



PROTOCOLO LABORATORIAL: MENINGITES VIRAIS

Atualização – novembro de 2017

A **meningite viral** ou asséptica é causada em geral por enterovírus (poliovírus, echovírus, coxsackievírus A, coxsackievírus B, enterovírus E71, enterovírus D68, etc). No entanto, outros vírus também podem causar meningite como o vírus do sarampo, da caxumba, o vírus Epstein-Barr, o herpes simples, o vírus varicela-zoster, o vírus influenza, o citomegalovírus 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 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.

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DOS ENTEROVÍRUS

A detecção dos enterovírus pode ser realizada por meio do isolamento viral, da reação em cadeia pela polimerase em tempo real (qPCR), da pesquisa de anticorpos (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

1. 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.



A amostra de líquido proveniente de locais próximos ao IAL-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 ser realizado 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.

OBS: A **realização do isolamento viral nas fezes está condicionada** a entrada da 1º e 2º amostras de sangue ou soro (verificar as orientações do diagnóstico sorológico). O isolamento viral nas fezes só tem significado patológico quando ocorrer conversão sorológica.

2. Detecção e identificação do vírus por qPCR

LÍQUOR: Enviar uma amostra de cada caso. A amostra deve ser coletada e enviada ao IAL de modo semelhante ao isolamento viral.

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 isolamento viral.

3. Diagnóstico sorológico (pesquisa de anticorpos para enterovirus)

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 à -20°C e encaminhados ao IAL em caixa isotérmica com gelo reciclável.

OBS: O exame somente será realizado após o recebimento da 2ª amostra de sangue ou soro.

4. Detecção do enterovírus 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 topografia. 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.

OBS: O exame imuno-histoquímica em fragmentos de tecidos é realizado no Centro de Patologia do Instituto Adolfo Lutz, telefone (11) 3068-2870 ou 2871.

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DOS VÍRUS HERPES TIPO I, II, VI, DO VÍRUS VARICELA-ZOSTER E DO VÍRUS EPSTEIN-BAAR

A detecção dos vírus herpes tipo I, II, VI, varicela-zoster e Epstein-Baar pode ser realizada por meio do isolamento viral, da qPCR e da imuno-histoquímica.

Estes exames podem ser realizados em líquido e fragmentos de tecidos. As amostras devem ser coletadas e enviadas de modo semelhante ao orientado para os enterovírus.

Para mais informações consultar <http://www.ial.sp.gov.br/ial/servicos/exames-amostras-biologicas>.

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DO CITOMEGALOVÍRUS

A detecção do citomegalovírus pode ser realizada por meio do isolamento viral e da qPCR.

Estes exames podem ser realizados em líquido, fragmentos de tecidos e urina.

As amostras devem ser coletadas e enviadas de acordo com o orientado em <http://www.ial.sp.gov.br/ial/servicos/exames-amostras-biologicas>.

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DOS VÍRUS DA CAXUMBA, DO SARAMPO, DA RUBÉOLA E DO ERITROVÍRUS B19

A detecção do **vírus da caxumba** pode ser realizada por meio da 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 do isolamento viral, da qPCR ou da pesquisa de anticorpos (sorologia). Estes exames podem ser realizados em líquido, fragmentos de tecidos, sangue, urina e secreção nasofaríngea.

As amostras devem ser coletadas e enviadas de acordo com o orientado em <http://www.ial.sp.gov.br/ial/servicos/exames-amostras-biologicas>.



A detecção do **vírus da Dengue** (DENV) e do **vírus Zika** (ZIKV) é realizada por meio da qPCR ou da pesquisa de anticorpos (sorologia). Estes exames podem ser realizados em líquido e sangue nos hospitais e em casos especiais após discussão com a DDTR e autorização do IAL-São Paulo por senha.

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DOS ARBOVÍRUS

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

A detecção do **vírus Chikungunya** pode ser realizada por meio da qPCR ou da pesquisa de anticorpos (sorologia). Estes exames podem ser realizados em líquido, fragmentos de tecidos e sangue.

A detecção do **Zika vírus** pode ser realizada por meio da qPCR. Estes exames podem ser realizados em líquido, fragmentos de tecidos, urina e sangue.

A detecção do **vírus da Febre Amarela** pode ser realizada por meio do isolamento viral, da qPCR e da pesquisa de anticorpos (sorologia). Estes exames podem ser realizados em líquido, fragmentos de tecidos, sangue e inclusive sangue pós-óbito.

As amostras devem ser coletadas e enviadas de acordo com o orientado em <http://www.ial.sp.gov.br/ial/servicos/exames-amostras-biologicas>.

OBSERVAÇÕES

- 1- As amostras deverão ser acompanhadas da Ficha de Encaminhamento contendo o número do SINAN. Em caso de surto, preencher e encaminhar a Ficha de Notificação de Surto do SINAN.
- 2- O(s) frasco(s) deve(m) ser devidamente identificado(s) com o nome completo do paciente, tipo de material enviado e data da coleta.
- 3- Não esquecer de coletar a 2ª amostra de sangue 15 a 20 dias após a coleta da 1ª amostra.
- 4- 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).
- 5- Informar ao paciente que os resultados serão concluídos e entregues no prazo de 30 dias em média, devido à complexidade dos testes.



GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO
SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
COORDENADORIA DE CONTROLE DE DOENÇAS
CENTRO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA PROF. ALEXANDRE VRANJAC
DIVISÃO DE DOENÇAS DE TRANSMISSÃO RESPIRATÓRIA
Av. Dr. Arnaldo, 351 – 6º andar – Sala 601 – São Paulo/SP – CEP: 01246-000



Tel.: (11) 3068-4418/3068-8236 e-mail: divisaos@saude.sp.gov.br

6- Envio para: Núcleo de Doenças de Transmissão Respiratória, Instituto Adolfo Lutz, Avenida Dr. Arnaldo, 355, São Paulo - SP – CEP: 01246-902.

7- Para informações adicionais entrar em contato com os responsáveis pelas áreas técnicas dos laboratórios: Centro de Virologia, Dra. Maria do Carmo Sampaio Tavares Timenetsky, (11) 3068-2904, virologia@ial.sp.gov.br; Núcleo de Doenças Entéricas, Rita de Cássia Compagnoli Carmona, (11) 3068-2909, doencasentericas@ial.sp.gov.br; Núcleo de Doenças Respiratórias, Ana Maria Sardinha (11) 3068-2906, doencasrespiratorias@ial.sp.gov.br; Núcleo de Doenças Transmitidas por Vetores, Renato Pereira de Sousa, (11) 3068-2901, doencasporvetor@ial.sp.gov.br.

8- Mais informações no site do IAL em Manual Eletrônico de Exames - Amostras Biológicas, <http://www.ial.sp.gov.br/ial/servicos/exames-amostras-biologicas>.

Este documento foi elaborado pela equipe técnica da Divisão de Doenças de Transmissão Respiratória do CVE/CCD/SES-SP e pelas equipes técnicas do Centro de Virologia do IAL - São Paulo em novembro de 2017.