral, por enterovírus (poliovírus, echovírus, coxsackievírus A, coxsackievírus B, enterovírus-A71, enterovírus-D68 etc.). No entanto, outros vírus também podem causar meningite como o vírus do sarampo, da rubéola, da caxumba, o vírus Epstein-Barr, os vírus herpes tipo 1, 2 e 6 (roséola ou exantema súbito), o vírus varicela-zoster, o citomegalovírus, o eritrovírus B19, o adenovírus, o vírus influenza, os coronavírus, incluindo o SARS-CoV-2 e os arbovírus como o vírus da dengue, do chikungunya, da febre amarela e o Zika vírus.

Os enterovírus estão presentes na orofaringe e nas fezes de pessoas infectadas. O modo de transmissão é de pessoa a pessoa por meio de contaminação oral-oral (ou seja, por meio de gotículas/aerossóis da nasofaringe, por exemplo, quando do compartilhamento de alimentos, bebidas ou cigarros, do beijo, ou da tosse ou espirro) ou fecal-oral (por exemplo, quando da troca de fraldas ou ao ir ao banheiro e não lavar as mãos corretamente).

O diagnóstico laboratorial do vírus específico relacionado à meningite é recomendado em situações de surto/agregado de casos, quando o caso evolui para óbito e em casos isolados específicos. A identificação do vírus é de extrema importância para a vigilância epidemiológica e para as medidas de prevenção e controle. No contexto de um surto/ agregado de casos (ocorrência de doença em frequência inesperada) serão analisadas amostras de todos os casos. O número máximo de amostras por surto/local será orientado pela vigilância epidemiológica estadual.

A realização dos exames quimiocitológico, bacteroscopia, teste de aglutinação pelo látex e cultura de líquido e/ou sangue (hemocultura) é de responsabilidade dos laboratórios dos hospitais, municípios, e regiões de atendimento do caso.

O exame quimiocitológico do líquido permite a contagem e o diferencial das células, as dosagens de glicose e proteínas, e deste modo, expressa a intensidade do processo inflamatório/infeccioso e orienta a suspeita clínica. No primeiro exame quimiocitológico do líquido o predomínio pode ser de neutrófilos, podendo alterar para linfomonocitário em 6 a 48 horas, nas meningites virais (Quadro 1). O exame quimiocitológico não deve ser utilizado na conclusão do diagnóstico das meningites por sua baixa especificidade.



**Quadro 1.** Exame quimiocitológico de líquido nas meningites de acordo com a suspeita clínica

Diagnóstico	Aspecto	células (leucócitos/mm <sup>3</sup> )	proteína (mg/dL)	glicose (mg/dL)	Bacteroscopia Gram
Normal	límpido incolor	RN até 20 < 1ano até 10 > 1ano até 5	15 - 50	45 - 100	negativo
Meningite bacteriana	turvo purulento	> 500 (neutrófilos)	> 100	< 50	positivo*
Meningite viral	límpido	até 500 (linfócitos)	normal	normal	negativo
Meningite por fungo	límpido	> 10 (linfócitos e monócitos)	aumentado	diminuído	positivo**
Meningite por parasita	turvo	500 - 2000 (eosinófilos)	aumentado	normal	negativo

\*presença de cocos, diplococos, bacilos ou outros e coloração positiva ou negativa ao gram; \*\* presença de filamentos ou leveduras.

As amostras devem ser encaminhadas ao Núcleo de Gerenciamento de Amostras Biológicas do Instituto Adolfo Lutz (IAL) de São Paulo acompanhadas da ficha de encaminhamento e após preenchimento das fichas de notificação individual e/ou surto do SINAN-Net. Devido à complexidade dos testes, os resultados estarão concluídos, em média, no prazo de 30 dias.

Este protocolo laboratorial tem por objetivo aprimorar o acondicionamento, manuseio, manutenção e transporte de amostras biológicas destinadas ao diagnóstico e caracterização laboratorial dos agentes etiológicos que causam meningites virais.

## ENTEROVÍRUS

A detecção dos enterovírus pode ser realizada por meio do isolamento viral, da transcrição reversa – reação em cadeia pela polimerase em tempo real (RT-qPCR), da pesquisa de anticorpos neutralizantes (sorologia) ou pela imuno-histoquímica. Estes exames podem ser realizados em líquido, fezes, soro e fragmentos de tecidos de acordo com o orientado abaixo.



## Espécimes clínicos (amostras biológicas):

- **Líquor:** 3 a 5 mL; fezes: 2 a 8 gramas (1/3 do coletor universal); sangue: 5 mL, sem anticoagulante; soro: 3 mL; fragmento de tecido: mínimo 1 mm.

## Isolamento viral em culturas celulares

- **Líquor:** enviar uma amostra de cada caso. Coletar uma amostra (3 a 5 mL) na fase aguda (até o 3º dia a partir do início dos sintomas) em tubo de polipropileno estéril com tampa de rosca e estocar imediatamente em baixa temperatura (-70°C). Transportar em nitrogênio líquido ou gelo seco. Muito cuidado com o manuseio do nitrogênio líquido. Não utilizar vidraria, pois há o perigo de explodir, usar tubos de polipropileno com tampa de rosca (criotubos). A amostra de líquido proveniente de locais próximos ao IAL de São Paulo poderá ser enviada imediatamente após a coleta em banho de gelo (tubo de coleta acondicionado em saco plástico em contato direto com gelo comum) e o transporte deverá ocorrer em caixa isotérmica.
- **Fezes:** enviar uma amostra de cada caso. Coletar na fase aguda (até o 3º dia a partir do início dos sintomas) uma amostra de 2 a 8 gramas ou aproximadamente 1/3 da capacidade do coletor universal de fezes (potes plásticos com tampa de rosca). Estocar a -20°C e transportar em caixas isotérmicas com gelo reciclável. A realização do isolamento viral nas fezes está condicionada a entrada da 1ª e 2ª amostras de sangue ou soro (verificar as orientações do diagnóstico sorológico). O isolamento viral nas fezes só tem significado patológico quando ocorrer conversão sorológica. O(s) frasco(s) deve(m) ser devidamente identificado(s) com o nome completo do paciente, tipo de material enviado e data da coleta.

## Detecção e identificação do vírus por RT-qPCR

- **Líquor:** enviar uma amostra de cada caso. A amostra deve ser coletada e enviada ao IAL de modo semelhante ao orientado para o isolamento viral. A detecção viral por RT- qPCR pode ocorrer inclusive no líquido pós-óbito.
- **Fezes:** enviar uma amostra de cada caso. A amostra pode ser coletada após a fase aguda da doença e enviada ao IAL de modo semelhante ao orientado para o isolamento viral.



## **Diagnóstico sorológico (pesquisa de anticorpos para enterovírus)**

Enviar duas amostras de sangue (5 mL sem anticoagulante) ou soro (3 mL). Uma amostra na fase aguda da doença (até o 3º dia a partir do início dos sintomas) e uma amostra na fase de convalescença (15 a 20 dias após a primeira coleta). As amostras pareadas permitem verificar a conversão sorológica. Coletar no mínimo 5 mL de sangue em tubo estéril com tampa de borracha, sem anticoagulante, enviar imediatamente ao IAL e transportar em temperatura ambiente. Os soros podem ser estocados a -20°C e encaminhados ao IAL em caixa isotérmica com gelo reciclável. Não se esquecer de coletar a 2ª amostra de sangue 15 a 20 dias após a coleta da 1ª amostra, pois o exame só será realizado após o recebimento da 2ª amostra de sangue ou soro.

## **Detecção do vírus por imuno-histoquímica em fragmentos de tecidos**

Para pesquisa do antígeno viral específico, acondicionar cada fragmento de tecido/ órgão (mínimo: 1 mm) em frasco de boca larga (tipo coletor universal) contendo solução fixadora de formalina 10% ou formalina tamponada no volume de 20 vezes o volume do fragmento. Identificar o frasco com nome do paciente e o local de coleta do fragmento. Este procedimento requer no mínimo 24 horas para fixação adequada, preferencialmente 72 horas. Conservar e transportar em temperatura ambiente em caixa isotérmica. Evitar temperaturas acima de 40°C.

## **VÍRUS HERPES, VARICELA-ZOSTER E EPSTEIN-BAAR**

A detecção dos vírus herpes tipo 1, 2 e 6, do vírus varicela-zoster e do vírus Epstein- Baar pode ser realizada por meio da RT-qPCR ou da imuno-histoquímica. Estes exames podem ser realizados em líquido, fragmentos de tecidos e líquido vesicular. As amostras devem ser coletadas e enviadas de modo semelhante ao orientado para os enterovírus.

## **CITOMEGALOVÍRUS**

A detecção do citomegalovírus pode ser realizada por meio da RT-qPCR e da imuno- histoquímica. Estes exames podem ser realizados em líquido, fragmentos de tecidos e urina. Adicionalmente a sorologia pode ser realizada nos hospitais. O acondicionamento, manuseio e transporte de amostras deve ocorrer de acordo com o orientado no Manual Eletrônico de Exames do IAL de São Paulo.



## **CAXUMBA, SARAMPO, RUBÉOLA, ADENOVÍRUS E ERITROVÍRUS B19**

A detecção do vírus da caxumba pode ser realizada por meio da RT-qPCR em amostras de secreção das vias aéreas superiores e inferiores. A detecção dos vírus do sarampo e da rubéola pode ser realizada por meio da RT-qPCR, da imuno-histoquímica ou da pesquisa de anticorpos (sorologia). Estes exames podem ser realizados em líquido, fragmentos de tecidos, sangue, urina, saliva e secreção da nasofaringe. Há maior chance de identificação viral quando a amostra é coletada nos primeiros dias de exantema. Estes exames também poderão ser coletados na suspeita de panencefalite esclerosante subaguda (PEESA) e na suspeita de evento adverso pós-vacinal.

A detecção do adenovírus pode ser realizada por meio da RT-qPCR. Este exame pode ser realizado em líquido e fragmentos de tecidos. A pesquisa do eritrovírus B19 (parvovírus B19) é realizada por meio da RT-qPCR ou da pesquisa de anticorpos (sorologia). Estes exames podem ser realizados em líquido, fragmentos de tecidos e sangue nos hospitais e, em casos especiais e de surto, após discussão com a DDTR/CVE e autorização do Núcleo de Doenças Respiratórias do IAL de São Paulo por senha.

## **VÍRUS INFLUENZA E CORONAVÍRUS (incluindo SARS-CoV-2)**

A detecção do vírus influenza pode ser realizada por meio da RT-qPCR e da imuno-histoquímica em amostras de secreção das vias aéreas superiores e inferiores, de líquido e fragmentos de tecidos. A detecção viral por RT-qPCR pode ocorrer inclusive no líquido e no sangue pós-óbito. A detecção do vírus SARS-CoV-2 pode ser realizada por meio da RT-qPCR e da imuno-histoquímica em amostras de secreção das vias aéreas superiores e inferiores, de líquido, fragmentos de tecidos e urina. A detecção viral por RT-qPCR pode ocorrer inclusive no líquido pós-óbito. A detecção do vírus SARS-CoV-2 também pode ser realizada por meio da pesquisa de anticorpos (sorologia). Estes exames também poderão ser coletados na suspeita de evento adverso pós-vacinal.

## **ARBOVÍRUS**

A detecção do vírus da dengue pode ser realizada por meio do isolamento viral, da RT-qPCR, da imuno-histoquímica ou da pesquisa de anticorpos (sorologia). Estes exames podem ser realizados em líquido, fragmentos de tecidos e sangue, inclusive em sangue pós-óbito. A detecção do vírus chikungunya pode ser realizada por meio do isolamento



viral, da RT-qPCR ou da pesquisa de anticorpos (sorologia). Estes exames podem ser realizados em líquido, fragmentos de tecidos, sangue e sangue pós-óbito. A detecção do vírus da febre amarela pode ser realizada por meio do isolamento viral, da RT-qPCR, da imunohistoquímica e da pesquisa de anticorpos (sorologia). Estes exames podem ser realizados em líquido, fragmentos de tecidos, sangue e inclusive sangue pós-óbito. Estes exames também poderão ser coletados na suspeita de evento adverso pós-vacinal. A detecção do Zika vírus pode ser realizada por meio do isolamento viral, da RT-qPCR e da pesquisa de anticorpos (sorologia). Estes exames podem ser realizados em líquido, fragmentos de tecidos, urina, sangue e sangue pós-óbito.

## REFERÊNCIAS

Manual eletrônico de exames do Instituto Adolfo Lutz (IAL) - São Paulo. Disponível em: <http://www.ial.sp.gov.br/ial/servicos/exames-amostras-biologicas>.

Laboratory biosafety manual, 4ed. 2020. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240011311>.

Meningites. São Paulo (Estado) Secretaria da Saúde. Coordenadoria de Controle de Doenças. Centro de Vigilância Epidemiológica "Prof. Alexandre Vranjac". Guia de Vigilância Epidemiológica. 1º ed. São Paulo: CVE, 2012, Caderno 3. Divisão de Doenças de Transmissão Respiratória, p.11-20.

Outras Meningites. Guia de Vigilância em Saúde: volume único. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. 4º ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2019, capítulo 1, p.45-69.

Manual dos Centros de Referência para Imunobiológicos Especiais. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Imunização e Doenças Transmissíveis, Coordenação-Geral do Programa Nacional de Imunizações.

5. ed. – Brasília: Ministério da Saúde, 2019, 174p. American Academy of Pediatrics. Enterovirus (Nonpoliovirus) (Group A and B Coxsackieviruses, Echoviruses, Numbered Enteroviruses). In: Kimberlin DW, Barnett ED, Lynfield K, Sawyer MH. eds. Red Book: 2021 Report of the Committee on Infectious Diseases. 32<sup>nd</sup> ed. Itasca, IL: American Academy of Pediatrics; 2021:315-8.

American Academy of Pediatrics. Adenovirus Infections. In: Kimberlin DW, Barnett ED, Lynfield K, Sawyer MH. eds. Red Book: 2021 Report of the



Committee on Infectious Diseases. 32<sup>nd</sup> ed. Itasca, IL: American Academy of Pediatrics; 2021:188-90.

American Academy of Pediatrics. Arboviruses. In: Kimberlin DW, Barnett ED, Lynfield K, Sawyer MH. eds. Red Book: 2021 Report of the Committee on Infectious Diseases. 32<sup>nd</sup> ed. Itasca, IL: American Academy of Pediatrics; 2021:202-9.

American Academy of Pediatrics. Coronaviruses, Including SARS-CoV-2 and MERS-CoV. In: Kimberlin DW, Barnett ED, Lynfield K, Sawyer MH. eds. Red Book: 2021 Report of the Committee on Infectious Diseases. 32<sup>nd</sup> ed. Itasca, IL: American Academy of Pediatrics; 2021:280-5.

American Academy of Pediatrics. Herpes Simplex. In: Kimberlin DW, Barnett ED, Lynfield K, Sawyer MH. eds. Red Book: 2021 Report of the Committee on Infectious Diseases. 32<sup>nd</sup> ed. Itasca, IL: American Academy of Pediatrics; 2021:407-17.

Liphaus BL, Yu ALF, Ferreira PM, Endo JAG, Silva MR, Carvalhanas TRMP. Meningite: O que precisamos saber? (Meningitis: What do we need to know?). Boletim Epidemiológico Paulista (BEPA) 2018; 15(178):23-32.

Figueira GCN, Carvalhanas TRMP, Okai MIG, Yu ALF, Liphaus BL. Avaliação do sistema de vigilância das meningites no município de São Paulo, com ênfase para doença meningocócica. Boletim Epidemiológico Paulista (BEPA) 2012; 9(97):5-25.

Peres LVC, Carvalhanas TRMP, Barbosa HA, Gonçalves MIC, Timenetsky MCST, Campéas AE. Meningite viral. Boletim Epidemiológico Paulista (BEPA) 2006; 30:9-12.

*Documento elaborado e revisado pelas equipes técnicas do Núcleo de Doenças Entéricas/Centro de Virologia/ Instituto Adolfo Lutz (IAL/CCD/SES-SP) e da Divisão de Doenças de Transmissão Respiratória (DDTR/CVE/CCD/SES-SP), São Paulo, Brasil, em fevereiro de 2025.*