



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

LUCAS LOPES LEON

INVESTIGAÇÃO MOLECULAR DE VÍRUS CAUSADORES DE SÍNDROMES
NEUROLÓGICAS EM PACIENTES ADULTOS ATENDIDOS NO HOSPITAL DE
CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS NO PERÍODO DE
2017-2018.

CAMPINAS

2020

LUCAS LOPES LEON

INVESTIGAÇÃO MOLECULAR DE VÍRUS CAUSADORES DE SÍNDROMES
NEUROLÓGICAS EM PACIENTES ADULTOS ATENDIDOS NO HOSPITAL DE
CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS NO PERÍODO DE
2017-2018.

Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Médicas da Universidade Estadual de Campinas
como parte dos requisitos exigidos para a
obtenção do título de Doutor em Ciências, na área
de concentração Clínica Médica.

ORIENTADORA: PROF^a DR^a SANDRA HELENA ALVES BONON

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À
VERSÃO FINAL DA TESE DEFENDIDA
PELO ALUNO LUCAS LOPES LEON, E
ORIENTADA PELA PROF^a. DR^a.
SANDRA HELENA ALVES BONON.

CAMPINAS

2020

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Ciências Médicas
Maristella Soares dos Santos - CRB 8/8402

L551i Leon, Lucas Lopes, 1992-
Investigação molecular de vírus causadores de síndromes neurológicas em pacientes adultos atendidos no Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas no período de 2017-2018 / Lucas Lopes Leon. – Campinas, SP : [s.n.], 2020.

Orientador: Sandra Helena Alves Bonon.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Infecções virais do sistema nervoso central. 2. Infecções por arbovírus. 3. Técnicas de diagnóstico molecular. I. Bonon, Sandra Helena Alves. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Molecular investigation of viruses associated with neurological syndromes in adult patients attended in the Hospital of Clinics of the University of Campinas in the period of 2017-2018

Palavras-chave em inglês:

Central nervous system viral infection

Arbovirus infections

Molecular diagnostic techniques

Área de concentração: Clínica Médica

Titulação: Doutor em Ciências

Banca examinadora:

Sandra Helena Alves Bonon [Orientador]

Magnun Nueldo Nunes dos Santos

Fabiano Reis

Eduardo José Caldeira

Víctor Hugo Aquino Quintana

Data de defesa: 17-12-2020

Programa de Pós-Graduação: Clínica Médica

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <http://orcid.org/0000-0002-5640-0798>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/0424735429209860>

COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DOUTORADO

LUCAS LOPES LEON

ORIENTADORA: PROF^ª DR^ª SANDRA HELENA ALVES BONON

MEMBROS TITULARES:

- 1. PROF^ª. DR^ª. SANDRA HELENA ALVES BONON**
 - 2. PROF. DR. MAGNUM NUELDO NUNES DOS SANTOS**
 - 3. PROF. DR. FABIANO REIS**
 - 4. PROF. DR. EDUARDO JOSÉ CALDEIRA**
 - 5. PROF. DR. VICTOR HUGO AQUINO QUINTANA**
-

Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

A ata de defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da FCM.

Data de Defesa: 17/12/2020

AGRADECIMENTOS

Considero uma honra ter a oportunidade de, formalmente, agradecer aqueles que contribuíram de alguma forma para a conclusão de mais uma etapa em minha jornada.

Agradeço a minha mãe e meu pai. Se algo consegui, é graças ao incondicional amor e incentivo de vocês. Sem vocês, nada teria sentido.

Aos meus irmãos Thales e Sofia, pelo amor, amizade, carinho e incentivo.

À minha tia Maria que, com amor, sempre me incentivou e apoiou em cada decisão.

À Karina, por todo incentivo, paciência e amor. Agradeço a compreensão com minhas falhas e ausência. Obrigado por estar ao meu lado.

Agradeço a professora doutora Sandra Helena Alves Bonon, pela confiança em meu trabalho e conhecimento. Sinto-me honrado em mencioná-la como uma das responsáveis em minha formação profissional. Sou grato por ter sido membro de sua equipe. Agradeço muito todas as valiosas orientações, conselhos, ensinamentos e amizade.

A todos os amigos e colegas que estiveram comigo durante esses anos: Obrigado Rodrigo, Neuzir, Júlio, Silvia, Carla, Daniel, Lídia, Raissa, Suzana e Leticia. Agradeço toda ajuda na realização desse trabalho. Mas mais que isso, sou muito grato ao carinho e amizade de cada um de vocês.

Aos professores Célia, Magnun e Fatima. A confiança e o incentivo de muitos de vocês foi fundamental para minha jornada. Sou grato pelos ensinamentos, apoio e motivação.

A equipe do Laboratório de Líquidos Biológicos, sempre gentis e solícitos, contribuíram muito com a realização desse trabalho.

Aos pacientes e familiares que confiaram na seriedade da pesquisa e na relevância da ciência.

A Comissão de Pós Graduação da FCM-UNICAMP e ao secretário Yuri, por todo apoio e auxílio sempre que necessário.

A agência financiadora do projeto ao qual o presente estudo se originou, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) - 2016/17031-4.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

Infecções virais do sistema nervoso são consideradas emergências médicas devido as manifestações clínicas relacionadas. Os diagnósticos associados, como meningites, encefalite e meningoencefalites, representam importante parcela das manifestações clínicas proveniente de neuroinfecções e são causadoras de lesões neurológicas, sequelas e até morte. Uma série de vírus apresentam neurovirulência, dentre eles os enterovírus, os herpesvírus humanos e os arbovírus são notórios. A rotina fornece investigação relevante, embora não detecte agentes virais por técnicas clássicas, resultando em uma lacuna investigativa. Com essa lacuna, há escassez de informações quanto a vigilância virológica e dificuldade na aquisição de diagnóstico acurado. A virologia clínica associada às tecnologias diagnósticas podem contribuir na redução da morbimortalidade de pacientes com neuroinfecções, direcionar a um melhor prognóstico e oferecer informações sobre as espécies circulantes. O objetivo do estudo foi investigar a presença de genomas de vírus *Herpesviridae*, *Picornaviridae*, *Flaviviridae* e *Togaviridae* em amostras de líquido cefalorraquidiano (LCR) de pacientes adultos (≥ 18 anos de idade) com suspeita de infecção de sistema nervoso e sem agente etiológico definido, internados ou não, atendidos no HC/Unicamp, de janeiro de 2017 a julho de 2018; comparar a hipótese diagnóstica e parâmetros laboratoriais de proteínas, glicose, hemácias e leucócitos em LCR de pacientes com agentes virais identificados vs. aqueles sem identificação; e avaliar padrão sindrômico nos pacientes com agente viral identificados. As investigações foram realizadas por meio das técnicas de amplificação de ácido nucleico (PCR, RT-PCR e Real-time PCR) em uma amostra de LCR por paciente. Foram analisadas um total de 420 amostras de LCR, das quais a detecção de genomas virais ocorreu em 148/420 (35,2%) amostras de LCR: 1/148 (0,7%) caso positivo de herpesvírus simplex 1; 2/148 (0,7%) de herpesvírus simplex 2; 8/148 (5,4%) de varicela-zoster vírus; 4/148 (2,7%) de Epstein-Barr vírus; 1/148 (0,7%) de citomegalovírus humano; 32/148 (21,6%) de herpesvírus humano 6; 30/148 (20,3%) de enterovírus não-pólio; 67/148 (45,3%) de dengue vírus, sendo detectado os 4 sorotipos em circulação; 3 (5,4%) de vírus da febre amarela; 21 (14,2%) amostras positivas para investigação do genoma do vírus Zika. Triagem infecciosa foi a hipótese diagnóstica mais frequentemente

observada nos pacientes, sendo cefaleia registrada em 62/148 (41,9%) e apenas 47/148 (31,7%) dos pacientes apresentaram febre. 56/148 (37,8%) dos pacientes fizeram uso de antibióticos, embora sem evidência laboratorial da presença de agente bacteriano nas amostras. Comparativo entre as amostras com agente viral identificado e aquelas que permaneceram sem agente determinado demonstrou ausência de diferença estatística significativa entre os parâmetros laboratoriais obtidos em análise de LCR para proteína total, glicose, hemácias e leucócitos. Neste estudo, pioneiro em nossa população, foi possível identificar presença de genomas virais em LCR de pacientes adultos com síndrome neurológica atendidos no HC/Unicamp sem agente etiológico definido pelas técnicas microbiológicas de rotina do hospital. Com esse estudo, foi possível oferecer, informações sentinelas a respeito da vigilância virológica sobre viroses em circulação no período estudado e auxiliar na complementação do diagnóstico que pode ser aplicável em intervenções específicas para redução da morbimortalidade relacionadas a essas infecções no sistema nervoso e proporcionar o tratamento adequado aos pacientes.

Palavras-chave: Infecções Virais do Sistema Nervoso Central, Infecções por arbovírus, Técnicas de Diagnóstico Molecular.

ABSTRACT

Viral infections of the nervous system are considered medical emergencies due to several manifestations. The diagnoses related to neuroinfectious diseases, such as meningitis, encephalitis and meningoencephalitis, represent an important part of these clinical manifestations and are able to cause neurological injuries, sequelae and even death. A series of viruses present neurovirulence, among them enteroviruses, human herpesviruses and arboviruses are notorious. The routine provides relevant diagnosis, although it does not detect viral agents by classical techniques, resulting in an investigative gap. With this gap, there is a lack of information regarding virological surveillance and difficulty in acquiring an accurate diagnosis. The clinical virology associated with the diagnostic technologies can contribute to reduce the morbimortality of patients with neuroinfections, leading to a better prognosis and offer information about the circulating species. The aim of the study was to investigate the presence of *Herpesviridae*, *Picornaviridae*, *Flaviviridae* and *Togaviridae* virus genomes in cerebrospinal fluid (CSF) samples from adult patients (≥ 18 years of age) with suspected nervous system infection and without a defined etiological agent, hospitalized or not, attended at HC/Unicamp, from January 2017 to July 2018; to compare the diagnostic hypothesis and laboratory parameters of proteins, glucose, red blood cells and leukocytes in CSF of patients with identified viral agents vs. those without identification; and assess syndromic pattern in patients with identified viral agents. The investigations were carried out using nucleic acid amplification techniques (PCR, RT-PCR and Real-time PCR) in a CSF sample per patient. A total of 420 CSF samples were analyzed, of which the detection of viral genomes occurred in 148/420 (35.2%) CSF samples: 1/148 (0.7%) positive case of herpesvirus simplex 1; 2/148 (0.7%) of herpesvirus simplex 2; 8/148 (5.4%) of varicella-zoster virus; 4/148 (2.7%) of Epstein-Barr virus; 1/148 (0.7%) of human cytomegalovirus; 32/148 (21.6%) of human herpesvirus 6; 30/148 (20.3%) of non-polio enterovirus; 67/148 (45.3%) of dengue virus, being detected the 4 serotypes in circulation; 3 (5.4%) of yellow fever virus; 21 (14.2%) positive samples regard Zika virus genome. Infectious screening was the most common diagnostic hypothesis observed in patients, with headache recorded in 62/148 (41.9%) and only 47/148 (31.7%) of the patients had fever. 56/148 (37.8%) of the patients used antibiotics,

although without laboratory evidence of the presence of bacterial agent in the samples. Comparison between the samples with identified viral agent and those that remained without a determined agent demonstrated the absence of a statistically significant difference between the laboratory parameters obtained in CSF analysis for total protein, glucose, red blood cells and leukocytes. In this study, pioneer in our population, it was possible to identify the presence of viral genomes in CSF of adult patients with neurological syndrome seen at HC/Unicamp without etiologic agent defined by the hospital's routine microbiological techniques. We were able to offer sentinel information regarding virological surveillance of viruses in circulation during the study period and assist in complementing the diagnosis that may be applicable in specific interventions to reduce morbimortality related to these infections in the nervous system.

Keywords: Central nervous system viral infection, arbovirus infections, molecular diagnostic techniques

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Sequência de iniciados que flanqueiam regiões gênicas virais utilizadas conforme metodologias de PCR e NPCR neste estudo	45
Tabela 2: Sequência de iniciados e sondas que flanqueiam regiões gênicas virais utilizados conforme metodologias de PCR em tempo real para detecção dos arbovírus incluídos neste estudo.....	47
Tabela 3. Motivos para exclusão das amostras de LCR obtidas no período de 2017-2018 oriundas de pacientes atendidos no HC/Unicamp.....	49
Tabela 4: Características demográficas, hipóteses diagnósticas e prevalência de positividade referentes às amostras de LCR dos pacientes incluídos no estudo.....	51
Tabela 5: Comparativo entre os resultados dos parâmetros laboratoriais padrão referentes a amostra LCR com resultados positivos e negativos mediante identificação viral dos pacientes atendidos no HC/Unicamp entre 2017-2018.....	52
Tabela 6: Frequência dos resultados dos testes de identificação de genomas virais positivos associadas às HD apresentadas pelos pacientes adultos com síndromes neurológicas atendidos no HC/Unicamp entre 2017-2018.....	55
Tabela 7: Resultados dos valores de teste t de Fisher entre as HD dos pacientes com genomas dos vírus identificados positivos no LCR e os resultados negativos.....	57
Tabela 8: Variáveis sintomáticas e complementares atreladas aos pacientes adultos com síndromes neurológicas e prevalência viral dos casos de LCR positivo pelas técnicas de amplificação de ácido nucleico.....	58
Tabela 9: Compilação das hipóteses diagnósticas e variáveis sintomatológicas observadas relacionadas aos pacientes com genomas virais identificados nas amostras de LCR	60

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Casos de detecção de dois ou mais vírus (codetecção) nas amostras por meio das técnicas de amplificação de ácido nucleico (NAAT) nas amostras estudadas.....	53
Figura 2: Dispersão sazonal das amostras de LCR obtidas para identificação de genomas virais separadas por identificação positiva por NAAT e identificação negativa.....	64
Figura 3: Dispersão sazonal da detecção viral por meio de NAAT nas amostras de LCR separadas entre herpesvírus, enterovírus e arbovírus.....	65
Figura 4: Dispersão sazonal da detecção viral dos arbovírus por meio de NAAT nas amostras de LCR.	66

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A	Adenina
ATB	Antibióticos
ATV	Antivirais
AURA	Aura Vírus
BHE	Barreira hematoencefálica
BHL	Barreira hematoliquórica
C	Citosina
CHIKV	Vírus Chikungunya
ciHHV-6	Herpesvírus humano-6 integrado ao cromossomo
DENV	Vírus Dengue
DN	Doença Neurodegenerativa
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DP	Desvio Padrão
EBV	Vírus Epstein-Barr
EEEV	Vírus da Encefalite Equina do Leste
EV	Enterovírus não-pólio
F	Feminino
FCM	Faculdade de Ciências Médicas
G	Guanina
H ₂ O	Fórmula química da água
HC	Hospital de Clínicas
HCMV	Citomegalovírus humano
HD	Hipótese diagnóstica
HHV	Herpesvírus humano
HHV-3	Herpesvírus humano 3
HHV-4	Herpesvírus humano 4
HHV-5	Herpesvírus humano 5
HHV-6	Herpesvírus humano 6
HHV-7	Herpesvírus humano 7
HHV-8	Herpesvírus humano 8
HIV	Vírus da imunodeficiência humana

HSV-1	Herpes Simplex Vírus tipo 1
HSV-2	Herpes Simplex Vírus tipo 2
IL	Interleucina
ILHV	Vírus Ilhéus
LCR	Líquido cefalorraquidiano
M	Masculino
MAYV	Mayaro Vírus
MMI	Membros inferiores
MMS	Membros superiores
NAAT	Técnica de amplificação de ácido nucléico
NEG	Negativo
NPCR	Reação em Cadeia da Polimerase tipo Nested
NS	Não significativo estatisticamente
<i>p-value</i>	Valor de p
pb	Pares de bases
PCR	Reação em cadeia da polimerase
POS	Positivo
qPCR	Reação em cadeia da polimerase em Tempo Real quantitativa
Real-time PCR	Reação em cadeia da polimerase em Tempo Real
RNA	Ácido ribonucleico
RNC	Rebaixamento de nível de consciência
ROCV	Vírus Rocio
RPM	Rotações por minuto
RT-PCR	Transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase
SD	Síndrome
SGB	Síndrome de Guillain-Barré
SLEV	Vírus da Encefalite de St. Louis
SN	Sistema Nervoso
SNC	Sistema Nervoso Central
SNP	Sistema Nervoso Periférico
T	Timina
<i>Taq</i>	<i>Thermus aquaticus</i>
TNF	Fator de necrose tumoral

Unicamp	Universidade Estadual de Campinas
VEEV	Vírus da Encefalite Equina da Venezuela
VZV	Varicela Zoster Vírus
WEEV	Vírus da Encefalite Equina do Oeste
WNV	Vírus da febre do Nilo Ocidental
YFV	Vírus da Febre Amarela
ZIKV	Zika vírus

LISTA DE SÍMBOLOS

°C	Grau Celsius
%	Símbolo de porcentagem
<	Menor que
>	Maior que
5' 3'	Sentido de transcrição
μL	Microlitro
DI	Decilitro
MI	Mililitro
mm ³	Milímetro cúbico

SUMARIO

1. INTRODUÇÃO	18
1.1 Vírus neurotrópicos	20
1.1.1 Família <i>Herpeviridae</i>	20
1.1.2 Arbovírus	25
1.1.3 Família <i>Picornaviridae</i>	30
1.1.4 Neurotropismo viral	31
1.2 Diagnóstico laboratorial de alteração neurológica	36
2. OBJETIVOS	40
2.1 Objetivo geral	40
2.2 Objetivos específicos	40
3. PACIENTES E MÉTODOS.....	41
3.1 Pacientes.....	41
3.2 Métodos.....	43
3.3 Análise estatística	48
4. RESULTADOS	49
5. DISCUSSÃO	67
6. CONCLUSÕES	79
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	81
Apêndice I	91
Apêndice II	129
ANEXO I.....	136
ANEXO II.....	139

1. INTRODUÇÃO

As infecções virais do sistema nervoso central (SNC) podem ser causadas por grande variedade de vírus. O diagnóstico da origem etiológica dessas infecções pode ter uma série de obstáculos, uma vez que a sintomatologia é diversa e, por vezes, semelhantes. Vários agentes podem ter um papel nos desfechos neurológicos, mesmo quando infecções de origem bacteriana e fúngica são descartadas. Em relação às infecções virais, os arbovírus, os enterovírus não-pólio (EVs) e os herpesvírus humano (HHVs) são vírus notórios, associados a diversas manifestações clínicas graves (1-3).

As manifestações de neuroinfecção viral geralmente se apresentam com quadro clínico de início súbito, agudo e, por vezes, de alta intensidade, a depender da relação parasita-hospedeiro. Com isso, agentes etiológicos distintos podem estar associados manifestações relacionadas ao tecido atingido. Meningites, encefalites, meningoencefalites e mielites, com apresentações relacionadas ao dano neurológico propiciado pela presença viral nessas estruturas, com cefaleias, convulsão e alteração em nível de consciência, podendo evoluir para sequelas, coma ou até morte do indivíduo (1, 2, 4-6).

As infecções com o acometimento das meninges são mais comuns na população pediátrica, embora acometam pacientes em todas as faixas etárias, provocando cefaleia, febre e outros sintomas. A encefalite é um processo agudo, geralmente difuso, que atinge o cérebro, causando alterações em nível de consciência, febre, convulsões e sintomas neurológicos focais. E nesse contexto, os efeitos negativos das infecções por agentes etiológicos virais são de grande relevância. A presença desses agentes pode estar relacionada ao acometimento, inclusive, do conjunto dessas estruturas morfológicas, em quadros de meningoencefalite, com o agente etiológico acometendo as camadas meníngeas e o parênquima cerebral. Mielite, inflamações na medula espinal, também podem ser provocadas por agentes infecciosos virais, e pode se apresentar como paralisia flácida aguda ou disfunção neurológica devido ao envolvimento de tratos de substância branca. As infecções medulares podem levar à síndrome da mielite transversa, onde os indivíduos afetados apresentam paralisia, perda de sensibilidade e comprometimento da bexiga (7-9).

Populações aos quais coabitam ambiente com circulação endêmica desses

agentes virais neurotrópicos e seus vetores estão em constante risco de contrair infecções e desenvolver quadros graves. Além das mazelas causadas de forma individual, há também prejuízo socioeconômico atrelados a morbidade trazida por essas infecções, sobretudo associados as sequelas pós-infecção (1, 2, 4, 5, 10).

Os vírus neurotrópicos emergentes, como vírus Zika (ZIKV) e dengue (DENV), trouxeram maior visibilidade para os riscos associados as infecções virais agudas do SNC. Infecções virais responsáveis por diversas doenças, inclusive neurológicas, como microcefalia, síndrome de Guillain-Barré (SGB), meningoencefalite, e outros diversos casos, podendo progredir para, além de sepse, morte mostram a relevância do diagnóstico para o paciente e o conhecimento dos agentes para as medidas de saúde pública. As sequelas podem ser reconhecidas por manifestações distintas incluindo alterações cognitivas e motoras, as quais estão relacionadas à patogênese do comportamento viral e a topografia das lesões encefálicas, trazendo relevância para o seu diagnóstico. Estudos de vigilância e de aspectos epidemiológicos em regiões geográficas onde há diferentes vírus em circulação concomitante podem nortear diretrizes para melhor atenção quanto aos agentes etiológicos que põem em risco a saúde das populações. Para tal, conhecer quais são esses agentes em circulação é fundamental (1, 2, 4, 5).

Assim, a aplicação de técnicas apropriadas para fornecer informação acerca do diagnóstico das neuroinfecções pode direcionar a um melhor prognóstico para o paciente, bem como direcionar medidas epidemiológicas acuradas para investigação de casos semelhantes de maneira mais exata, contribuindo com as medidas de saúde pública. Nesse contexto, deve-se destacar que o diagnóstico laboratorial de rotina dessas infecções não costuma ser realizado na maior parte do Brasil, inclusive em hospitais de alta complexidade, apesar de sua importância. Com isso, a subdetecção pode ser um empecilho quando aos esforços de saúde pública, uma vez que o conhecimento quanto as espécies em circulação acontecem por meio dos esforços de vigilância virológica, sobretudo em momentos específicos, como em casos de aumento de notificação e surtos. Isso expõe, por exemplo, a carência de dados sobre os principais agentes associados a meningites virais baseados no sistema de saúde pública (1, 2, 4-6).

Com o crescente número de casos de neuroinfecções, como meningite, de provável etiologia viral na região de São Paulo, fica evidente a necessidade de estabelecer estratégias para compressão de quais são esses agentes em circulação.

Dessa forma, métodos que possibilitem diagnóstico rápido e de alta especificidade são fundamentais, como as técnicas de amplificação de ácidos nucleicos (NAAT) que se baseiam em reação em cadeia da polimerase (PCR) (1, 2, 4-6).

A aplicação de metodologias baseadas na literatura científica pode contribuir na determinação desses achados, como os estudos que mostram a relevância dessas técnicas, como a aplicação de variações do PCR pelo Centro de Controle de Doenças dos Estados Unidos da América (*Center of Disease Control*, em tradução livre) para identificação de ZIKV, por exemplo (11, 12).

Assim, mostra-se fundamental a existência de estudos para determinação de possíveis agentes virais em circulação, baseados em métodos já estabelecidos, para os pacientes com manifestações compatíveis com a suspeita de neuroinfecções. Com isso, espera-se corroborar com a relevância dessas investigações na rotina diagnóstica laboratorial, possibilitando manejo adequado para cada agente etiológico e estabelecimento de medidas de saúde pública por meio do reconhecimento das espécies em circulação, além de propiciar melhor prognóstico para os pacientes com presença de genoma viral em suas amostras, com possibilidade de relação entre a moléstia apresentada e a detecção viral.

1.1 Vírus neurotrópicos

1.1.1 Família *Herpesviridae*

Os vírus da família *Herpesviridae* são amplamente distribuídos dentro da espécie humana, presentes na maior parte das regiões do mundo, apresentam características de especificidade por espécie (espécie-específico). São capazes de infectar indivíduos de quaisquer idades, causando infecções em pacientes imunocomprometidos e imunocompetentes (3, 10, 13-16).

As infecções virais tendem a ser reconhecidas quando causam manifestações clínicas, mesmo que muitos dos casos não resultem em doença. Mas há uma característica comum aos vírus da família *Herpesviridae* (também chamados de herpesvírus – HHV) que é a capacidade de estabelecer latência e reativação em condições imunodepressoras, sendo considerados agentes oportunistas. Nesse estado de latência, o vírus tende a não se replicar, de forma que em condições adequadas, a reativação acontece. O genoma fica internalizado, na forma de

epissomas ou integração cromossômica, sem replicação. A reativação depende de vários fatores, por exemplo, a presença de estressores, como aumento da temperatura, sendo a febre um possível fator associado a reativação; estímulo em receptores, como a indução do ciclo lítico com provável relação sinérgica com outros agentes, como por exemplo, a hipótese que relaciona *Treponema pallidum* que, através de receptores tipo Toll-2, estimula reativação do Epstein-Barr vírus (EBV); e sinergismo com a resposta imunológica do hospedeiro, de forma que deficiência nessa resposta pode estimular reativação e permitir o aparecimento de manifestações clínicas da infecção. As principais vias de reativação e mecanismos para tal ainda não foram completamente elucidados, mas essa capacidade tem importância na manutenção da infecção por esses vírus, uma vez que esse estado permite evasão imunológica e garante perpetuação do vírus no indivíduo, sendo transmitido dentro da espécie com eficiência (3, 10, 13-18).

A família *Herpesviridae* é dividida em três subfamílias: Os *Alphaherpesvirinae*, uma subfamília que inclui os vírus Herpesvírus simplex 1 e 2 (HSV-1, HSV-2) e o vírus Varicella-Zoster (VZV), que estabelecem latência no tecido neuronal. Embora os *Betaherpesvirinae* - que inclui citomegalovírus humano (HCMV), herpesvírus humano 6 (HHV-6) e herpesvírus humano 7 (HHV-7) - e os *Gamaherpesvirinae* - que inclui o EBV e herpesvírus humano 8 (HHV-8) - não necessariamente estabeleçam latência em tecidos nervosos, também apresentam tropismo por esse tipo celular, podendo atingir o tecido nervoso e provocar lesões. O neurotropismo é comum a todos os HHVs conhecidos até hoje, com a gravidade da infecção associada à interação parasita-hospedeiro. Com isso, há diversas manifestações associadas a esses vírus, seja de acometimento das meninges, provocando quadros de meningite, do acometimento do parênquima encefálico, com manifestações de encefalite, ou ainda associado a lesão conjunta desses tecidos, com meningoencefalites. Essas alterações de SNC provocam uma série de alterações clínicas, como cefaleia, febre e outros quadros específicos, como déficit neurológico e rebaixamento de nível de consciência (3, 10, 13-16).

O *Alfaherpesvirus* HSV-1 possui genoma de 152 mil pares de bases (pb), com capsídeo icosaédrico, chegando a 110 nm. A infecção primária causada por esse vírus pode causar lesões da mucosa, principalmente da boca, com a formação de erupções. A excreção de partículas infectantes de HSV-1 por saliva pode ser observada em adultos e crianças, de forma assintomática, em até cerca de 9% dos

casos, sendo uma via de transmissão importante, junto com as infecções verticais. Manifestações graves também são observadas, como a encefalite herpética. Uma vez que o vírus estabelece latência nos nervos olfatórios e trigêmeos, o tecido cerebral pode ser atingido como rota de migração ascendente do vírus (16, 19, 20).

Com DNA fita dupla de cerca de 155 mil pb e características morfológicas semelhantes ao HSV-1, o HSV-2, tem tropismo e estabelece latência em tecido nervoso, mas este é amplamente relacionado ao tropismo em gânglios lombossacrais. Está relacionado ao herpes genital como manifestação clássica, mas pode provocar encefalites, meningites e mielites em neonatos, crianças, adultos, e pacientes senescentes. O contato de neonatos com o vírus pode acontecer no momento do nascimento, causando infecção que pode levar a encefalites (21, 22).

O VZV (ou HHV-3) é amplamente associado com a manifestação dérmica da catapora (varicela), uma infecção altamente contagiosa, mas que tende a ter curso benigno. Possui genoma de DNA fita dupla com aproximadamente 125 mil pb e é membro dos *Alfaherpesvirus*, junto ao HSV-1 e HSV2. O aparecimento de vesículas pode demonstrar reativação do vírus, que pela afinidade em diferentes gânglios, pode resultar em diferentes lesões de pele. Além da varicela, o VZV pode provocar a doença herpes zoster, que consiste no aparecimento de vesículas dérmicas dolorosas, em região geralmente limitada ao tronco. Entretanto, infecções de SN também são associadas ao vírus, inclusive em reativações virais sem as características de manifestação cutânea (*zoster sine herpette*) (23-25).

O EBV (ou HHV-4) foi descoberto em 1964 por Tony Epstein, Yvonne Barr e Burt Achong após cultivo de tecido de biopsia proveniente de Linfoma de Burkitt, embora hoje seja associado a outras manifestações linfoproliferativas e tumorais também. Seu genoma, DNA dupla fita, é composto por 184 mil pb. Com homologia gênica em até 85%, há dois diferentes genótipos incluídos na classificação que inclui o EBV, diferenciando-os como EBV-1 e EBV-2. Cerca de 90% da população mundial adulta é soropositiva para EBV. Transplante, transfusão sanguínea e contato com secreções contaminadas são vias de transmissão do vírus, incluindo a saliva, o que nomeia a manifestação mais frequentemente associada ao vírus, denominada mononucleose infecciosa, com o seu nome comum, a “doença do beijo”. Essa associação é feita devido ao tropismo viral por células epiteliais escamosas da orofaringe, onde ocorre a replicação viral e a liberação de vírions na saliva. As manifestações neurológicas provocadas pelo EBV tendem a ter uma redução

associada a carga leucocitária, o que pode ter relação com seu tropismo por linfócitos, utilizando essa característica para invadir tecido neuronal e transpassar a barreira hematoencefálica (BHE) e provocar manifestações como a encefalite (26-31).

HCMV, também conhecido como HHV-5, é um membro da subfamília *Betaherpesvirinae* e o maior representante de sua família viral, com cerca de 230 mil pb e até 200 nm de diâmetro. Está presente em grande parte da população mundial, chegando a títulos de soroprevalência de 95%. A infecção é geralmente assintomática, porém considerando a capacidade intrínseca dos HHVs, a latência viral, esse vírus pode provocar manifestações, como hepatites, miocardites e até lesões de SN, como a SGB ao ser reativado. Além de sua virulência e potencial de patogenicidade, possui características imunomoduladoras, o que permite o aparecimento de outras infecções oportunistas, como fungos e bactérias (32-34).

O HHV-6 também é um vírus ubíquo, com soroprevalência de até 90% na população mundial, junto ao HCMV, membro da subfamília *Betaherpesvirinae*. Possui tropismo e capacidade de infectar diversos tecidos, como glândulas salivares, fígado, linfócitos T, monócitos e tecido nervoso, como em micróglia. Há duas linhagens virais diferentes: herpesvírus humano 6A (HHV-6A) e 6B (HHV-6B) (24, 35-37).

A infecção primária causada pelo HHV-6 ocorre frequentemente na infância, entre 6 meses e 2 anos de idade. Os sintomas deste tipo de infecção variam de febre e convulsões a hepatite, colite, até meningoencefalite e encefalite. Com isso, o HHV-6 está amplamente associado a manifestações neurológicas, já sendo descrita sua detecção em necropsia cerebral. Possui também uma importante capacidade, a ligação covalente com o DNA celular e regiões subteloméricas, integrando o genoma do vírus em cromossomo humano (ciHHV-6). A carga viral elevada de HHV-6 em tecido de SN pode ter relação com ciHHV-6, porém, esse papel ainda não foi completamente elucidado. Embora descrito com forte associação a encefalites, pacientes com positividade para esse vírus tendem a apresentar ampla gama de padrões sindrômicos como febre, convulsões, encefalite, meningoencefalite, disfunção neurocognitiva, entre outros. Além das manifestações neurológicas, hepatite, pneumonite e sintomas gastrointestinais são algumas das síndromes clínicas relacionadas a presença do genoma viral do HHV-6. Dada a diversidade de manifestações, a atenção tem sido dispendida para reconhecer padrões diferentes

de infecção por esse vírus tem sido maior, como a possível relação entre HHV-6 e esclerose múltipla e convulsões (24, 35-40).

A dinâmica parasita-hospedeiro, apesar de distinta entre as espécies virais, expõe situações convergentes, como o risco de reativação em pacientes imunocomprometidos, como aqueles com doenças imunológicas ou transplantados. Em casos de pacientes imunodeprimidos, muitas vezes os efeitos são exacerbados, uma vez que com a ausência de células imunológicas, os vírus latentes podem encontrar situação favorável à sua replicação e atingir vários órgãos, como o caso do HCMV, que pode provocar variadas manifestações, como encefalites, pneumonites e hepatites. Além dos casos graves, em pacientes com comprometimento imunológico, risco de rejeição do enxerto e doença do enxerto contra o hospedeiro são associados ao HCMV e doença linfoproliferativa pós transplante são relacionados ao EBV. Em alguns casos, a opção terapêutica da doença de base tende a reduzir resposta imunológica, propiciando reativação viral. Dessa forma, é necessário buscar equilíbrio entre a doença de base e o risco de reativação viral (17, 41-45).

Opções terapêuticas para infecções por HHV são existentes, como o reconhecido emprego de aciclovir para tratamento de HSV, um análogo do nucleosídeo deoxiguanosina, que após a metabolização e atingir o sítio alvo, tem ação competitiva com o nucleosídeo pela DNA polimerase viral. Para o HCMV, o ganciclovir é uma opção terapêutica, porém pode apresentar efeitos tóxicos podem ser associados ao tratamento, como trombocitopenia. Alternativas terapêuticas são existentes, entretanto a dinâmica farmacológica precisa ser elucidada para atingir o objetivo esperado, uma vez que efeitos negativos das opções terapêuticas são existentes: fludarabine, um análogo de purina, que pode ser empregado para tratamento de infecções específicas pode levar a maior reativação de HSVs e VZV, bem como doença por HCMV; rituximab, um anticorpo monoclonal contra CD20, embora possa apresentar resultados terapêuticos, já foi associado a disseminação fatal por VZV e pneumonia por HCMV (41, 46, 47).

1.1.2 Arbovírus

As infecções causadas por arbovírus, ou seja, infecções transmitidas por vetores artrópodes estão presentes em várias regiões mundo, representando parte importante dos agentes etiológicos infecciosos emergentes nos últimos anos. O aumento da incidência dessas doenças está relacionado ao aumento da urbanização e invasão de áreas silvestres e desmatamento, além de outras atividades antrópicas, como as associadas às mudanças climáticas. O intercâmbio inter-regional também favorece a disseminação desses agentes, seja pelo transporte dos vírions em indivíduos alojando os vírus em seu sistema ou por migração vetorial (3-5, 48-50).

Isso resulta no aparecimento e reaparecimento de vírus emergentes, que encontram ambiente favorável e propício para sua instalação, tornando-se endêmicos em mais regiões, de modo que a vigilância epidemiológica e virológica deve sempre ser incentivada a fim de investigar e reduzir os riscos associados a eventos de surtos virais (3-5, 48-50).

A maioria dos indivíduos infectados pelos vírus da família *Flaviviridae* são assintomáticos. Membros importantes do grupo dos Flavivirus são descritos por causar infecções no sistema nervoso. Dentre eles, ZIKV e DENV são amplamente relacionados a esses casos, como também os vírus da Encefalite de Saint Louis (ou São Luís) (SLEV), Rocio (ROCV), e vírus do Nilo ocidental (WNV). O espectro sintomatológico é variável, com quadros de encefalite ou ainda infecção assintomática, passando por quadros similares a gripe (51, 52).

O SLEV é amplamente distribuído nas Américas, do Canadá à Argentina, passando inclusive pelo Brasil, onde já foi identificado no estado de São Paulo em simultânea circulação com o vírus da dengue (DENV), sorotipo 3 (DENV-3). É um vírus neurotrópico, membro do complexo antigênico do vírus da encefalite japonesa, juntamente com o WNV. O SLEV é responsável por sintomas leves, como febre e dor de cabeça, até meningite e encefalite, e pode ser letal, sobretudo em pacientes idosos (52, 53).

O vírus Oeste do Nilo (WNV) foi isolado na província de *West Nile*, Uganda, em 1937. Em 1999, na cidade de Nova York (Estado Unidos da América), causou a morte de um grande número de aves, e em humanos foi relacionado a um grande número de casos de encefalite. No Brasil, uma publicação de 2019, de Martins e colaboradores, aponta detecção deste vírus em equinos (54). Sua circulação é

atrelada a atividade de aves migratórias. Sintomas neurológicos são mais frequentemente relatados em pacientes idosos, de forma que aproximadamente 80% das pessoas infectadas são assintomáticas. O restante dos casos tende a apresentar doença febril característica, com um período de incubação de dois a 14 dias, ocasionando febre, dor de cabeça, fadiga, exantema, linfonodomegalias e dor ocular. As manifestações mais graves são meningite e encefalite (54, 55).

Na década de 70, na região do Vale da Ribeira, sudeste do estado de São Paulo, houve uma epidemia de encefalite provocada pelo vírus ROCV. Seu isolamento foi realizado a partir de tecido de SNC. Neste período foram notificados 1021 casos de encefalite, com sintomas clínicos de febre e dores de cabeça evoluindo para convulsão, rebaixamento de nível de consciência (RNC) e até letalidade, que chegou a 10% dos casos. Além disso, cerca de 20% dos sobreviventes desenvolveram sequelas, tais como alterações motoras (49,65%), especialmente da marcha e equilíbrio. Em 2014, uma investigação sorológica apontou circulação de ROCV em 6% dos animais investigados nas regiões de São Paulo e outros estados brasileiros, e com isso, evidenciou-se a importância da vigilância e da atenção quando a possibilidade da reemergência desse vírus (56-58).

Identificado em um estudo para investigação de agentes virais circulantes em vetores artrópodes buscando o vírus da Febre Amarela (YFV), o vírus Ilhéus (ILHV) foi isolado por acaso e identificado pela primeira vez em 1944, a partir de um pool de mosquitos *Aedes spp.* e *Psorophora spp.*, na Cidade de Ilhéus, estado da Bahia, Brasil. As aves são os principais hospedeiros vertebrados e outros vetores já foram sugeridos, como os mosquitos dos gêneros *Sabethes spp.* e *Haemagogus spp.* A infecção em humanos pelo ILHV provoca cefaleia, calafrios, mialgia, fraqueza com ou sem síndrome encefálica suave (59).

Acredita-se que o YFV tenha sido trazido da África para os continentes americanos como consequência do período escravagista em um fluxo de intercâmbio inter-regional. O YFV foi o vírus precursor da terminologia *Flavivirus*, uma vez que o termo *flavus* remeta ao latim para amarelo. É um vírus de RNA fita simples polaridade positiva, com capsídeo icosaédrico envolto por bicamada fosfolipídica do hospedeiro compondo seu envelope. Humanos são considerados hospedeiros acidentais, uma vez que o vírus também acomete primatas não-humanos. Os sintomas variam de doença não específica e assintomática até

hemorragia fatal (59, 60).

O Brasil passou por um surto importante de YFV de origem silvestre de 2016-2019, um dos mais significante nas últimas décadas, com cerca de 772 mortes e 2251 casos humanos. A vacinação é a forma de prevenção mais efetiva, com raros eventos adversos: um índice variável entre 3 a 8 casos por 1.000.000 de pacientes de, respectivamente, 60 anos ou mais, desenvolvem doença visceral ou complicações neurológicas atribuídas a vacinação, como aponta Chen e Wilson (60-62).

O DENV, com 4 sorotipos diferentes, é considerado uma das arboviroses mais importantes, tanto pela sua ampla disseminação mundial quanto pela morbidade associada à sua infecção. Cerca de 2,5 bilhões de pessoas que vivem em áreas tropicais e subtropicais estão em risco de infecção por esse vírus. Transmitido pelo mosquito *Aedes aegypti*, atualmente os 4 sorotipos tem circulação no Brasil. As infecções podem ser assintomáticas ou oligossintomáticas, porém há casos de desenvolvimento de quadros graves da DENV e mortes. Além das manifestações de febre e hemorragias, o DENV tem sido associado a infecções importantes do SNC, devido ao seu neurotropismo. Quadros como encefalite, mielite, SGB e outros quadros já foram relacionados à infecção desse vírus, inclusive casos de perda de visão total ou parcial reversível ou não (3-5, 48, 49, 63, 64).

O ZIKV é outro arbovírus importante da família *Flaviviridae*, que também tem o *A. aegypti* como principal vetor, embora a transmissão por via sexual também seja possível, como apresenta Brogueira e colaboradores (2017) e presença desse vírus em sémen, como Paz-Beiley e colaboradores em seu estudo (50, 65). Após surtos identificados nas ilhas Yap, em 2007, e na Polinésia Francesa, em 2013, o vírus ganhou mais atenção, sobretudo ao relaciona-lo aos casos da SGB que começaram a ser descritos. Em 2014, porém, no Brasil, alterações clínicas graves associando malformações fetais e outras complicações começaram a chamar a atenção global: houve então associação desses casos com o ZIKV, que já poderia estar em circulação. Embora a infecção por ZIKV seja tipicamente associada com doenças leves, um aumento dos casos de microcefalia em recém-nascidos nos estados do nordeste do Brasil evidenciou uma associação entre a infecção com o ZIKV durante a gravidez com malformações fetais. A presença deste arbovírus tem tornado um importante problema de saúde pública, inclusive

por estar em cocirculação com a DENV, um dos arbovírus já endêmicos no Brasil. Além disso, como previamente relatado, durante o surto na Polinésia francesa foi atribuído ao ZIKV uma associação em complicações neurológicas, tais como meningoencefalites e SGB em adultos. Em julho de 2015, 76 pacientes com sintomas de alterações no SNC sugestivos de infecção pelo ZIKV foram identificados no estado da Bahia e em 55% dos casos foi relacionado ZIKV e SGB. Um ano depois, havia mais de 165 mil casos de suspeita de infecção por ZIKV, de forma que 66.180 casos foram confirmados. Além do aumento concomitante dessa síndrome e da infecção por esse vírus, a ligação com outras doenças neurológicas também foi observada, como meningoencefalites (3-5, 48-50, 65-67).

Após o surto, o ZIKV tornou-se endêmico, uma vez que encontrou ambiente conveniente para sua permanência e circulação, com vetores e hospedeiros disponíveis para o ciclo da infecção, cocirculando com outros arbovírus, aumentando os riscos de infecção por vetores hematófagos. Isso trouxe maior urgência em termos de medidas de prevenção e controle para a saúde pública e vigilância virológica, onde esforços significativos foram adotados nessa área, com intensificação dos estudos acerca do comportamento do ZIKV, bem como outros arbovírus (3-5, 48-50, 65, 66).

Os *Togaviridae* são vírus de RNA de cadeia simples, com características morfológicas que permitem o reconhecimento como capsídeo de aparência esférica, além de possuírem envelope. Essa família é formada por dois gêneros, os *Rubivirus*, com o vírus da rubéola como representante e os *Alphavirus*, que podem ser transmitidos por vetores artrópodes (68).

Vírus causadores de encefalites equinas são membros dos *Alphavirus*, como os vírus da encefalite equina do Leste (EEEV), do Oeste (WEEV) e venezuelana (VEEV), com nome fazendo alusão a região geográfica de sua primeira identificação. Apresentam padrão sintomático variável, com casos assintomáticos até casos de encefalite. São encontrados em humanos e outros animais, como cavalos. Os sintomas são semelhantes entre as espécies virais, com febre, conjuntivite, alterações motoras, incluindo paralisia e morte. Em humanos, os sintomas são de cefaleia, febre, conjuntivite, letargia, delírios e até coma. Convulsões, rigidez na nuca e alterações em resposta reflexa também são observados. O curso da doença pode ocorrer em dois momentos, um primeiro mais brando, com febre e cefaleia, aparente recuperação e, posteriormente, quadro

semelhante à encefalite (57, 69, 70).

Mayaro (MAYV) é um vírus de RNA fita simples polaridade negativa com envelope, assim como os outros *Togaviridae*. O MAYV é um importante vírus zoonótico, infectando primatas não humanos, pássaros, roedores e outros pelas picadas pela fêmea do vetor. *Aedes aegypti* tem potencial para transmitir MAYV em ambientes urbanos. Semelhante ao vírus Chikungunya (CHIKV), os sintomas da infecção por MAYV são frequentemente febres, erupção cutânea, dor de cabeça, tontura, fotofobia, dor retro-orbital, mialgia, artralgia e outros. Raramente é relatada morte devido à infecção por MAYV. Devido a essa semelhança, em um surto com quase 340 casos suspeitos de dezembro de 2014 a janeiro de 2016, no Brasil, vários casos foram repostados como CHIKV. A reatividade cruzada em testes sorológicos para CHIKV e MAYV também ocorreu nestes casos de diagnósticos imprecisos. Com a circulação de diferentes vetores no Brasil, o aparecimento de um novo surto de uma arbovírus emergente poderia acontecer. Estudos propõem que o MAYV possa ser um candidato potencial por um novo surto de arbovírus no país, como já proposto em mais de um trabalho, por Figueiredo e Esposito, e seus respectivos colaboradores (57, 71-75).

O Aura é um *Alphavírus* isolado no Brasil e também identificado em regiões da Argentina a partir do *Aedes serratus*. Pouco ainda é conhecido sobre o comportamento infeccioso desse vírus, como, por exemplo, o hospedeiro vertebrado. O impacto clínico de sua infecção ainda não é conhecido, embora sua circulação no país seja reconhecida. Possui semelhança com o vírus *Sindbis*, não identificado no Brasil e causador de sintomas semelhantes a outros *Alfavirus*, como febre, artralgia e artrites (70, 76-78).

O CHIKV foi descrito pela primeira vez em 1950 na região que hoje corresponde a Tanzânia. Na ocasião, o surto havia sido atribuído ao DENV, mas características diferentes foram reconhecidas, incluindo os sintomas que nomeiam a doença: chikungunya significa “aquele que se curva” na língua *Makonde*, (falada em várias regiões da África Oriental) em alusão à posição que os pacientes adquiriam durante o período da doença, devido à dor causada pela infecção. CHIKV é caracterizada por febre, combinada com dores fortes e debilitantes nas articulações, dores de cabeça e dores musculares. Os sintomas são semelhantes aos do vírus DENV, mas com poliartrite e dor nas articulações dos punhos, tornozelos e cotovelos, que geralmente regride após 10 dias, mas pode persistir

por meses após a febre e até causar sequelas com maiores durações. Embora condições graves não sejam comuns e não haja choque ou hemorragia grave como na dengue, pode estar relacionado a diagnósticos neurológicos graves (encefalite, meningite e SGB) (5, 57, 72, 79).

1.1.3 Família *Picornaviridae*

A família *Picornaviridae*, com etimologia fazendo referência a “*pico*” = pequeno, “*RNA*” = ácido ribonucleico, é composta por vinte e nove gêneros, incluindo patógenos humanos tais como poliovírus e as não pólio-enterovirose (EV). Essa família inclui os gêneros *Enterovirus*, *Parechovirus*, e o vírus da Hepatite A. Eles são vírus de RNA sem envelope, constituindo um grupo que inclui cerca de 116 vírus conhecidos diferentes. As manifestações clínicas causadas pelos picornavírus em humanos variam muito, desde uma gripe comum até encefalite e miocardite (10).

Os enterovírus (EVs) são considerados importantes agentes causadores de morbidade e mortalidade em todo o mundo. Ainda que estimativas baseadas em estudos da população americana apontem que esse vírus seja responsável por até 15 milhões de infecções sintomáticas nesse território, esse número pode ser subestimado, considerando as infecções assintomáticas por EV. Este grupo de vírus é considerado a causa mais comum de meningite infecciosa não-bacteriana, uma das infecções mais frequentes no SNC. Ainda que haja casos assintomáticos, em crianças e imunocomprometidos, as infecções por esse vírus pode ter uma grave apresentação, como meningites e encefalites (2, 80, 81).

Cerca de 90% de todos os casos de meningite infecciosa não-bacteriana em todo o mundo estão relacionadas a este vírus. O EV também está relacionado a casos de encefalite, encefalomielite, entre outras doenças do SNC. O antígeno viral é expresso nos neurônios, particularmente no cérebro e no prolongamento do axônio (82, 83).

As meningites virais, causadas por EVs, são descritas com frequência em diversos países do mundo, atingindo principalmente jovens e crianças de classe socioeconômica mais baixas. Podem ser transmitidos pela via fecal-oral, o que expõe condições sanitárias precárias, situação não atípica em nosso país. Também pode ser transmitido pelo trato respiratório e pelo contato com secreções,

ampliando o potencial de disseminação dessas infecções. Dados epidemiológicos mostram que os EVs são responsáveis por cerca de 85% de todos os casos de meningite nos quais um agente etiológico é identificado (2, 80, 81).

1.1.4 Neurotropismo viral

O tecido nervoso, sobretudo o SNC, conta com uma série de estratégias que propiciam proteção contra a invasão de partículas indesejadas e patógenos, como as partículas virais. Nesse contexto, os papéis da BHE e da barreira hematoencefálica (BHE) são relevantes, reduzindo a possibilidade de invasão desses agentes ao tecido cerebral. Da mesma forma, várias são as células com capacidade de resposta imunológica buscando mitigar efeitos negativos dessas infecções. Ainda assim, alguns vírus podem atingir as células nervosas. O neurotropismo e a neuroinvasão nem sempre são descritas como vantajosas do ponto de vista evolutivo para alguns vírus: devido à gravidade de alguns casos, não é infrequente que pacientes venham a óbito sem disseminação sistêmica da infecção, o que, evolutivamente, pode aparentar pouco vantajoso. Apesar dos vários mecanismos de defesa do organismo para impedir a entrada de patógenos, alguns agentes, como os arbovírus, após a viremia, encontram formas de invadir o SNC (51, 84, 85).

Além de atividades para reduzir o risco de infecções, as BHE e BHL são fundamentais para a manutenção homeostática do SN, propiciando proteção contra alterações repentinas nas ofertas bioquímicas de substratos e íons, nutrientes e remoção de metabolitos. Assim, o SNC é protegido por meio do crânio, das camadas meníngeas – dura mater, aracnoide e pia mater –, bem como o líquido produzido pelo plexo coroide (nos ventrículos cerebrais), o LCR, que preenche também o espaço subaracnóideo entre a camada pia mater e aracnoide. O LCR atua na estabilidade eletrolítica e homeostática, além de garantir suporte mecânico (83, 84).

A BHE composta por células endoteliais estreitamente unidas, astrócitos, diversas proteínas além de unidades neurovasculares. Assim fica presente uma barreira física, composta de junções interendoteliais aderentes e estreitas, que de forma seletiva, reduz a permeabilidade de moléculas ao tecido nervoso. Ainda assim, há entrada de certos solutos e macromoléculas para funções específicas, é possível por processos, como difusão passiva, transcitose mediada por adsorção ou receptores, por exemplo. E com isso, há diferentes hipóteses sobre as vias de

neuroinvasão, estabelecendo que utilizando as células endoteliais, ou por difusão passiva ou ainda vias paracelulares, o vírus pode atingir esse tecido. Ainda que a gênese dessa perturbação ainda careça de elucidação, é evidente que essa alteração dessa membrana ocorre e pode estar associada a agentes virais diferentes, seja por ação patogênica viral, como a destruição do citoesqueleto de actina das células do epitélio que compõe BHE, seja por resposta pró-inflamatória, que possui também efeito negativo ao hospedeiro (51, 84, 86).

A BHL consiste em junções oclusivas de células de revestimento, que evita que as substâncias do sangue entrem no fluido através de espaço intersticial, de forma que a principal maneira de passagem seja por meio do uso de proteínas transmembrana. Nesse contexto, o plexo coroide, formado por meio das dobras da pia-máter, porção vascular e células endoteliais e que atua na produção de LCR, é protegido por essa barreira. Porém, considerando o acesso ao LCR pelas células do epitélio do plexo coroide ao sistema vascular cerebral e as junções oclusivas entre as células epiteliais possuem menor resistência elétrica quando comparada com a BHE, a BHL apresenta maior vulnerabilidade a agente microbianos via mecanismos paracelulares. A membrana aracnoide tem uma pequena superfície composta por essa barreira, que embora não tenha uma relação com a troca de solutos bem estabelecida, é um importante compartimento para entrada de microrganismos (51, 83, 84).

Quanto à vigilância das células com atividade imunológica, macrófagos altamente especializados, a micróglia, estão presentes de forma residente no tecido do SNC, fazendo o reconhecimento contínuo desse tecido para o encontro de substância prejudiciais. As células dendríticas também atuam no sentido de reconhecimento de partículas deletérias, compondo cerca de 1% das células envolvidas na resposta imunológica das meninges e do plexo coroide. O SNC também conta com células transitórias, como as células T (cerca de 90%), células B (5%) e monócitos (5%). Essas células migram do sangue para o epitélio do plexo coroide, ganhando acesso ao LCR e aos tecidos por ele permeado. O reconhecimento de partículas imunogênicas reconhecidas como antigênicas propiciam a formação de sinapses imunológicas e desencadeiam sinalização celular a fim de recrutar mais células para o SNC por meio de via paracelular, ou seja, por rotas extracelulares, ou por diapedese transcelular (51, 83-85).

Os HHVs podem ser encontrados em diversos tipos celulares, como o HCMV, que pode ser detectado em astrócitos, neurônios e células da glia. O EBV pode estabelecer, inclusive, latência em linfócitos B, podendo reativar próximo da BHE, desencadeando processos inflamatórios importantes. Baseado no transporte viral intracelular, uma via alternativa proposta é denominada de modelo de “*Cavalo de Tróia*”, que poderia ser adotado por uma série de vírus, como os EV não pólio. Em alusão ao clássico conto grego descrito por Homero na *Odisséia*, algumas variedades virais poderiam utilizar leucócitos como uma forma de evadir das estratégias de vigilância viral e atravessar as barreiras mencionadas de modo furtivo (51, 83-85).

A cavidade nasal está em constante contato com agentes externos, possuindo estruturas para a defesa em atividade, como mecanismos de resposta imunológica inata, reduzindo os riscos de infecção. Entretanto, o sistema olfatório, composto por estruturas como os nervos olfatórios e bulbo olfatório, junto a cavidade nasal, também ficam expostos a esses agentes e nem toda resposta fisiológica de defesa é eficiente para impedir infecções. Os neurônios sensoriais olfatórios ficam expostos ao ambiente, de forma que agentes virais já apresentaram potencial de migrar dessas estruturas para regiões do SNC, como o tálamo, hipotálamo, cerebelo e cérebro em modelos animais. Nesse contexto, o nervo trigêmeo, o maior nervo do crânio, possui fibras que direcionam ao cérebro, oferecendo mais uma via neuronal de acesso ao SNC, sem necessidade de transporte sanguíneo, de partículas virais. E quanto ao nervo trigêmeo, não apenas os aspectos olfatórios podem permitir a ascensão de vírus ao cérebro, uma vez que vírus, como o HSV-1, podem acessar esse nervo por contato via córnea e infecções epiteliais na face e cavidade oral (51, 83-85).

Estudos *in vivo* demonstram a migração para o SNC por meio de nervos periféricos como possível via para HHVs, como HSV-1, -2 e VZV, embora os nervos respiratórios aparentemente não propiciem a chegada ao SNC. Isso se deve a presença de receptores de sulfato de heparan e nectina-1 estarem presentes na porção apical dos nervos olfatórios, permitindo tropismo viral, ao passo que nervos respiratórios apresentem esses receptores na porção basal, ficando inacessível aos vírions. O HHV-6 já foi descrito como detectado em alta frequência em nervos olfatórios. Estudos comparando a mucosa de pacientes saudáveis, com esclerose múltipla e com perda olfativa mostraram ocorrência de HHV-6 em cerca de 41% dos casos,

sem distinção entre os grupos, mostrando possível reservatório do vírus. Arbovírus, como SLEV, EEEV e VEEV (e provavelmente CHIKV, segundo alguns estudos com modelos animais) encontram nas fenestras próximas da mucosa nasal formas de atingir o bulbo olfatório, e por axônios anterógrados encontram vias de acesso ao SNC. Estudos com primatas não humanos mostram que nos casos do EEEV e VEEV, a neuroinvasão não depende de viremia (51, 83-85).

Em conjunto ao tropismo e invasão do SN, a capacidade de estabelecer efeitos prejudiciais, ou seja, a neurovirulência, é outro fator importante que deve ser considerado ao falar de infecções virais em SN. Degeneração de neurônios, necroses, apoptose são alguns exemplos de efeito viral já atribuídos a arbovírus por meio de modelos animais. Estudos propõe que algumas cepas virais de WNV, por exemplo, possam induzir apoptose por ativar vias como do regulador apoptótico BAX, propiciando provável formação de canais na mitocôndria, desencadeando evento apoptótico. O aumento da expressão de genes relacionados a apoptose, como fator de necrose tumoral (TNF)-alpha e TRAIL, podem ser observados em alguns casos de encefalite provocadas por arbovírus, como o VEEV. Ainda assim, a elucidação dos principais mecanismos e rotas de sinalização ainda estão em descobrimento e passíveis de compreensão. A resposta inflamatória que busca controle e clareamento viral, pode desempenhar efeitos prejudiciais. A neuroinflamação e a perturbação provocada por infecções pode ser responsáveis por morte neuronal e perturbação das barreiras encefálicas. TNF-alpha e interleucinas (IL)-1 Beta e IL-6, liberadas em resposta a inflamação, podem propiciar parada do ciclo celular, levando à morte celular de precursores neuronais e perturbando a BHE. TNF-alpha também pode levar ao aumento de resposta dos astrócitos ao neurotransmissor glutamato, causando morte neuronal por excitotoxicidade, uma hiperestimulação do sistema glutaminérgico. Considerando a toxicidade por substâncias inflamatórias, as células da glia, apesar de pouco permissivas às infecções virais quando comparados a neurônios, são responsáveis por perturbações importantes em barreiras hematológicas. O aumento na produção de óxido nítrico por micróglia ativada pode ser observado em resposta a infecções por flavivírus, que pode ter efeito antiviral para algumas espécies, mas também é nocivo para neurônios. Da mesma forma, as espécies reativas de oxigênio podem acabar sendo prejudiciais ao tecido do SN (51, 87).

Ao atingirem as camadas meníngeas, patógenos distintos podem provocar meningite. Nesse contexto, cefaleias, febre e rigidez de nuca são as mais frequentes alterações observadas. Meningite pode ser piogênica, com observação de pus em LCR, altamente relacionada com agentes não virais, como bactérias, ou ainda meningite asséptica, quando o LCR é límpido, podendo estar associado, entre outros agentes, com patógenos virais (84, 88).

As encefalites se referem a inflamação do parênquima cerebral associado a alterações funcionais neurológicas. Geralmente a caracterização dessa infecção se dá por cefaleia, confusão aguda em conjunto ou não a tonturas. O agente etiológico não é determinado na maior parte dos casos, entretanto, quando o inquérito investigativo de agentes associados é realizado, os agentes virais apresentam posição de destaque, com estudo apontando ocorrência de agentes virais associados a esse quadro em 68,5% dos casos, como apontam Dando e colaboradores. O acometimento concomitante do parênquima cerebral e das meninges, a meningoencefalite, também pode ser associada a infecções virais (83, 84).

Por fim, o acometimento de SN periférico (SNP) fica evidente com o mecanismo de invasão de nervo trigêmeo ou do bulbo olfatório, provocado por HSV-1, HHV-6 e outros vírus, como supracitado. Da mesma forma, em alguns casos a manifestação com impacto clínico não está apenas associada aos efeitos citopáticos que o vírus desencadeia, como também a alterações inflamatórias que estimulam a lesão tecidual. Em outro contexto, infecções virais podem propiciar o aparecimento de manifestações complexas em SNP, como a SGB. Há mais de um fenômeno que pode ser associado como essa síndrome, mas a lesão inicial que propicia uma neuropatia importante geralmente atua de forma que sistema imunológico, incluindo as proteínas do sistema complemento e mobilização de imunoglobulinas G de classes 1 e 3, compreenda que biomarcadores imunogênicos como GM1 e GD1a, presente em células nervosas, sejam reconhecidos como antígenos. Com esse reconhecimento, manifestações que envolvem polineuropatia desmielinizante inflamatória aguda ou neuropatia axonal aguda possuem etiologias diversificadas, mas que pode ser associada a mimetismo molecular. Quanto aos patógenos associados, a bactéria *Campylobacter jejuni* é muito importante, entretanto, os agentes virais, como o ZIKV, passaram a ser mais frequentemente associados a

esse quadro. E não somente o ZIKV, o EBV, HCMV, CHIKV também associação a síndrome, podendo agir como gatilho (51, 84, 89).

1.2 Diagnóstico laboratorial de alteração neurológica

O LCR é um ultrafiltrado sanguíneo que preenche os ventrículos cerebrais, espaço subaracnóideo craniano e raquidiano e o canal central da medula. O LCR ou líquido, é um líquido biológico nobre que tem papel de proteção física, amortecimento cerebral, transporte intracerebral e manutenção metabólica e homeostática. Assim, o estudo de analitos presentes nesse fluido fornece informação sobre o estado fisiopatológico, sobretudo neuronal, do indivíduo. As principais indicações são: processos infecciosos de acometimento de sistema nervoso e envoltórios, processos granulomatosos com imagem inespecífica, processos desmielinizantes, tumores (estadiamento e tratamento), imunodeficiências, processos infecciosos com foco não identificado e hemorragia subaracnóide (90-92).

Para aquisição do material, não há necessidade de preparo específico, como o jejum. É indicado que não esteja fazendo uso de anticoagulantes e drogas com esse efeito, de forma que o corpo clínico precise avaliar a real necessidade desse procedimento, atentos aos riscos inerentes do procedimento acrescidos do risco de sangramento. O LCR pode ser originário de três diferentes reservatórios que se reflete nos locais de punção: Ventricular, suboccipital e lombar, sendo a última a mais frequente. Para a punção lombar, o indicado é que o paciente esteja em decúbito lateral, posição padronizada para avaliação de pressão intracraniana, e a aquisição do material seja feita entre a terceira e quarta, quarta e quinta vértebras lombares ou ainda entre a quinta lombar e a primeira vertebra sacral. A punção suboccipital é realizada na região cisterna magna e a ventricular é feita diretamente em um dos ventrículos laterais (90-92).

A análise do LCR torna-se fundamental para exclusão de quadros bacterianos e conseqüente redução desnecessária na utilização de antibioticoterapia. Os quadros de meningites virais são autolimitados na grande maioria dos casos, necessitando apenas de medidas de suporte clínico, sem tratamento específico. O diagnóstico de meningite viral reduz a utilização de antibioticoterapia empírica bem como o tempo de internação. A investigação tradicional realizada por meio de cultura usualmente busca a presença de microrganismos não virais, o que tem grande

relevância clínica e diagnóstica, porém resulta e expõe uma lacuna investigativa que não deve ser negligenciada. Outros testes laboratoriais também podem auxiliar no diagnóstico sem a detecção direta de agentes etiológicos, como exames bioquímicos e imunoenaios. A coloração de Gram, por exemplo, utilizada na identificação de bactérias, pode fornecer um resultado significativo quando positivo. No entanto, até 70% dos testes baseados em metodologias clássicas como coloração de Gram não são conclusivos para identificação de agente etiológico de neuroinfecções. Devido a padrões sintomatológicos e achados laboratoriais que podem ser inconclusivos, o diagnóstico pode ser limitado a “infecção viral” ou “infecção bacteriana”, sem investigações mais específicas quanto ao agente etiológico (2, 88, 93).

A reação em cadeia da polimerase (PCR) é amplamente utilizada para a identificação viral, sendo dentre as NAAT, uma das mais notórias ferramentas diagnósticas utilizadas mundialmente (94, 95).

Desde sua concepção original, em 1983, por Kary Mullis, a PCR tornou-se uma das técnicas mais empregadas para análise de ácido nucleico no mundo, amplificando por reação enzimática fragmentos de ácidos nucleicos sem o uso de organismos vivos. A princípio, a técnica era realizada com ciclagens manuais, oscilando em banhos térmicos em temperaturas específicas de cada uma das etapas, desnaturação, anelamento e extensão, a fim de amplificar em número de cópias o *amplicon* de determinado fragmento gênico (94, 95).

Com avanços tecnológicos, o emprego de equipamentos que permitiram a termociclagem automática surgiram e assim a técnica foi difundida, facilitando o surgimento de adaptações importantes, como a Nested-PCR (NPCR). Nessa variação, é empregado iniciadores internos a região amplificada em uma primeira reação de PCR, de forma que há uma segunda rodada de amplificação e nesta o amplicon obtido tende a ser mais específico, aumentando também o potencial sensível do teste. Outra tecnologia relevante é a Transcriptase Reversa (RT)-PCR, que permite a análise de sequências de RNA ao convertê-las em DNA complementar (cDNA), que pode ser empregada em estudos de expressão gênica, mas também na análise de sequências genômicas de partículas virais com ácido nucleico apresentado na forma de RNA (94-98).

A exemplo de relevantes e revolucionárias apresentações da PCR, existe a PCR em tempo real (Real-time PCR) e a PCR quantitativa (qPCR), concebidas nos anos 90 por Higuchi e colaboradores, embora com variações e adaptações, são

métodos que propiciam a interpretação de fluorescência emitida por agentes que interagem com as moléculas amplificadas. Os resultados dessa técnica, por envolverem o sinal detectado de fluorescência, podem ser quantificados por equipamento hábil a interpretar os sinais em canais de fluorescência ou ainda pode usada para detecção qualitativa de presença de ácidos nucleicos em amostras biológicas distintas. Com o desenvolvimento técnico-científico, as tecnologias propostas por pesquisadores como Mullis e Higuchi, hoje são amplamente empregadas com diversas aplicações, como diagnóstico de infecções, incluindo de vírus patogênicos, em amostras biológicas, tal qual o LCR, sem necessidade de cultivo viral (94-96, 99, 100).

Assim, a escolha da PCR, NPCR, RT-PCR e Real-time PCR justifica-se pois proporciona investigação rápida e confiável utilizada também para identificar genomas de vírus neurotrópicos em amostras LCR sem a necessidade de cultura, um avanço importante na área de diagnósticos virológicos, com aplicação de técnicas de biologia molecular de alta sensibilidade e especificidade (3, 81, 88, 93).

Entretanto, mesmo após o advento da PCR (e suas variações) e o aumento da investigação de agentes etiológicos virais, ainda há um número reduzido de laboratórios que realizem diagnósticos virais de infecções de SNC em centros de atendimentos de rotina de grandes hospitais e universidades de algumas das grandes cidades (90-92, 101, 102)..

Dados sobre o subdiagnóstico das meningites expõe a baixa cobertura dos laboratórios de pesquisa e centros de vigilância epidemiológica que realizam diagnóstico laboratorial de meningites, com identificação do agente etiológico, em regiões do Brasil. A subdetecção dos agentes acontece até mesmo em amostras oriundas de pacientes atendidos em hospitais universitários, como diz Escosteguy e colaboradores, mesmo que ainda sejam considerados centros de referência (90-92, 101, 102).

Deste modo, as doenças são, conseqüentemente, subnotificadas e, considerando apenas o diagnóstico sintromico, infecções importantes podem ser negligenciadas. Assim, existe uma inegável lacuna investigativa quanto a ocorrência de manifestações neurológicas mediante a possível etiologia viral dentre os pacientes sem diagnóstico infeccioso estabelecido (90-92, 101, 102).

Com o exposto, há evidências a respeito da importância clínica da presença de agentes infecciosos virais em sítios estéreis como o SNC, sobretudo

considerando efeitos deletérios decorrentes da presença desses vírus ao infectarem o indivíduo. Assim, estudos sentinela para verificação dos padrões sindrômicos relacionados às espécies circulantes são uma importante ferramenta informativa a respeito da vigilância virológica.

Com isso, este estudo buscou investigar possível presença de genomas virais de agentes causadores de síndromes neurológicas em pacientes atendidos no Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas – Unicamp (HC/Unicamp). Foram utilizadas NAAT para a investigação da presença de genoma compatível com agentes virais em amostras de LCR oriundas de pacientes cuja amostra de LCR não teve agente etiológico estabelecido na rotina e que foram obtidas no período de 2017-2018. Os genomas pesquisados pertenciam aos vírus HHVs, EVs e arbovírus.

Após um devastador surto de ZIKV em 2015, este estudo busca agregar conhecimento sobre os sintomas e sinais que antes nunca foram associados a estes vírus, bem como identificar padrões acerca de outros vírus em circulação concomitante. A associação do ZIKV com ocorrência de síndrome congênita em recém-nascidos e as manifestações de SGB ainda é muito recente na literatura e que surpreendeu a humanidade com a associação dos casos. Da mesma forma, novas associações podem ser registradas, não apenas para o ZIKV como também para outros vírus endêmicos na região estudada.

Assim, pretende-se contribuir com o avanço científico acerca das informações sobre esta relação infecção e doença. Esses dados são essenciais para o conhecimento dos vírus que circulam nesta metrópole, como também os possíveis padrões sindrômicos atrelados aos pacientes com amostra de LCR positivos para investigação viral.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Investigar a presença de genomas de vírus com características neurotrópicas em amostras líquóricas de pacientes adultos com suspeita de infecção neurológica sem agente etiológico determinado, internados ou não, atendidos no HC/Unicamp entre janeiro de 2017 e julho de 2018.

2.2 Objetivos específicos

- Investigar a possível presença de genoma dos seguintes arbovírus em amostras de LCR de pacientes adultos com suspeita de infecção neurológica e sem confirmação diagnóstica de agente etiológico: *Flaviviridae* (ZIKV, DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4, ILHV, YFV, ROCV, SLEV e WNV); *Togaviridae* (AURA, CHIKV, WEEV, VEEV, EEEV e MAYV);
- Investigar a possível presença de genoma de *Picornaviridae*, principalmente os enterovírus não pólio, em amostras de LCR de pacientes adultos com suspeita de infecção neurológica e sem confirmação diagnóstica de agente etiológico;
- Investigar a possível presença de genoma dos vírus da família *Herpesviridae* (HSV-1, HSV-2, VZV, EBV, HCMV e HHV- 6), em amostras de LCR de pacientes adultos com suspeita de infecção neurológica;
- Comparar os resultados bioquímicos, citológicos e de cultura no LCR de amostras de pacientes com investigação positiva para os vírus pesquisados;
- Analisar as possíveis correlações dos resultados com as hipóteses diagnósticas, os quadros sindrômicos e as variáveis demográficas, por meio de observação em prontuário clínico dos pacientes com genomas positivos identificados nas amostras de LCR;
- Ratificar a relevância da testagem virológica molecular como ferramenta para detecção de agentes etiológicos virais relacionados a infecção de sistema nervoso.

3. PACIENTES E MÉTODOS

3.1 Pacientes

Este foi um estudo do tipo descritivo, transversal, utilizando amostras de LCR de pacientes adultos com suspeita clínica de infecção SN sem agente etiológico estabelecido, que estavam em internação ou não, e que foram atendidos no HC/Unicamp, entre janeiro de 2017 e julho de 2018. A coleta do LCR foi realizada pela equipe médica para diagnóstico laboratorial e encaminhado ao Laboratório de Líquidos Biológicos/Divisão de Patologia Clínica do HC/Unicamp para análises de rotina. Após 7 dias de acondicionamento adequado, o LCR, que seria descartado, foi encaminhado para o Laboratório de Pesquisa em Virologia Faculdade de Ciências Médicas/Unicamp.

O envio do material acondicionado no Laboratório de Líquidos Biológicos para o Laboratório de Pesquisa em Virologia foi realizado após obtenção do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido de todos os pacientes (ou, quando necessário, dos responsáveis legais). Sem a aprovação do paciente e/ou responsável, as amostras não foram testadas para a triagem viral. O protocolo de pesquisa foi elaborado de acordo com as exigências para pesquisas envolvendo seres humanos no Brasil e na instituição. A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa e a obtenção de materiais ocorreu após aprovação (CAAE nº 59361816.3.0000.5404) (Anexos I e II).

Foram obtidas 1825 amostras e captadas por demanda, previamente a análise por meio dos critérios de inclusão e exclusão. Foram então estudadas amostras de LCR de 420 pacientes com idade igual ou superior a 18 anos atendidos no HC/Unicamp.

Foram adotados como **critérios de inclusão**: amostras de LCR de pacientes apresentando alteração neurológica e maiores de 18 anos; LCR com exame direto negativo para Gram e tinta da China, compatível com infecção viral; Os pacientes apresentando um ou mais dos seguintes sinais e sintomas (neurológicos): Sintomas de alteração neurológicas semelhante a meningite/encefalite (ex. febre $>38^{\circ}\text{C}$, dor de cabeça, convulsões, status mental alterado, mudança de comportamento, rigidez na nuca, déficits neuromusculares ou ópticos; Pacientes com sintomas de SGB (ex. fraqueza simétrica progressiva, diminuição dos reflexos nos tendões).

Foram adotados como **critério de exclusão**: amostras de LCR recebidas pelo laboratório em quantidades insuficientes para uma extração do material genético (volume <350 µl) não foram utilizadas no estudo. Como critério de exclusão *a posteriori*, foi adotado culturas do LCR positiva para bactérias piogênicas, *Micobacterium tuberculosis* ou fungos. Amostras obtidas em repetição, pacientes em replicata (mais de uma amostra do mesmo paciente) ou de casos sem suspeita clínica de infecção (como os pacientes atendidos devido trauma ou lesão mecânica) também foram excluídas do estudo.

As HD foram observadas nos pedidos de exames para todos os pacientes elegíveis para a pesquisa, de forma que apenas uma hipótese foi considerada por paciente incluído, sendo está a HD registrada em prontuários médicos na data da aquisição das amostras de LCR. Sinais e sintomas, hospitalização, uso de fármacos ATB e antivirais e óbito foram analisados e obtidas por meio da leitura de prontuários clínicos referente aos pacientes positivos para investigação viral (vírus detectado).

As variáveis demográficas incluídas no estudo foram: sexo, data de nascimento e data de coleta. As variáveis clínicas anotadas foram: sinais e sintomas [dor de cabeça ou cefaleia, febre, conjuntivite, dor retro-orbital e outros sintomas ópticos (amaurose, reflexo de Marcus-Gunn, fotofobia), prostração, mialgia, náusea, diarreia, artralgia, coceira, edema, tontura, dispneia, sintomas cardiocirculatórios (alteração em pressão arterial), sintomas respiratórios (tosse e coriza), irritabilidade, disfagia, fraqueza muscular simétrica, tremores, diplopia, rigidez do pescoço (nuca), parestesia, disartria, visão turva, disfonia, sonolência, fraqueza nos membros superiores e inferiores, paralisia flácida, hiperreflexia, arreflexia, rebaixamento de nível de consciência, convulsão, coma, bem como óbito].

Hospitalização durante a evolução dos sintomas e informações sobre status imunológico (foram considerados imunodeprimidos aqueles com informação em prontuário confirmando essa informação devido a tratamento com fármacos imunodepressores, portadores do vírus da imunodeficiência humana (HIV), portadores de doença oncológica, autoimune e transplantados), além de tratamento com antibióticos (ATB) e antivirais também foram avaliados como variáveis clínicas.

3.2 Métodos

Após a coleta de LCR, as amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Líquidos Biológicos e testadas para as análises de rotina, incluindo proteína total, glicose, contagem de hemácias e leucócitos. Os exames microbiológicos de cultura para fungos e bactérias foram realizados no Laboratório de Microbiologia do HC/Unicamp. Os resultados quanto aos exames de rotina observados no presente estudo foram obtidos após inclusão em sistema informatizado interno de gerenciamento de dados (CICS). O monitoramento dos agentes etiológicos virais incluídos nesta pesquisa não foi realizado como um protocolo de rotina, ausentes no período de estudo. O excedente do LCR utilizado em rotina foi encaminhado ao Laboratório de Pesquisa em Virologia, para a testagem virológica por NAAT.

Foram consideradas amostras positivas aquelas com a identificação por método de biologia molecular de, ao menos, uma variedade de ácido nucleico viral relacionado ao estudo. Para tal, também foi definido como *Monodeteção* a detecção de ácido nucleico correspondente ao genoma de um único agente viral. A detecção de genomas correspondente a mais de uma espécie viral foi classificada como *Codeteção*.

As atividades de investigação viral por meio de técnicas moleculares aconteceram no Laboratório de Pesquisa em Virologia da FCM/UNICAMP. O processamento das amostras seguiu o fluxo estabelecido dentro do laboratório. Foi checado o volume compatível com o preconizado nos critérios de inclusão e exclusão. Todas as amostras ficaram armazenadas a -80°C, em caixas específicas (criobox), etiquetadas e numeradas, seguindo a ordem de numeração gerada no ato de entrada da amostra.

A extração e purificação do ácido nucléico foram realizadas utilizando 200 µL de LCR para DNA e 140 µL para RNA, de acordo com o protocolo incluído no kit *DNA Biopur* (Biometrix, Curitiba, Brasil) e *QIAamp Viral RNA Mini Kit* (QUIAGEN, Inc., EUA), respectivamente.

O produto extraído e purificado oriundo do LCR foi armazenado a -80 °C, bem como amostras obtidas como volume excedente a 350 µL.

Após a obtenção do RNA purificado das amostras de LCR, o cDNA foi sintetizado e transcrito reversamente do RNA utilizando o kit *High-Capacity cDNA Reverse Transcription* (incluindo utilização do Random primer do kit) (Applied

Biosystems, Foster City, CA), com temperaturas adotadas nos termocicladores de 25°C por 10 minutos, 37°C por 120 minutos e 85°C por 5 minutos. O produto eluído foi 60 µL de cDNA, armazenado em freezer a -80 °C até aplicação das técnicas. As amostras foram submetidas a um PCR do gene Beta2-microglobulina para garantir a qualidade do ácido nucleico extraído e confirmar a ausência de inibidores de PCR (controle de extração). A extração do ácido nucleico foi repetida quando as amostras da PCR para o gene da Beta2-microglobulina não for positiva, evidenciando extração de forma inadequada (com presença de inibidores ou com ausência de ácidos nucleicos). Em caso de repetidos insucessos, a amostra poderia ser considerada inelegível, entretanto essa situação não ocorreu.

As sequências adotadas para o PCR da Beta2-microglobulina foram 5'-CAACTTCAATGTCAATGTGCGATGGATG-3 e 5'-GGTGTCTTGAGGCTCAGGGAG-3' (103).

As PCR e NPCR foram realizadas em um volume total de 10µL, contendo 0,5µL de DNA extraído para PCR (e 0,5 µL do produto de PCR para NPCR), 5,0 mL de GoTaq® Green (Promega, Winchester, EUA), 0,5 µL de cada iniciador e 3,5 µL de água ultrapura. A corrida eletroforética foi realizada com 5,0 µL do material amplificado do NPCR em gel de agarose 2%, corado com *Unisafe Dye* (Uniscience, Osasco, Brasil) e submetido à eletroforese sob luz ultravioleta para visualização das bandas de DNA dos amplicons específicos de cada vírus.

Os Real-time PCR foram realizados usando o *TaqMan™ Fast Advanced* (Applied Biosystem), iniciadores/primers e sondas de hidrólise (desenho de sequências já descrito na literatura, conforme a seguir) sintetizados como PrimeTime qPCR Primers (Integrated DNA Technologies inc., EUA) e os ensaios foram realizados no Sistema (Applied Biosystem) da seguinte forma: 95°C por 20 *StepOnePlus™ Real-Time PCR* segundos, 40 ciclos de 95 °C a 1 segundo e 60 °C durante 20 segundos.

As NAAT para cada vírus foram realizadas de acordo com o que já foi descrito na literatura científica anteriormente com iniciadores descritos nas Tabelas 1 e 2.

Com relação aos herpesvírus, os conjuntos de iniciadores foram usados para cada região conservada de HSV-1, HSV-2, VZV, EBV, HCMV e HHV-6. O HHV-DNA foi detectado nas amostras de LCR usando a técnica NPCR e para HHV-6 ambas as técnicas NPCR e Real-time PCR (qualitativa com SYBR Green, Thermo Fischer Scientific Baltics, Lituânia). Os iniciadores utilizados foram escolhidos de acordo com

os respectivos autores e compilado, bem como os iniciados a seguir mencionados em metodologias NPCR, na Tabela 1 (104-110).

O gênero EV foi detectado de acordo com métodos já descritos, utilizando os iniciadores HK-2, HK-3, HK-10, realizando um semi-NPCR. Os iniciadores HK-2 e HK-3 também foram utilizados para realizar o sequenciamento, para confirmação dos *amplicons* (3, 108, 111, 112).

A metodologia descrita por Bronzoni e colaboradores foi usado para a detecção de *Flavivirus* (DENV, YFV, ROCV, WNV, ILHV, SLEV) e *Alphavirus* (WEEV, EEEV, VEEV, AURA e MAYV) (3, 70, 113).

Para detecção de DENV, também foi utilizada o método descrito por Huhtamo e colaboradores para Real-time PCR genérico, obtendo resultados qualitativos ao considerar detecção. Tabela 2 compila os iniciadores empregados para a detecção de arbovírus por Real-time PCR (114).

Para o vírus Chikungunya (CHIKV), o método seguiu as informações descritas por Lanciotti e colaboradores (11).

O vírus Zika (ZIKV) foi detectado por método descrito por Lanciotti e colaboradores (12).

Tabela 1: Sequência de iniciados que flanqueiam regiões gênicas virais utilizadas conforme métodos de PCR e NPCR neste estudo

INICIADORES	SEQUÊNCIA (5'-3')	FONTE
HERPESVÍRUS		
HSV-1 PCR	ATCACGGTAGCCCGGCCGTGTGACA	
HSV-1 PCR	CATACCGGAACGCACCACACAA	Danise e colaboradores (104).
HSV-1 NPCR	TACCGACCACACCGACGA	
HSV-1 NPCR	GGTAGTTGGTCGTTTCGCGCTGCTGAA	
HSV-2 PCR	TCAGCCCATCCTCCTTCGGCAGTA	
HSV-2 PCR	GATCTGGTACTCGAATGTCTCCG	Danise e colaboradores (104).
HSV-2 NPCR	AGACGTGCGGGTTCGTACACG	
HSV-2 NPCR	GGCGCGGTCCCAGATCGGCA	
VZV PCR	TCCACGTATGACTCTCTCAC	
VZV PCR	GATCAGACACATGACGAATC	Danise e colaboradores (104).
VZV NPCR	ATGTCCGTACAACATCAACT	

VZV NPCR	CGATTTTCCAAGAGAGACGC	
EBV PCR	AAGGAGGGTGGTTTGGAAAG	
EBV PCR	AGACAATGGACTCCCTTA	Cinque e colaboradores (105).
EBV NPCR	ATCGTGGTCAAGGAGGTTCC	
EBV NPCR	ACTCAATGGTGTAAAGACGAC	
HCMV PCR	ATGGAGTCCTCTGCCAAGAG	
HCMV PCR	CAATACACTTCATCTCCT	Ehrnst e colaboradores (106).
HCMV NPCR	GTGACCAAGGCCACGACGTT	
HCMV NPCR	TCTGCCAGCACATCTTTCTC	
HHV-6 PCR	CAAGCCCTAACTGTGTATGT	
HHV-6 PCR	TCTGCAATGTAATCAGTTTC	Wang e colaboradores (107).
HHV-6 NPCR	CTGGGCGGCCCTAATAACTT	
HHV-6 NPCR	ATCGCTTTCACTCTCATAAG	
<i>FLAVIVÍRUS</i>		
FG1 PCR e NPCR*	TCAAGGAACTCCACACATGAGATGTACT	
FG2 PCR	GTGTCCCATCCTGCTGTGTCATCAGCATAC	
DENV 1 NPCR	CGTTTTGCTCTTGTGTGCGC	
DENV 2 NPCR	GAACCAGTTTGGTDRTTTTCATCGCTGCC	
DENV 3 NPCR	CCCATTGGTTCTCCTCTGTG	
DENV 4 NPCR	GCAATCGCTGAAGCCTTCTCCC	Morais Bonzoni e colaboradores (113).
SLEV NPCR	ATTCTTCTCTCAATCTCCGT	
ILHV NPCR	TCCACCGCTGATCTGAGCCCGTGA	
ROCV NPCR	TCACTCTTCAGCCTTTTCG	
YFV NPCR	TCAGAAGACCAAGAGGTCATGT	
WNV NPCR	TGGTGTCTGAGTTGAGCAGGG	
<i>ALFAVÍRUS</i>		
M2W PCR e NPCR*	YAGAGCDTTTTCGCAYSTRGCHW	
CM3W PCR	ACATRAANKGNGTNGTRTCRAANCCDAYCC	
VEEV NPCR	ACGGAGGTAGACCCATCCGA	
EEEV NPCR	CCACGGTACCGTTGCC	Bonzoni e colaboradores (70).
WEEV NPCR	GGCGGCAGACCTGCTGGAA	
MAYV NPCR	GGAAGTTGGCCAAGGC	
AURA NPCR	TCAATGCACCTTCGACCA	

ENTEROVÍRUS NÃO-POLIO		
HK2 PCR e NPCR*	CAAGCACTTCTGTTTCCCCGG	
HK3 NPCR	ATTGTCACCATAAGCAGCCA	Gomes e colaboradores (112).
HK10 NPCR	ACGGACACCCAAAGTAGTCG	

Legenda: PCR: Reação de cadeia da polimerase; NPCR: Reação de cadeia da polimerase tipo Nested; HSV-1: vírus do Herpes simplex-1; HSV-2: vírus do Herpes simplex-2; VZV: vírus da Varicela-Zoster; EBV: vírus Epstein-Barr ; HCMV: citomegalovírus humano ; HHV-6: herpesvírus humano 6; EV: Enterovírus não-polio; DENV: vírus da dengue; YFV: vírus da febre amarela. *Iniciadores utilizados em Semi-NPCR.

Tabela 2: Sequência de iniciados e sondas que flanqueiam regiões gênicas virais utilizados conforme metodologias de PCR em tempo real para detecção dos arbovírus incluídos neste estudo

INICIADORES	SEQUÊNCIA (5'-3')	FONTE
DENV 1	GGACTAGAGGTTAGAGGAGACCCC	Huhtamo e colaboradores (114).
DENV 2	GAGACAGCAGGATCTCTGGTC	
DENV Sonda	FAM- AGCATATTGACGCTGGGA	
CHIKV 1	TCACTCCCTGTTGGACTTGATAGA	Lanciotti e colaboradores (11).
CHIKV 2	TTGACGAACAGAGTTAGGAACATACC	
CHIKV Sonda	FAM-AGGTACGCGCTTCAAGTTCGGCG	
ZIKV 1	CCGCTGCCCAACACAAG	Lanciotti e colaboradores (12).
ZIKV 2	CCACTAACGTTCTTTTGCAGACAT	
ZIKV Sonda	FAM-AGCCTACCTTGACAAGCAGTCAGACTCAA	

Legenda: Real-time PCR: Reação de cadeia da polimerase em tempo real; DENV: Dengue vírus; ZIKV: Zika vírus; CHIKV: Chikungunya vírus; FAM: Agente fluorescente.

Para evitar a contaminação, estratégias foram aplicadas: a utilização de, ao menos, dois controles negativos para excluir a contaminação em cada PCR; uso de ponteiros de filtro descartáveis de pipeta para cada amostra; cada fase experimental dos procedimentos (por exemplo, a extração de ácidos nucleicos virais e os testes de PCR) foi realizada em salas diferentes; também, para garantir a precisão das amplificações, controles positivos oriundos de cultura viral de cepas de referência foram incluídos em cada reação: caso não houvesse amplificação do controle, todo lote de produto amplificado seria testado novamente. Todo processo de extração e

amplificação dos controles seguiu as mesmas metodologias adotadas em para amplificação do material proveniente da extração das amostras de LCR (107, 115).

Para o sequenciamento, os procedimentos foram realizados pelo Laboratório Central de Tecnologias de Alto Desempenho (LaCTAD). Os produtos analisados em sequenciamento para confirmação do amplicon de PCR de EV seguiram as normativas do LaCTAD. A concentração de iniciadores foi de 3,2 micromolar, em um volume final de 18 μ L. A plataforma 3730XL da Applied Biosystems para realização do sequenciamento por eletroforese capilar, (sequenciamento Sanger) foi utilizado.

As Sequências resultantes foram analisadas por meio do software online Basic Local Alignment Search Tool – BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), para encontrar regiões de similaridade entre os nucleotídeos do resultado obtido e confrontada com uma base de dados de livre acesso mundial para assim verificar a sequência cadastrada de maior similaridade, com indicação de significância estatística de similaridade proveniente no software.

3.3 Análise estatística

As informações clínicas dos pacientes com amostra de LCR positivas e negativas para investigação viral foram descritas segundo informações em pedido de exames e banco de dados informatizado, conforme citado anteriormente, mediante as variáveis de interesse demográficas (sexo, data de nascimento e data de coleta, compondo a idade na coleta), hipótese diagnóstica (HD) e resultados de LCR dos testes de rotina para observação de proteína, glicose, hemácias e leucócitos na mesma amostra. Essas informações foram descritas por meio de valores absolutos (n), prevalências e percentuais como também resultados estatísticos descritivos, por exemplo, mediana, média, desvio padrão e referência interquartil. O teste exato de Fisher e o teste U de Mann Whitney foram usados, conforme apropriado. O nível de significância adotado para este estudo foi de 5%.

Dados sobre sintomas, hospitalização, óbito e uso de ATB e antivirais foram obtidos por meio da leitura de prontuários clínicos referente aos pacientes positivos para investigação viral (vírus detectado). Foram calculadas prevalências desses achados em pacientes com positividade viral identificada e descrita suas porcentagens.

4. RESULTADOS

Amostras de LCR de 420 pacientes foram incluídas no estudo e, consideradas elegíveis para a análise. Todos os pacientes incluídos tinham suspeita de infecção neurológica com resultados negativos para bactérias e fungos por cultura no LCR. Durante o período de coleta do estudo, 1825 amostras foram obtidas e captadas por demanda. Muitos casos não foram incluídos no estudo, baseado nos critérios de inclusão e exclusão, como mostra a Tabela 3.

Tabela 3. Motivos para exclusão das amostras de LCR obtidas no período de 2017-2018 oriundas de pacientes atendidos no HC/Unicamp

Motivo da exclusão	n	% (Excluídos)	% (Total)
Hipótese diagnóstica não compatível	578	41,1	31,7
Infecção provável etiologia não-viral	167	11,9	9,2
Volume insuficiente	276	19,6	15,1
Amostra de paciente já incluído (repetidas)	249	17,7	13,6
Pacientes com idade inferior a 18 anos	135	9,6	7,4
Total excluído	1405	100	77,0
Incluído	420	-	23,0
Total geral	1825	-	100

Das 420 amostras que atendiam os critérios de inclusão e, conseqüentemente, foram incluídas no estudo, 35,2% (148) foram positivas para a identificação molecular do genoma de pelo menos um dos vírus investigados.

Do total dos pacientes incluídos, 224/420 (53,3%) amostras coletadas pertenciam a pacientes do sexo feminino, bem como este gênero foi o mais frequente nas amostras positivas, 84/148 (56,8%). A mediana de idade também foi semelhante, sendo 46 anos a mediana observada ao considerar todos os 420 pacientes e 47 anos a mediana de idade de todos os pacientes positivos para

investigação viral baseado nas amostras analisadas por meio das técnicas de amplificação de ácido nucleico (NAAT).

As características e as HD dos pacientes estão descritas na Tabela 4, apresentando o total de pacientes (n=420), pacientes positivos mediante a identificação dos genomas virais (n=148) (e sua porcentagem), prevalência da positividade viral relacionada a cada HD (expresso em porcentagem, comparando prevalência de identificação viral obtida por HD) e o p-valor mostrando a relação estatística entre amostras com identificação viral positivas e negativas.

Dos 420 pacientes, 338 (80,5%) foram registrados como residentes da região metropolitana de Campinas (que inclui os municípios de Americana, Artur Nogueira, Campinas, Cosmópolis, Engenheiro Coelho, Holambra, Hortolândia, Indaiatuba, Itatiba, Jaguariúna, Monte Mor, Morungaba, Nova Odessa, Paulínia, Pedreira, Santa Bárbara d'Oeste, Santo Antônio de Posse, Sumaré, Valinhos e Vinhedo). Campinas foi a cidade com maior número de pacientes, 196/420 (46,7%), sendo destes 75/196 positivos para detecção viral (38,3%). 118/148 (79,7%) dos pacientes positivos para detecção viral são desta região. Cinco pacientes são residentes de outros estados brasileiros: Minas Gerais (n=3), Paraná (n=1) e Rio Grande do Sul (n=1). Um paciente do estado de Minas Gerais foi positivo para EV. Os outros pacientes são residentes do estado de São Paulo.

Os pacientes foram classificados em uma HD baseado nas informações presentes em portuários clínicos. O descritivo dos pacientes encontra-se em Apêndice I.

Tabela 4: Características demográficas, hipóteses diagnósticas e prevalência de positividade referentes às amostras de LCR dos pacientes incluídos no estudo

Características	n (total)	%	n positivos	% positivos	positividade em % por hipótese diagnóstica	valor p
Idade em anos - Mediana (Mínima-Máxima)	46 (18-92)	-	47 (18-83)	-		
Sexo (F / M)	224/196	53,3/46,7	84/64	56,8/43,2		0,3079
Hipótese diagnóstica	n (420)	%	n (148)	%		
Triagem infecciosa	88	21,0	25	16,9	28,4	0,1671
Encefalopatia	63	15,0	21	14,2	33,3	0,7764
Meningite	63	15,0	26	17,6	41,3	0,3169
Encefalite	30	7,1	11	7,4	36,7	0,8454
Neurite	27	6,4	13	8,8	48,1	0,1511
Epilepsia	26	6,2	7	4,7	26,9	0,4046
Esclerose Múltipla	19	4,5	8	5,4	42,1	0,6240
Hidrocefalia	15	3,6	6	4,1	40,0	0,7846
SD motora	15	3,6	5	3,4	33,3	NS
SGB	14	3,3	5	3,4	35,7	NS
DN	13	3,1	3	2,0	23,1	0,5565
Demência	12	2,9	3	2,0	25,0	0,5524
Mielite	8	1,9	3	2,0	37,5	NS
Neuropatia	8	1,9	4	2,7	50,0	0,4604
TC	7	1,7	3	2,0	42,9	0,7010
Meningoencefalite	7	1,7	3	2,0	42,9	0,7010
SD cerebelar	5	1,2	2	1,4	40,0	NS
Total	420	100	148	100	-	-

Legenda: Valor-p: teste exato de Fisher; F / M: Feminino / Masculino; TI: triagem infecciosa/sepse; SD: Síndrome; SGB: Síndrome de Guillain-Barré; DN: Doenças neurodegenerativa; TC: Transtorno de comportamento.

Em relação aos exames bioquímicos dos testes de rotina realizados no LCR, a média em mg/dL dos resultados de proteínas totais nas amostras com identificação viral positivas por NAAT foi 56,8 (DP: 70,9) e negativas 58,7 (DP: 63,9). A glicose em LCR foi observada em concentração média de 69,4 mg/dL nas amostras NAAT positivas e 69,8 mg/dL nas amostras NAAT negativas. Glicose sérica não foi solicitado em todos os pacientes, não sendo esse critério avaliado. A contagem de células (glóbulos vermelhos e glóbulos brancos) no LCR não apresentou diferença estatística, assim como os índices de proteína e glicose, quando comparadas entre as amostras com identificação de genomas virais positivas por NAAT e negativas (Tabela 5).

Tabela 5: Comparativo entre os resultados dos parâmetros laboratoriais padrão referentes a amostra LCR com resultados positivos e negativos mediante identificação viral dos pacientes atendidos no HC/Unicamp entre 2017-2018

	Amostras negativas			Amostras positivas			valor p
	Média (± DP)	Mediana	25% -75%	Média (± DP)	Mediana	25% -75%	
Partículas do LCR							
Proteína total (mg/dL)	56,8 (± 70,9)	40	31-57,3	58,7 (± 63,9)	43	31-63	0,4602
Glicose (mg/dL)	69,4 (± 20,4)	63	57-75	69,8 (± 27,2)	61,5	55-78,3	0,1874
Hemácias /mm ³	409,2 (± 4.093,7)	7,5	1-47	113,7 (± 263,1)	9,5	1-90,3	0,1908
Leucócitos /mm ³	21,5 (± 259,7)	2	1-3	61,5 (± 428,6)	2	1-5	0,3790

Legenda: Valor-p - teste de Mann Whitney. LCR: líquido cefalorraquidiano; IQR: referência interquartil; DP: desvio padrão.

Apenas um tipo de genoma viral identificado nas amostras foi observado em 128/148 (86,5%) amostras, sendo o vírus DENV o genoma mais frequentemente identificado, seguido por EV, HHV-6 e ZIKV, com 56/148 (37,8%), 23/148 (15,5%), 23/148 (15,5%) e 18/148 (12,2%), respectivamente. O VZV foi identificado em 5/148 (3,4%) amostras e o EBV foi identificado em 2 amostras em monodeteção e o HCMV e YFV em um caso cada um.

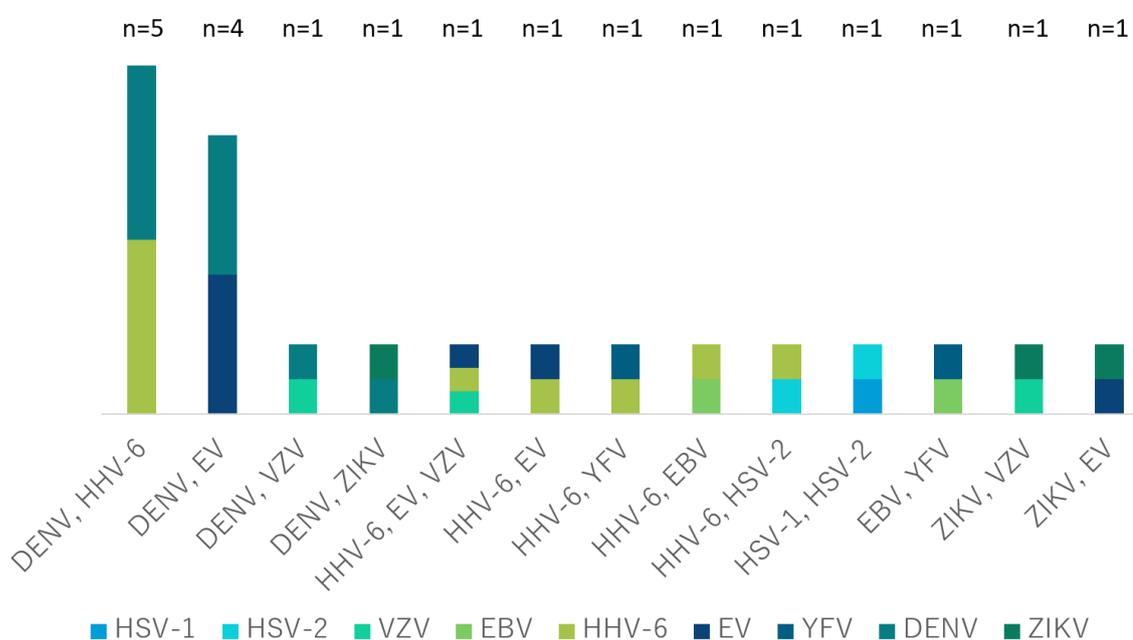
O genoma do vírus HSV-2 foi identificado apenas juntamente a outro vírus, ou seja, codeteção, de forma que em uma amostra foi detectado com genoma de HSV-1 e outra com HHV-6.

A codeteccção foi identificada em 20/148 (13,5%) pacientes. 19/20 (95%) deles tinham dois vírus identificados na mesma amostra, sendo três vírus em uma mesma amostra identificado em 1/20 (5%) (com o padrão de identificação sendo HHV-6 + EV + VZV). O genoma do vírus DENV foi identificado em 11/20 (55%) dessas amostras: 5/20 (25%) com HHV-6, 4/20 (20%) com EV, 1/20 com VZV (5%) e 1/20 com ZIKV (5%).

O genoma do HHV-6 foi o segundo vírus mais identificado na codeteccção, sendo observado em 10/20 (50%) desses casos: além do já descrito, foi observado com EBV (1/20, 5%), YFV (1/20, 5%) e EV em 2/20 (10%) amostras.

Em relação à codeteccção, houve uma amostra de cada um dos seguintes perfis: EBV + YFV, ZIKV + VZV e ZIKV + EV, representando 5% dos casos de codeteccção cada (Figura 1).

Figura 1: Casos de identificação de dois ou mais genomas virais (codeteccção) na mesma amostra por meio das técnicas de amplificação de ácido nucleico (NAAT) nas amostras estudadas



Legenda: HSV-1: vírus do Herpes simplex-1; HSV-2: vírus do Herpes simplex-2; VZV: vírus da Varicela-Zoster; EBV: vírus Epstein-Barr; HCMV: citomegalovírus humano; HHV-6: herpesvírus humano 6; EV: Enterovírus não-polio; DENV: vírus da dengue; YFV: vírus da febre amarela; ZIKV: vírus Zika.

O genoma do DENV foi identificado em 67/148 (45,3%), de forma que em 42/67 (62,7%) amostras tinham genomas virais identificados pela técnica da Real-time PCR e 33/67 (49,2%) por meio da técnica da NPCR; apenas a NPCR adotada é

capaz de distinguir sorotipos. A concordância aconteceu em 8/67 (11,9%) casos. Quanto aos sorotipos, DENV-1 foi detectado em 4/33 (12,1%), DENV-2 em 14/33 (42,4%), DENV-3 em 5/33 (15,1%) e o DENV-4 foi identificado em 11/33 (33,3%) amostras. Quanto às codeteccões, o genoma de DENV-1 foi observado em um caso com EV; DENV-2 foi observado em caso com VZV e 3 casos com EV; DENV-3, além da identificação conjunta com o genoma do vírus DENV-4, foi observado em outra amostra com o genoma do vírus HHV-6, em uma amostra cujo a identificação por Real-time PCR não pode ser realizada; DENV-4 também foi identificado em uma amostra em conjunto ao genoma do HHV-6.

Para confirmação da identificação do genoma do EV foi realizado o sequenciamento utilizando os iniciadores HK (112). O sítio de ancoragem dos indicadores é conservado entre as espécies, com variação sequencial em fragmento interno. Apenas 10 amostras foram analisadas por sequenciamento Sanger, em decorrência da disponibilidade de material. Todas as 10 foram confirmadas.

Os *amplicons* resultantes da amplificação genômica do EV que foram sequenciados e confirmados através técnica de sequenciamento Sanger e análise *in silico* por meio da tecnologia BLAST encontram-se em *Apêndice II*.

As ocorrências de identificação dos genomas virais nas amostras de LCR estão descritas na Tabela 6, apresentando características gerais sobre os pacientes nos quais os vírus foram detectados, considerando idade (mediana), gênero e as hipóteses diagnósticos atribuídas aos pacientes aos quais o LCR foi coletado. Apenas uma HD foi atribuída por caso, entretanto, o genoma de mais de um vírus pode ser identificado na mesma amostra.

Foram observadas diferenças estatísticas significativas quanto aos casos de meningite para a identificação do genoma de HHV-6 ($p:0,0395$); neurite óptica e identificação de genoma de EV ($p:0,0081$) e; neurite óptica e identificação do genoma do vírus ZIKV ($p: 0,0381$) em relação a ocorrência dos positivos em relação aos negativos. Os vírus HSV-1, HSV-2, VZV, EBV, HCMV e YFV não foram analisados mediante tabela de contingência 2x2, considerando o baixo impacto dos valores estatísticos atribuídos ao baixo número de amostras positivas para esses vírus (Tabela 7). As HD sem diferença (ou tendencia de diferença) estatísticas para os vírus HHV-6, EV, DENV e ZIKV (respectivamente $p>0,05$ e $p>0,09$) não foram incluídas na Tabela 7.

Tabela 6. Frequência dos resultados dos testes de identificação de genomas virais positivos associadas às HD apresentadas pelos pacientes adultos com síndromes neurológicas atendidos no HC/Unicamp entre 2017-2018

	HSV-1	HSV-2	VZV	EBV	HCMV	HHV-6	EV	DENV	YFV	ZIKV
POS (n=420) (%)	1 (0,2)	2 (0,5)	8 (1,9)	4 (1,0)	1 (0,2)	32 (7,6)	30 (7,1)	67 (15,9)	3 (0,7)	21 (5,0)
Idade – Mediana (Mín-Máx.)	34 (-)	26 (18-34)	43 (26-78)	43 (35-52)	26 (-)	52 (18-75)	47,5 (18-76)	47 (18-83)	58 (35-72)	35 (18-76)
Sexo -F / M (%/%)	1/0 (100/0)	1/1 (50/50)	4/4 (50/50)	3/1 (75/25)	1/0 (100/0)	18/14 (56/44)	19/11 (63/37)	37/30 (55/45)	2/1 (67/ 33)	10/11 (52/48)
Hipóteses diagnósticas*										
Demência	-	-	-	-	-	1	-	1	-	1
TC	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-
DN	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-
Encefalite	-	-	1	-	-	2	1	4	2	2
Encefalopatia	1	1	-	-	-	2	3	13	-	2
Epilepsia	-	-	1	-	-	2	1	4	-	2
Esclerose Múltipla	-	-	1	-	-	2	2	3	-	-
SGB	-	-	-	-	-	-	3	3	-	1
Hidrocefalia	-	-	-	-	-	3	1	4	-	-
Meningite	-	1	3	1	-	9	4	11	-	2
Meningoencefalite	-	-	-	-	-	2	-	2	-	-
Mielite	-	-	-	1	-	2	1	1	-	-
Neurite	-	-	-	1	-	1	6	1	1	4
Neuropatia	-	-	-	-	1	2	-	1	-	-
SD cerebelar	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1
SD motora	-	-	-	-	-	1	1	2	-	1
Triagem infecciosa	-	-	2	1	-	3	6	11	-	5

Legenda: HSV-1: vírus do Herpes simplex-1; HSV-2: vírus do Herpes simplex-2; VZV: vírus da Varicela-Zoster; EBV: vírus Epstein-Barr ; HCMV: citomegalovírus humano ; HHV-6: herpesvírus humano 6; EV: Enterovírus não-pólio ; DENV: vírus da dengue ; YFV: vírus da febre amarela ; ZIKV: vírus Zika ; POS: detecção de PCR positiva ; F/M: Feminino / Masculino; TC: Transtorno de comportamento; DN: Doença neurodegenerativa; SD: Síndrome; SGB: Síndrome de Guillain-Barré. *Uma hipótese diagnóstica foi relacionada a amostra de LCR de cada paciente, entretanto mais de um vírus pode ser detectado por paciente.

Tabela 7: Resultados dos valores de teste t de Fisher entre as HD dos pacientes com genomas dos vírus estudados identificados no LCR e resultados negativos

	HHV-6	EV	DENV	ZIKV
Hipóteses diagnósticas	P-Valor	P-Valor	P-Valor	P-Valor
SGB	0,6132	0,0701	0,4758	0,5180
Hidrocefalia	0,0975	NS	0,2748	NS
Meningite	<u>0,0395</u>	NS	0,7106	0,7533
Meningoencefalite	0,0929	NS	0,3100	NS
Neurite	0,7099	<u>0,0081</u>	0,0993	<u>0,0381</u>

Legenda: HHV-6: Herpesvírus humano 6; EV: Enterovírus não-pólio; DENV: vírus da dengue; ZIKV: vírus Zika; SGB: Síndrome de Guillain-Barré. NS: Não estatisticamente significante; P-Valor: Teste exato de Fisher.

Quanto aos sinais e sintomas apresentados pelos pacientes, foram observados: cefaleia (62 casos), febre (47 casos), sintomas ópticos (36 casos), vômito/náuseas (30 casos), fraqueza de membros inferiores (27 casos), sintoma respiratório (24 casos), visão turva (24 casos), sonolência (24 casos), fraqueza em membros superiores (18 casos), rebaixamento de nível de consciência (16 casos), parestesia (15 casos), fraqueza simétrica (15 casos), dor retro orbital (13 casos), rigidez na nuca (13 casos), tontura (12 casos), sintoma cardíaco (12 casos), tremores (11 casos), diarreia (10 casos), irritabilidade (10 casos), disfagia (9 casos), edema (8 casos), diplopia (8 casos), convulsão (7 casos), prostração (6 casos), mialgia (6 casos), coma (6 casos), disartria (5 casos), paresia facial (5 casos), arreflexia (5 casos), dispneia (4 casos), conjuntivite (3 casos), disfonia (3 casos), hiperreflexia (3 casos), artralgia (2 casos) e prurido (1 caso). Mais de um sinal ou sintoma foi descrito por paciente (Tabela 8).

Detalhes individuais estão descritos no Apêndice I. Quanto à terapia com ATB, esta foi adotada em 56/148 (37,8%) casos, sendo utilizado de maneira profilática, uma vez que todas as amostras foram negativas para cultura microbiana (Tabela 8).

As HD observadas e as variáveis sintomatológicas que os pacientes com genoma dos vírus identificado em suas amostras foram relacionados, e estão na Tabela 9.

Os casos de pacientes com positividade para identificação de genomas viras e que evoluíram para óbito estão descritos a seguir:

Cinco pacientes com genoma de vírus identificado em amostra de LCR foram a óbito. A seguir, estão descritos os casos relacionados a esses pacientes:

1. Paciente do sexo feminino, 78 anos, **DENV+**, hospitalizada (2 dias) em triagem infecciosa. Apresentou dificuldades de mobilidade e paresia facial; causa do óbito: doença vascular periférica e septicemia.

2. Paciente do sexo masculino, 60 anos, com HD de Encefalopatia e identificação de cefaleia, **DENV+**, em tratamento radiológico de carcinoma espinocelular (imunocomprometido);

3. Paciente do sexo feminino, 52 anos, imunocomprometida, febre (39°C), **EBV+**, hospitalizada com por triagem infecciosa, apresentando confusão mental, rebaixamento do nível de consciência, sonolência e coma. Ela foi avaliada como uma triagem infecciosa inconclusiva, com causa de morte associada à sepse;

4. Paciente do sexo feminino, 63 anos, apresentou meningoencefalite, imunocomprometida devido à transplante renal (há 17 anos). Apresentou picos de febre (chegando a 39°C), com sintomas de falta de apetite, confusão mental, diarreia, bradicardia e insuficiência renal. Positivo para dois vírus na mesma amostra (**HHV-6+DENV+**);

5. Paciente masculino, de 34 anos com HIV+. Apresentou amostra positiva para **ZIKV+**. Teve sintomas de náusea, fraqueza muscular, insuficiência respiratória e foi hospitalizado devido a um grave rebaixamento no nível da consciência, febre, vômito e diarreia.

Tabela 8: Variáveis sintomáticas e complementares atreladas aos pacientes adultos com síndromes neurológicas e prevalência viral dos casos de LCR positivo pelas das técnicas de amplificação de ácido nucleico

Variáveis	HSV-1	HSV-2	VZV	EBV	HCMV	HHV-6	EV	DENV	YFV	ZIKV
	N %	N %	N %	N %	N %	N %	N %	N %	N %	N %
Cefaleia* (n=62)	1 1,6	2 3,2	4 6,5	2 3,2	- -	17 27,4	30 48,4	28 45,2	1 1,6	10 16,1
Febre* (n=47)	- -	1 2,1	4 8,5	2 4,3	- -	15 31,9	10 21,3	17 36,2	- -	7 14,9
Conjuntivite* (n=3)	- -	- -	- -	- -	- -	- -	1 33,3	- -	- -	2 66,7
Dor retro orbital*	-	-	1	-	-	3	2	4	-	5

(n=13)	-	-	7,7	-	-	23,1	15,4	30,8	-	38,5
Sintomas ópticos*	-	-	-	1	-	3	8	17	1	7
(n=36)	-	-	-	2,8	-	8,3	22,2	47,2	2,8	19,4
Prostração*	-	-	1	1	-	1	1	3	1	-
(n=6)	-	-	16,7	16,7	-	16,7	16,7	50,0	16,7	-
Mialgia*	1	1	-	-	-	1	1	2	-	1
(n=6)	16,7	16,7	-	-	-	16,7	16,7	33,3	-	16,7
Vômito/Náuseas*	-	1	4	-	-	5	7	13	-	6
(n=30)	-	3,3	13,3	-	-	16,7	23,3	43,3	-	20,0
Artralgia*	-	-	-	-	-	-	-	2	-	1
(n=2)	-	-	-	-	-	-	-	100,0	-	50,0
Diarreia*	-	-	1	-	-	3	2	5	-	3
(n=10)	-	-	10,0	-	-	30,0	20,0	50,0	-	30,0
Prurido*	-	-	-	1	-	1	-	-	-	-
(n=1)	-	-	-	100	-	100	-	-	-	-
Edema*	-	-	1	1	-	1	-	4	-	2
(n=8)	-	-	12,5	12,5	-	12,5	-	50,0	-	25,0
Tontura*	-	-	-	-	-	4	1	6	-	2
(n=12)	-	-	-	-	-	33,3	8,3	50,0	-	16,7
Dispneia*	-	-	-	-	-	-	3	1	-	2
(n=4)	-	-	-	-	-	-	75,0	25,0	-	50,0
Sintoma cardíaco*	-	-	-	-	-	1	1	7	1	4
(n=12)	-	-	-	-	-	8,3	8,3	58,3	8,3	33,3
Sintoma respiratório*	-	-	1	-	-	3	5	11	-	8
(n=24)	-	-	4,2	-	-	12,5	20,8	45,8	-	33,3
Irritabilidade*	1	1	1	1	-	1	-	4	-	3
(n=10)	10,0	10,0	10,0	10,0	-	10,0	-	40,0	-	30,0
Disfagia*	-	-	-	-	-	2	3	3	1	3
(n=9)	-	-	-	-	-	22,2	33,3	33,3	11,1	33,3
Fraqueza simétrica*	1	1	2	-	-	5	1	7	1	1
(n=15)	6,7	6,7	13,3	-	-	33,3	6,7	46,7	6,7	6,7
Tremores*	-	-	1	1	-	3	2	5	1	2
(n=11)	-	-	9,1	9,1	-	27,3	18,2	45,5	9,1	18,2
Diplopia*	-	-	1	-	-	2	1	2	-	3
(n=8)	-	-	12,5	-	-	25,0	12,5	25,0	-	37,5
Rigidez na nuca*	1	1	1	-	-	7	2	3	1	1
(n=13)	7,7	7,7	7,7	-	-	53,8	15,4	23,1	7,7	7,7
Parestesia*	-	-	-	-	1	4	3	7	1	1
(n=15)	-	-	-	-	6,7	26,7	20,0	46,7	6,7	6,7
Disartria*	-	-	-	-	-	2	2	1	1	1
(n=5)	-	-	-	-	-	40,0	40,0	20,0	20,0	20,0
Visão turva*	-	-	-	1	-	3	7	7	1	6
(n=24)	-	-	-	4,2	-	12,5	29,2	29,2	4,2	25,0
Disfonia*	-	-	-	-	-	1	1	1	-	-
(n=3)	-	-	-	-	-	33,3	33,3	33,3	-	-
Fraqueza MMS*	1	1	1	-	-	5	7	12	1	4
(n=18)	5,6	5,6	5,6	-	-	27,8	38,9	66,7	5,6	22,2
Fraqueza MMI*	1	1	2	-	-	3	5	5	1	4
(n=27)	3,7	3,7	7,4	-	-	11,1	18,5	18,5	3,7	14,8
Paresia Facial	-	-	-	-	-	1	-	3	-	1
(n=5)	-	-	-	-	-	20,0	-	60,0	-	20,0
Sonolência*	-	-	1	2	-	7	4	9	1	3
(n=24)	-	-	4,2	8,3	-	29,2	16,7	37,5	4,2	12,5
Hiperreflexia*	-	-	-	1	-	1	-	2	-	-
(n=3)	-	-	-	33,3	-	33,3	-	66,7	-	-
Arreflexia*	-	-	-	-	-	2	1	1	-	1
(n=5)	-	-	-	-	-	40,0	20,0	20,0	-	20,0

RNC*	-	-	3	-	-	2	5	5	-	4
(n=18)	-	-	16,7	-	-	11,1	27,8	27,8	-	22,2
Convulsão	-	3	-	-	-	2	1	4	-	2
(n=10)	-	30	-	-	-	20	10	40	-	20
Coma*	-	-	-	2	-	-	1	2	1	1
(n=6)	-	-	-	33,3	-	-	16,7	33,3	16,7	16,7
Óbito*	-	-	-	1	-	1	-	3	-	1
(n=5)	-	-	-	20,0	-	20,0	-	60,0	-	20,0
Hospitalização*	1	2	2	2	-	21	18	36	1	13
(n=83)	1,2	2,4	2,4	2,4	-	25,3	21,7	43,4	1,2	15,7
Imunodepressão*	-	-	-	2	-	9	10	21	-	11
(n=44)	-	-	-	4,5	-	20,5	22,7	47,7	-	25,0
Antibioticoterapia*	-	1	4	2	-	15	10	21	-	11
(n=56)	-	1,8	7,1	3,6	-	26,8	17,9	37,5	-	19,6
Terapia antiviral*	-	-	2	-	-	5	3	4	-	4
(n=14)	-	-	14,3	-	-	35,7	21,4	28,6	-	28,6

Legenda: HSV-1: vírus do herpes simplex-1; HSV-2: vírus do Herpes simplex-2; VZV: vírus Varicela-Zoster; EBV: vírus Epstein-Barr; HHV-6: herpesvírus humano 6; EV: Enterovírus; YFV: vírus da febre amarela; ZIKV: vírus zika; n: Número de casos de positividade para vírus e manifestação clínica; MMI: Membros inferior; MMS: Membros superior; RNC: Rebaixamento de nível de consciência. *variável observado em codeteccção em mesma amostra proporcionando somatória superior ao n.

Tabela 9. Compilação das hipóteses diagnósticas e variáveis sintomatológicas observadas relacionadas aos pacientes com genomas virais identificados nas amostras de LCR

Vírus	Hipótese diagnóstica	Variáveis
HSV-1	Encefalopatia	Cefaleia, mialgia, irritabilidade, fraqueza simétrica, rigidez na nuca, fraqueza MMI, fraqueza MMS.
HSV-2	Encefalopatia, meningite.	Cefaleia, febre, mialgia, vomito/náuseas, irritabilidade, fraqueza simétrica, rigidez na nuca, fraqueza MMI, fraqueza MMS.
VZV	Encefalite, epilepsia, esclerose múltipla, meningite, triagem infecciosa.	Cefaleia, febre, dor retro orbital, prostração, vomito/náuseas, diarreia, edema, sintomas respiratórios, irritabilidade, fraqueza simétrica, tremores, diplopia, rigidez na nuca, fraqueza MMI, fraqueza MMS, sonolência, rebaixamento de nível de consciência, convulsão.
EBV	Meningite, mielite, neurite e triagem infecciosa.	Cefaleia, febre, sintomas ópticos, prostração, prurido, edema, irritabilidade, tremores, visão turva, sonolência, hiperreflexia, coma, óbito.
HCMV	Neuropatia.	Parestesia.
HHV-6	Demência, encefalite, encefalopatia, esclerose múltipla, hidrocefalia, meningite, meningoencefalite, mielite, neurite, neuropatia, síndrome motora, triagem infecciosa.	Cefaleia, febre, dor retro orbital, sintomas ópticos, prostração, mialgia, vomito/náuseas, diarreia, prurido, edema, tontura, sintomas cardíacos, sintomas respiratórios, irritabilidade, disfagia, fraqueza simétrica, tremores, diplopia, rigidez na nuca, parestesia, disartria, visão turva, disфонia, fraqueza MMI, fraqueza MMS, paresia facial, sonolência, hiperreflexia, arreflexia, rebaixamento de nível de consciência,

EV	Epilepsia, esclerose múltipla, hidrocefalia, síndrome de Guillain-Barré, meningite, mielite, neurite, encefalite, encefalopatia, síndrome cerebelar, síndrome motora, triagem infecciosa.	convulsão, óbito. Cefaleia, febre, conjuntivite, dor retro orbital, sintomas ópticos, prostração, mialgia, vômito/náuseas, diarreia, tontura, dispnéia, sintomas cardíacos, sintomas respiratórios, disfagia, fraqueza simétrica, tremores, diplopia, rigidez na nuca, parestesia, disartria, visão turva, disfonia, fraqueza MMI, fraqueza MMS, sonolência, arreflexia, rebaixamento de nível de consciência, convulsão, coma.
DENV	Demência, transtorno de comportamento, doença neurodegenerativa, encefalite, encefalopatia, epilepsia, esclerose múltipla, síndrome de Guillain-Barré, hidrocefalia, meningite, meningoencefalite, mielite, neurite, neuropatia, síndrome motora, triagem infecciosa.	Cefaleia, febre, dor retro orbital, sintomas ópticos, prostração, mialgia, vômito/náuseas, artralgia, diarreia, edema, tontura, dispnéia, sintomas cardíacos, sintomas respiratórios, irritabilidade, disfagia, fraqueza simétrica, tremores, diplopia, rigidez na nuca, parestesia, disartria, visão turva, disfonia, fraqueza MMI, fraqueza MMS, paresia facial, sonolência, hiperreflexia, arreflexia, rebaixamento de nível de consciência, convulsão, coma, óbito.
YFV	Encefalite e neurite.	Cefaleia, sintomas ópticos, prostração, sintomas cardíacos, disfagia, fraqueza simétrica, tremores, rigidez na nuca, parestesia, disartria, visão turva, fraqueza, fraqueza MMI, fraqueza MMS, sonolência, coma.
ZIKV	Demência, encefalite, encefalopatia, epilepsia, síndrome de Guillain-Barré, meningite, neurite, síndrome cerebelar, síndrome motora, triagem infecciosa.	Cefaleia, febre, conjuntivite, dor retro orbital, sintomas ópticos, mialgia, vômito/náuseas, artralgia, diarreia, edema, tontura, dispnéia, sintomas cardíacos, sintomas respiratórios, irritabilidade, disfagia, fraqueza simétrica, tremores, diplopia, rigidez na nuca, parestesia, disartria, visão turva, fraqueza MMI, fraqueza MMS, paresia facial, sonolência, arreflexia, rebaixamento de nível de consciência, convulsão, coma, óbito.

Legenda: HSV-1: vírus do herpes simplex-1; HSV-2: vírus do Herpes simplex-2; VZV: vírus Varicela-Zoster; EBV: vírus Epstein-Barr; HHV-6: herpesvírus humano 6; EV: Enterovírus; YFV: vírus da febre amarela; ZIKV: vírus zika; MMI: Membros inferior; MMS: Membros superior.

Quanto à identificação do genoma dos HHV, HSV-1 foi identificado em um paciente, cuja amostra também possuía genoma de HSV-2, apresentando encefalopatia e sintomas incluindo cefaleia, irritabilidade e fraqueza simétrica. O outro paciente com HSV-2 apresentou meningite, sendo ambos pacientes com HSV-2 que foram hospitalizados.

O diagnóstico mais frequente para os casos de VZV foi meningite, com 3/8 casos. Triagem infecciosa, esclerose múltipla, epilepsia e encefalite também foram diagnósticos observados para os pacientes com identificação positiva para o genoma do VZV, com as variáveis febre, cefaleia e náuseas, sendo as mais frequentes. Dois pacientes com VZV foram hospitalizados e 4/8 fizeram uso de ATB.

A identificação do genoma do HCMV foi o menos expressivo, com um caso de paciente com parestesia e diagnóstico de neuropatia.

Os casos de LCR com genoma de HHV-6 foram bastante heterogêneos, embora cefaleia (17/32, 53,1%), febre (15/32, 46,9%), rigidez na nuca e sonolência (ambos com 7/32 casos cada, 21,9%) fossem as manifestações mais frequentes. 21/32 (65,6%) dos pacientes com genoma de HHV-6 no LCR foram hospitalizados, sendo 15/32 (46,9%) tratados com ATB. Meningite, manifestação mais frequente nos casos de HHV-6, com 9/32 casos (28,1%), apresentou diferença estatística significativa ($p < 0,05$) em relação aos casos com identificação negativa.

A identificação do RNA de EV ocorreu em pacientes com diversas manifestações. Houve predomínio de casos com HD inicial identificado como neurite óptica (6/30, 20,0% e valor de p : 0,0081, logo $> 0,05$), triagem infecciosa (6/30, 20,0%) e meningite (4/30, 13,3%). A SGB foi observada em 10% dos casos (3/30), com tendência à diferença estatisticamente significativa em relação aos casos com identificações negativas para vírus estudados (como apresentado na Tabela 7).

Quanto às arboviroses, a identificação do RNA do vírus DENV foi a maior, sendo este o mais prevalente vírus em circulação observado neste estudo. DENV foi identificado em pacientes com diversas hipóteses diagnósticas, com exceção à síndrome cerebelar. Por sua vez, o genoma de DENV foi identificado em 13/67 (19,4%) dos casos de encefalopatia e 11/67 (16,4%) pacientes com meningite, dentre outros casos com menor associação. A hospitalização ocorreu em 36/67 (53,7%) dos casos e em 21/67 (31,3%) pacientes foi administrado ATB. Os sintomas mais prevalentes foram cefaleia 28/67 (41,8%) seguido por febre e sintomas ópticos (como visão turva) em 17 casos cada (25,4%).

O diagnóstico mais frequente nos casos de identificação positiva para genoma de YFV foi encefalite, observado em 2/3 dos casos.

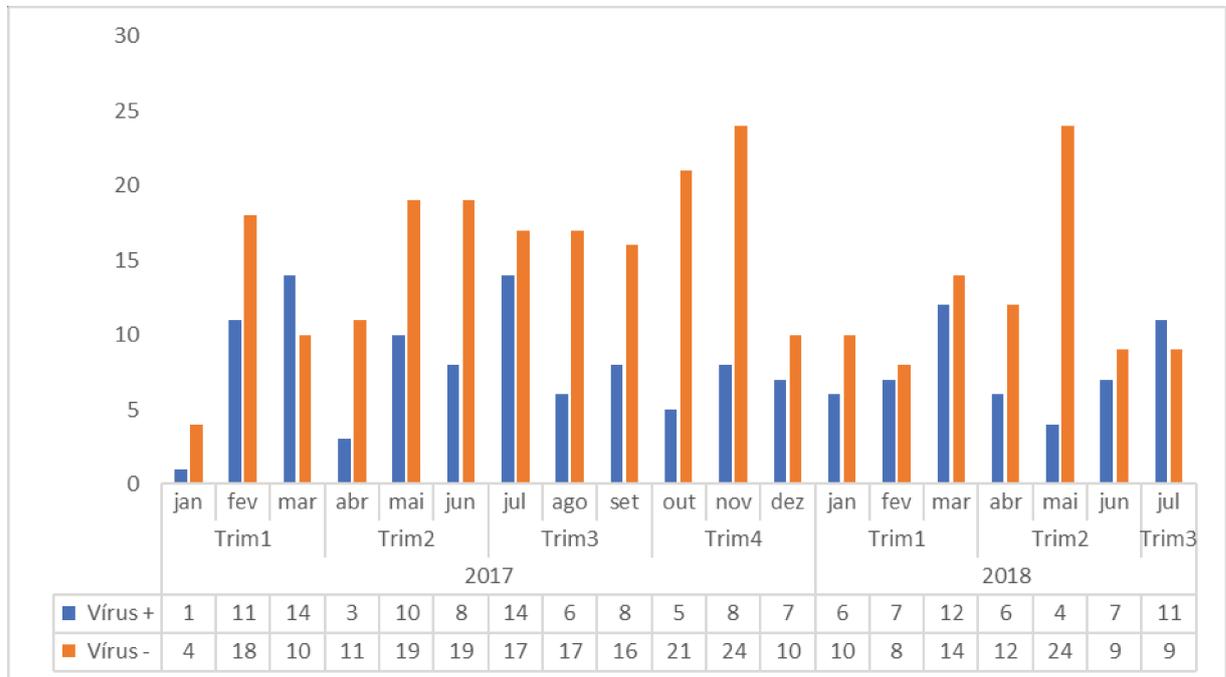
O RNA do vírus ZIKV foi identificado em casos com HD iniciais diferentes, sendo 5/21 (23,8%) dos casos relacionado a triagem infecciosa, seguido em frequência por 4/21 (19,0%) casos de neurite ópticas, sendo essas as HD mais frequentes. Porém, 4/27 (14,8%) pacientes com a HD de neurite óptica tiveram ZIKV, apontando uma diferença estatisticamente significativa para esse vírus ($p: 0,0381$). Os sintomas mais frequentemente observados foram cefaleia (10/21, 47,6%), seguido por sintomas respiratórios (coriza, tosse) (8/21, 38,1%), febre e sintomas

ópticos (como pupila de Marcus-Gunn) (7/21, 33,3% cada). 8/21 (38,1%) dos pacientes foram medicados com ATB. Foi o vírus relacionado ao maior percentual de hospitalização nos pacientes cujo LCR foi identificado positivo para este vírus, com 15/21 (71,4%) dos casos.

A sazonalidade da obtenção das amostras permitiu inferir os dados de ocorrência mensal quanto a detecção dos vírus, apresentando as informações de forma descritiva. Na Figura 2 foi registrado a cinética da detecção sazonal em comparação dos resultados de amostras positivas para a identificação de genoma viral por meio das técnicas empregadas de amplificação desses materiais com aquelas em que a presença de DNA ou RNA viral não pode ser observada. O mês de março de 2017 foi o mês com maior percentual de detecção viral em relação ao mês vigente, com 58,3% das amostras (14/24) positivas. O mês de maio de 2018 teve a maior diferença baseado na menor taxa de identificação de genoma viral no mês, com 14,3% amostras positivas (4/28).

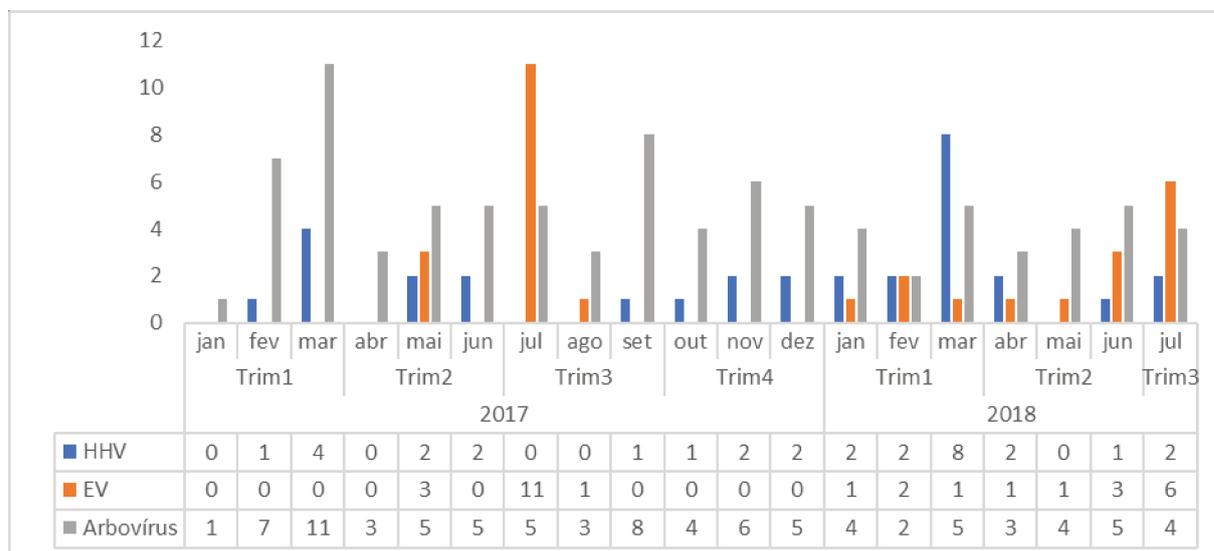
A Figura 3 ilustra os resultados positivos para detecção viral, por meio dos grupos de vírus HHV, EV e agrupando os arbovírus. Os meses com maior detecção dos genomas virais foram março de 2017 para os arbovírus (descrita de modo a separar os arbovírus em Figura 4) com 73,3% (11/15) dos casos, HHV foi mais frequente no mês de março de 2018, com 8/15 (53,3%) das detecções naquele mês e o EV com maior ocorrência em julho de 2017, com 68,8% (11/16) das detecções, sendo que em julho de 2018, houve novo aumento na detecção do EV.

Figura 2: Dispersão sazonal das amostras de LCR obtidas para identificação de genomas virais separadas por identificação positiva por NAAT e identificação negativa



Legenda: jan: janeiro; fev: Fevereiro; mar: Março; abr: Abril; mai: Maio; jun: Junho; jul: Julho; ago: Agosto; set: Setembro; out: Outubro; nov: Novembro; dez: Dezembro; Trim: Trimestre do ano.

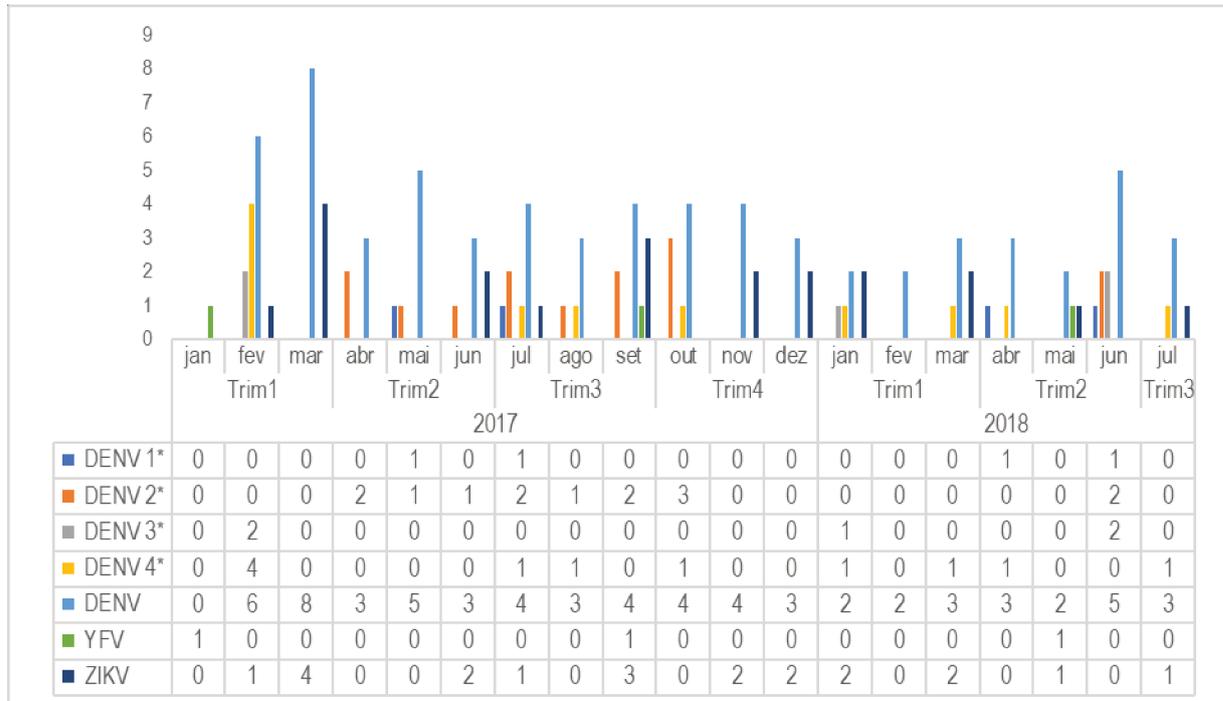
Figura 3: Dispersão sazonal de identificação de genomas virais por meio de NAAT nas amostras de LCR separadas entre herpesvírus, enterovírus e arbovírus



Legenda: jan: Janeiro; fev: Fevereiro; mar: Março; abr: Abril; mai: Maio; jun: Junho; jul: Julho; ago: Agosto; set: Setembro; out: Outubro; nov: Novembro; dez: Dezembro; Trim: Trimestre do ano; HHV: Herpesvírus; Ev: enterovírus não-polio.

O gráfico de sazonalidade da Figura 4 mostra a identificação dos genomas virais das amostras positivas para os arbovírus, separando ZIKV, YFV e DENV; este último dividido em detecção total de DENV e de forma a contemplar a apresentação dos sorotipos de DENV, quando possível. Março de 2017, assim como o comparativo entre os demais vírus, foi o mês com maior frequência de identificação de arbovírus, com 8 casos de identificação de genoma de DENV no LCR, incluindo um caso de codetecção com o vírus ZIKV. A identificação do genótipo do vírus DENV tipo 4 (DENV-4) foi identificado no mês de fevereiro de 2017 com mais frequência, considerando os resultados aos quais foi possível fazer a identificação dos 4 sorotipos.

Figura 4: Dispersão sazonal da identificação dos genomas virais dos arbovírus por meio de NAAT nas amostras de LCR



Legenda: jan: Janeiro; fev: Fevereiro; mar: Março; abr: Abril; mai: Maio; jun: Junho; jul: Julho; ago: Agosto; set: Setembro; out: Outubro; nov: Novembro; dez: Dezembro; Trim: Trimestre do ano; DENV 1: Dengue sorotipo 1; DENV 2: Dengue sorotipo 2; DENV 3: Dengue sorotipo 3; DENV 4: Dengue sorotipo 4; DENV: Somatória de todos os casos positivos para o vírus Dengue (n=67); YFV: Vírus da Febre Amarela; ZIKV: Zika vírus; *Apresentação da identificação das amostras cujo sorotipo de DENV foi diferenciado.

5. DISCUSSÃO

Neste estudo descritivo transversal, investigamos a presença de genomas de agentes etiológicos virais associados a síndromes neurológicas agudas de 420 pacientes adultos, a partir da análise de amostras de LCR, com resultados de exames de cultura negativos para fungos e bactérias. A aplicação de diferentes testes moleculares permitiu detectar vírus em 35,2% das amostras que permaneceriam sem patógeno relacionado. A detecção desses agentes mostra circulação das espécies virais na região de Campinas, capazes de apresentar associação a neuroinfecção.

Técnicas clássicas, como a coloração de *Gram*, utilizada em diversos casos, como nos casos de meningite, pode ser inconclusiva em cerca 70% dos casos, como expõe Nesher e colaboradores (88). Isso propicia, pela baixa sensibilidade, um número elevado de casos que permanecem sem identificação. As NAAT tendem a ser mais específicas e sensíveis, sendo uma importante ferramenta diagnóstica. A identificação de qualquer patógeno (ou parte dele, como o ácido nucleico) em uma amostra estéril, como o LCR, pode ter implicação clínica, uma vez que essa detecção pode ter associação a uma infecção (63, 65, 88).

Com este estudo, foi possível complementar a investigação nestas mesmas amostras analisadas e constatar em 35,2% (148/420) destas amostras um ou mais genoma(s) (DNA e/ou RNA) dos vírus estudados utilizando técnicas moleculares. Ainda que não seja inédito um hospital terciário não realizar todos os exames virológicos, como apresenta Escosteguy e colaboradores, é importante que laboratórios de referência realizem identificações de agentes virais, reduzindo essa lacuna mediante a investigação de agentes infecciosos não virais (101). Com isso, as análises sentinelas e a vigilância virológica são importantes para que não ocorra subdetecção, o que de maneira individual pode impactar no prognóstico do paciente, além de ocasionar subnotificação, tendo impacto nas estratégias de políticas de saúde pública e de manejo de doenças infectocontagiosas (101).

A ausência do diagnóstico do agente etiológico envolvido nos casos de infecção pode direcionar a tratamentos equivocados e desnecessários. Neste estudo observamos que em 56/148 (37,8%) dos pacientes com identificação positiva para algum genoma viral foi utilizado ATB, ainda que com cultura negativa ou outra evidência de infecção bacteriana. O tratamento preconizado em suspeita de infecção

de SN é o uso empírico de ATB, dado o risco de uma infecção bacteriana, como das meningites, encefalites, etc. Assim, provavelmente buscando mitigar riscos associados a infecções de SNC bacterianas, com um índice importante de morbidades associadas, faz-se o uso dessas terapias. Porém, os riscos para o uso desnecessário de ATB existem, como seleção de cepas resistentes, desequilíbrio em microbiota e efeitos adversos, incluindo a toxicidade atrelada, o que pode lesionar outros tecidos do indivíduo, além de gastos com aquisição e administração desses fármacos, bem como com internações desnecessárias e ocupação de leitos. Para aqueles em internação, a melhora não acontece com uso de ATB, expondo o paciente a mais riscos, como a aquisição de infecções nosocomiais e aos efeitos do uso equivocado de medicamentos (1, 3, 63, 65, 113, 116).

O diagnóstico focado em um maior número de patógenos reduz o número de subdetecções, de forma que ressalta-se a importância da vigilância quanto aos casos virais, restando uso desnecessário de ATB, principalmente considerando que 35,2% amostras foram negativas para as técnicas microbiológicas mais tradicionais (1, 3, 63, 65, 113, 116), trazendo um percentual semelhante a outros estudos de mesma natureza, como o estudo de Abid e colaboradores, com identificação de agentes virais em 38% dos casos (1).

Considerando a identificação de 35,2% de agentes etiológicos virais em amostras de LCR que estavam sem agente detectado, mais de um terço das amostras foram relacionadas a agentes virais. Entretanto, ainda há uma lacuna em que 65% dos pacientes que permanecem sem diagnóstico. Esse índice já foi apontado, de maneira semelhante, por Abid e colaboradores (1). Isso evidencia a importância da pesquisa de outros agentes infecciosos não apenas por técnicas tradicionais, como cultura. Fica evidente uma lacuna diagnóstica ao qual, ao menos um terço, poderia ter agente estabelecido, porém, mais agentes poderiam ser incluídos na investigação para suprir o diagnóstico nessas amostras ainda inconclusivas. Esses resultados negativos remanescentes podem ser causados por outros organismos, virais ou não. Ou ainda, essa subdetecção pode estar associada a alguma limitação inerente ao método adotado: A sensibilidade do NAAT depende da carga viral e o tempo de armazenamento LCR podem influenciar nos resultados (1, 3, 63, 65, 113).

Sobre as amostras do LCR, outro fato que pode se relacionar a baixa detecção pode ser inerente ao tempo até que o paciente procure assistência (e geralmente

procurará após o aparecimento dos sintomas) e assim a coleta do material e o consequente processamento será feito com atraso considerando o pico da viremia, o que resulta em um possível clareamento viral, isso é, a redução do número de vírions circulantes e detectáveis (que pode ocorrer de forma espontânea ou provocada resposta do sistema imunológico), levando a um resultado falso negativo (1, 3, 63, 65, 113).

A comparação entre os pacientes cujas amostras foram detectadas agentes virais e que permaneceram negativas não mostrou diferença estatística em relação às proteínas, glicose, hemácias e leucócitos, mostrando baixos valores preditivos de infecção viral. A análise comparativa dos padrões típicos dos parâmetros do LCR nas síndromes neurológicas agudas seguiu as proporções esperadas. A concentração de proteína e glicose geralmente é normal ou até ligeiramente aumentada em vigência de infecção viral, o que foi observado na maioria dos casos deste estudo. A ausência de diferença estatística significativa entre as amostras positivas para a detecção viral e negativas evidenciam a importância da pesquisa de agentes etiológicos virais nas amostras, de forma que basear o diagnóstico apenas nesses achados, pode ser inconclusivo. É desejável que a investigação de glicose em LCR tenha como comparativo o valor sérico, entretanto, essa solicitação não foi realizada sistematicamente para todos os pacientes (10, 65, 114).

Nas informações registradas em prontuários clínicos no momento da infecção aguda quanto a HD inicial e na coleta de amostras do LCR, algumas hipóteses foram semelhantes nos pacientes com identificação de genoma viral no LCR dos pacientes aos quais não foi possível atribuir um agente etiológico pelas metodologias utilizadas no presente estudo. Isso denota que a HD inicial não é preditiva para desfecho diagnóstico. Da mesma forma, o padrão sindrômico pode não ser conclusivo, de forma que a relação de amostras com vírus detectado e pacientes afebris foi de 68,2%. O padrão afebril pode ser considerado incomum inclusive para algumas viroses, como aponta Majumdar e colaboradores, entretanto cabe atenção para possível risco de infecção por esses agentes mesmo sem alteração de temperatura (117). Esses padrões incomuns podem propiciar atraso no diagnóstico e consequentemente levar a tratamento inadequado. Exames complementares são relevantes para aquisição do diagnóstico mais conclusivo e não se deve subestimar ou negligenciar o potencial dano de uma infecção viral, pois estão presentes em

mais de um terço dos casos dessa coorte e que permaneceriam sem evidência de agente etiológico.

Os arbovírus têm circulado em várias partes do mundo com epidemias exclusas e circulação endêmica, como o Brasil, o que reforça sua importância. Assim, em regiões em que o ambiente é degradado por ações antrópicas e há crescimento desordenado das regiões urbanas invadindo território silvestre sem planejamento adequado, aliados a todas as alterações climáticas presentes na atualidade, há favorecimento para o aparecimento de vetores artrópodes. Esses vetores, como o *Aedes aegypti* e o *A. albopictus*, ao buscar fonte de repasto, disseminam cepas virais distintas para a população humana. Com isso, há um cenário favorável para a ocorrência de surtos relacionados a arboviroses, bem como a instalação de novas variedades virais exóticas, uma vez que os vetores já se encontram adaptados ao ambiente urbano (11, 12, 115).

Entre os arbovírus estudados, 67/148 (45,3%) dos casos foram associados ao genoma de DENV, houve detecção de 21/148 (14,2%) casos de ZIKV e 3/148 casos de YFV (2,0%) em amostras de LCR. Outras variedades de arbovírus estudados não foram identificados, mas isso não reduz sua relevância, uma vez que não há opções terapêuticas e profiláticas adequadas para maior parte dos arbovírus e a vigilância virológica torna-se fundamental para o reconhecimento das espécies circulantes. A vigilância virológica é uma relevante ferramenta para direcionamento de medidas de saúde pública bem como controle e prevenção desses arbovírus, como o ZIKV e a DENV, em nossa região e em todo o mundo (11, 12, 115).

O DENV foi o genoma viral mais prevalente encontrado nas amostras avaliadas, presente em quase metade das amostras positivas (45,3%), representando 15,9% de todos os pacientes incluídos no estudo (67/420). É notável que entre os casos não houve características ou manifestações sintomatológicas marcantes, considerando diferenças estatísticas entre os casos com identificação negativa para o vírus. Assim, com a ausência de uma característica que possa ser considerada preditora ou ainda estatisticamente tendenciosa para o direcionamento da suspeita clínica, destaca-se a necessidade de vigilância em todos os casos, mostrando potencial pluripotente em relação a esse vírus.

A ausência de sintomas clássicos de DENV, como choque, hemorragia e trombocitopenia, o que pode dificultar a suspeita da infecção por esse agente, já foi apontado em outro estudo (2). A queixa de cefaleia foi a manifestação mais

frequente nos pacientes com positividade para DENV, com 28/67 (41,8%) dos casos, embora sintomas ópticos também tenham sido observados em 17/67 (25,4%) dos casos, ainda que este último não seja tão frequente quanto observado no caso de pacientes positivos para genoma de ZIKV e EV.

Quanto a relação de HD e DENV, 13/67 (19,4%) dos casos foi associado a encefalopatia seguido por pacientes com HD de meningite e triagem infecciosa, cada um com 11/67 (16,4%). Entretanto, várias HD observadas nos pacientes incluídos foram associadas a esse vírus, sendo o DENV o vírus com padrão mais diversos observado. A detecção dos diferentes sorotipos foi possível em 49,2% dos casos de DENV incluídos nesse estudo, uma vez que a metodologia de Real-time PCR faz a detecção do gênero DENV, sem diferenciar sorotipos. Os 4 sorotipos foram identificados em circulação por meio das amostras de LCR, com predomínio do vírus DENV-2 (42,4% dos casos com identificação das variantes) e DENV-4, com detecção dessa variedade em 33,3% dos casos. A circulação de todos os sorotipos de DENV já foi descrita no Brasil, também com predominância de DENV-2 e DENV-4. A cocirculação expõe a população a mais riscos de doenças, principalmente considerando que 60% (3/5) de todos os casos de pacientes que foram a óbito possuíam genoma de DENV em sua amostra, o que não indica relação causal, dada a limitação a respeito da baixa ocorrência de óbitos, mas que sugere atenção. As evidências dos riscos de infecção por DENV em relação aos resultados neurológicos foram descritas na literatura, o que deve levar a um aumento da conscientização sobre a importância do diagnóstico diferencial e a relevância do diagnóstico molecular viral (2, 11, 12, 115, 118).

A tabulação dos dados de sazonalidade permite observação de uma pequena série temporal, de forma descritiva. Com isso, é possível notar que, embora ocorra maior frequência dos casos de DENV em março de 2017, há a identificação do genoma desse vírus ao longo de todo ano, mostrando circulação dos vetores e que a vigilância virológica deve ser constante. É esperado que vírus que dependam de artrópodes apresentem ciclo de sazonalidade semelhante ao vetor, que tende a ocorrer mais em períodos quentes e úmidos, como o verão. Outros fatores associados à disseminação, são os movimentos migratórios e ecológicos dos vetores e a mobilidade de indivíduos (119-121).

O ZIKV, desde o importante surto de 2015, tornou-se um relevante arbovírus, considerando seu potencial de morbimortalidade. Os efeitos da infecção pelo ZIKV

levaram a extensas pesquisas sobre a microcefalia congênita e outras afecções de SNC relacionadas a esse vírus. No entanto, os adultos apresentam um espectro de manifestações, incluindo complicações neurológicas, como foi descrito a respeito dos eventos em 2013, após o surto na Polinésia Francesa, por Oehler e colaboradores (122-127).

No presente estudo, o genoma do ZIKV foi identificado em 21/148 (14,2%) amostras de LCR. Quanto aos sintomas, algumas alterações, principalmente em relação às complicações respiratórias e ópticas, foram mais notáveis. Manifestações ópticas estavam presentes, mostrando a importância do ZIKV nessas complicações e provável tropismo pelo nervo óptico. Dois terços dos pacientes deste estudo tiveram conjuntivite e identificação de genoma de ZIKV positivos. Outras manifestações visuais, que inclui amaurose, escotomia, visão turva e as pupilas de Marcus Gunn foram observadas em pacientes com ZIKV identificado em LCR. Com a gravidade das infecções por ZIKV e o vírus podendo ser detectado em distintos fluidos corporais mesmo após os sintomas (o que denota atraso no clareamento viral e fonte de transmissão sem papel do vetor). Ainda observando a importância dos achados ópticos em relação a detecção desse vírus, é interessante que haja cautela no diagnóstico clínico, não negligenciando esse patógeno ao diagnosticar infecções e alterações nos olhos (122-125, 128).

Houve 3/420 (0,7%) casos de YFV, 2 dos quais apresentaram encefalite. Essa baixa frequência, 0,7%, foi semelhante a achados em outro estudo no mesmo país em período semelhante, utilizando amostras de soro, por de Sousa Costa e colaboradores (66). Isso pode estar relacionado às evidências de reemergência do YFV e do surto de circulação silvestre do vírus em 2016. Esse vírus também circula em outros países da América do Sul, exigindo a uma vigilância constante de um possível novo surto. Cada amostras de LCR positiva para YFV foi obtida em um intervalo de cerca de 8 meses, mostrando a circulação do vírus em vários períodos. É importante ressaltar que, embora tenha havido uma grande campanha de vacinação contra o vírus da febre amarela nesse período, devido ao aumento de casos de provável origem silvestre, a vacinação pode estar associada a alguns sintomas, porém não houve registro de vacinação em prontuário desses pacientes (66, 129).

O EV é um dos principais agentes etiológicos virais relacionados à infecção neurológica viral aguda, amplamente relacionada a casos de meningite em todo o

mundo. Neste estudo, o EV foi detectado em 20,3% (30/148) amostras de LCR. Foi observado em 4/30 (13,3%) dos casos de meningite, um percentual inferior que a associação de meningite e DENV (16,4%). Isso expõe uma maior associação de meningite com outros vírus, o DENV, reduzindo comparativamente a alta frequência de EV em adultos. Isso não reduz a alta frequência do EV nas amostras estudadas, mas reforça a relevância do DENV na região de Campinas durante o período de coleta. A sintomatologia descrita para esses casos é de grande diversidade e foi observada que o sintoma de cefaleia foi de grande frequência, presente em (30/30) 100% dos casos de identificação de genoma positivo para EV, achado semelhante a Soares e colaboradores, em 2011 (130). A dispneia foi uma manifestação pouco presente, porém em 3 desses 4 casos o EV foi identificado. O EV estava presente nas amostras de LCR de pacientes diagnosticados como neurite óptica em 6/30 casos (20,0% e valor de p : 0,0081). Isso mostra importância para esse achado, uma vez que esses seis casos de neurite óptica representam 22,2% (6/27) dos casos dessa HD e, junto ao ZIKV, evidenciam relevância na investigação viral de doenças oftalmológicas. A SGB também foi identificada em quatro pacientes, um com DENV-1 (mencionado acima), uma condição atípica, porém com precedentes na literatura (2, 3, 66, 81, 126, 128, 130, 131).

A análise de sazonalidade para o EV tende a apresentar padrão semelhante quando comparado a estudos nos Estados Unidos da América, com maior frequência de detecção nos meses de julho a setembro. Entretanto, muito se associa a padrões climáticos opostos do observado no Brasil: no período de maior detecção do vírus em nosso estudo, o hemisfério sul se encontra no inverno ao passo que no hemisfério norte, é um período mais quente e úmido. Entretanto, inferir os principais motivos a respeito da sazonalidade do EV ainda é complexo, ainda que em estudos com observação do padrão por cerca de 30 anos, correlacionando padrões demográficos e epidemiológicos. Com isso há um campo ainda a ser explorado para compreensão mais robusta a respeito da dispersão e ocorrência dos casos de infecção por EV, com um acompanhamento abrangendo uma maior linha cronológica (120, 132).

A família *Herpesviridae* inclui vírus com a atribuída capacidade de estabelecer latência bem como provocar manifestações neurológicas. Essas manifestações podem ocorrer em distintos momentos da infecção, seja em uma infecção primária ou em uma reativação viral. Ainda que sejam classificados como uma família viral,

as doenças associadas ao HHV podem variar. Porém, meningite e encefalite estão amplamente relacionadas a essa família (3, 10, 13-16, 24).(24)

HSV-1 e HSV-2 são vírus ubíquo, distribuídos amplamente na população mundial. Quando considerados em infecções neurológicas, esses vírus se associam a manifestações graves do SNC e até a casos letais, devido ao neurotropismo. No entanto, no nosso estudo, estes vírus foram pouco prevalentes, sendo HSV-1 detectado em apenas uma amostra, e essa também com presença de HSV-2. Essa baixa detecção pode estar relacionada com a coorte do estudo, ainda que ambos os vírus possuam alta soroprevalência na população que já foi exposta, tende a ser detectado em coortes de pacientes com menos de 15 anos de idade e imunocomprometidos (3, 24).

O HSV-2 não foi identificado sozinho, sendo a outra amostra de LCR proveniente de um paciente com síndrome febril infecciosa submetida a triagem infecciosa e HD inicial de meningite, cujo HHV-6 também foi detectado.

Quanto ao VZV, foi identificado junto a outros vírus, em um caso com HHV-6+EV, a única detecção de três patógenos em uma mesma amostra de LCR. VZV também foi identificado com ZIKV. Em 4 casos, também foram registradas alterações na concentração de proteínas (faixa de 80 a 184 mg/dL). O paciente com a codetecção com os 3 vírus relatou que ela tinha desenvolvido sífilis no passado e reportou ter contactado uma pessoa com tuberculose, mas a sorologia foi negativa para ambos os patógenos. Não havia informações clínicas relacionadas ao estado imunológico de todos os pacientes, mas todos os quatro pacientes com informações a esse respeito eram imunocompetentes. Geralmente, a infecção por VZV no SNC tende a ser autolimitada, sendo descrita como predominante em crianças. A reativação do VZV na ausência de erupção cutânea e lesão cutânea é conhecida como *zoster sine herpate*, então os devem-se considerar o VZV como causa potencial de meningite, mesmo sem essas lesões (24, 25)

O genoma de EBV foi identificado em 4/148 (2,7%) amostras positivas para infecções virais, uma taxa menor do que a encontrada por Bastos e colaboradores, com uma prevalência de 23,7% dos casos de EBV em pacientes com mais de 15 anos, mas superior a um estudo na Espanha realizado por Ory e colaboradores, (1,2%) em 1,5 pontos percentuais (3, 133).

O HCMV é um vírus intimamente relacionado a quadros clínicos complexos, mas em nosso estudo esse vírus foi identificado em apenas uma amostra. A

paciente do sexo feminino, 26 anos, apresentou neuropatia idiopática sensível, realizando triagem infecciosa para elucidar o caso e se encontrava afebril, mostrando diagnóstico difícil. Um estudo realizado por Rimério e colaboradores, foi identificado mais casos de HCMV, usando o mesmo método de diagnóstico e amostras de LCR, embora em outro momento cronológico e com outros pacientes. Neste estudo de Rimério e colaboradores, o HCMV foi identificado em 26,8% de todos os casos positivos, incluindo pacientes sem restrição de idade (109). Um estudo realizado por Ory e colaboradores, foram analisadas 566 amostras, encontrando positividade em relação ao HCMV de 4 (1,6%) pacientes (133). Vários fatores podem estar relacionados a esse número reduzido, assim como a outros HHVs. As variações podem ser devidas a diferentes grupos (que podem incluir diferenças socioeconômicas), tempo de coleta e processamento das amostras, ausência da replicação ativa do vírus ou até falha no método. Quanto ao método, foram adotados todos os recursos disponíveis para mitigar o risco de falso-negativo, ou seja, testando todas as amostras com gene de referência e utilizando controles positivos em todas as reações, tornando esse risco reduzido. Um fato relevante é a latência dos HHVs e a alta prevalência sorológica encontrada em relação a essa família viral não reflete a infecção ativa viral; portanto, a detecção de partículas latentes também pode influenciar em uma prevalência maior de infecção, de acordo com alguns estudos (2, 3, 93, 109, 133).

O HHV-6 foi o genoma de HHV mais prevalente identificado neste estudo, com 32/148 (21,6%) casos entre os casos positivos para qualquer vírus, um achado incomum: alguns estudos têm um índice inferior a 1%, quando se concentram em pacientes com exclusivamente encefalite e meningite. A relação entre esse vírus e a encefalite é bem descrita na literatura, porém no presente estudo, a hipótese clínica mais frequente foi a meningite, com 9/32 casos (28,1%), apresentando diferença estatística significativa ($p:0,0395$). O HHV-6 foi detectado em 2/10 (20%) dos casos de encefalite e infecção viral. A cefaleia foi a manifestação mais prevalente nos pacientes com HHV-6, com 17/32 (53,1%) apresentando esse sintoma. A febre foi documentada em 15/32 (46,9%) pacientes. 13/148 (8,8%) pacientes apresentaram rigidez do pescoço, dos quais 7/13 (53,8%) foram positivos para o HHV-6, mostrando importante relação ao comparar aos outros vírus que raramente apresentavam esse sintoma (24, 134).

Alguns vírus, porém, incluídos neste estudo, não foram identificados no LCR pelos métodos utilizados. Outro estudo com foco em investigar vírus no Brasil também não encontrou ROCV, ILHV, AURA, WNV, SLEV, WEEV, EEEV, VEEV e MAYV. Em nosso estudo, o CHIKV não foi encontrado no LCR. Alguns estudos têm evidências de circulação desses vírus desde os últimos anos no Brasil e a vigilância epidemiológica deve ser incentivada para estar preparado para um eventual surto futuro (3, 57, 135, 136).

A ausência de identificação de alguns genomas virais pode estar relacionada a alguns pontos limitantes do presente estudo, além da real ausência de circulação das espécies virais na nossa região. O tempo para o processamento das amostras foi um fator limitante, uma vez que foi necessário esperar cerca de sete dias pós-coleta para obtenção do material. Embora acondicionadas em local e temperatura adequados, o tempo para o processamento pode estar associado a degradação do material genético, por exemplo, por meio da ação das DNAses e RNAses em ácidos nucleicos virais, resultando na redução da detecção viral. Entretanto, as formas de acondicionamento e transporte sempre buscaram reduzir o impacto da ação desses fatores. Da mesma forma, a cinética e o comportamento viral são de difícil previsão, contudo, caso fosse possível, o monitoramento desses quadros poderia prover maior poder estatístico ao relacionar a presença dos vírus com as manifestações apresentadas, propondo um acompanhamento contínuo das viremias.

A obtenção das informações clínicas de todos os pacientes é complexa e depende de fatores externos a pesquisa, como a disponibilidade dos prontuários e o registro de informações presentes nos mesmos. Por consequência, foi realizada verificação dos achados referentes a aqueles com amostras positivas, mas dados acerca de todos os pacientes poderiam enriquecer as análises, embora não tenham sido resgatadas.

A inclusão de exames adicionais e complementares, como os de imagem neurológica, com ressonância magnética e tomografia computadorizada, embora não proposto como objetivo do estudo em decorrência a limitações relativas ao projeto inicial (como cronograma do estudo e disponibilidade de laudos), poderiam oferecer resultados relevantes, portanto poderão ser realizados em estudos futuros. Um número amostral superior poderia prover achados mais robustos quanto ao impacto estatístico, assim como a utilização de um grupo controle para comparação dos achados em LCR. Contudo, embora amostragens com reduzidos números têm

igualmente reduzido poder estatístico, os nossos resultados podem contribuir em direção ao avanço científico e orientar achados posteriores. Os dados de sazonalidade ficam limitados ao breve período estudado, de forma que estudos mais longínquos poderiam ser extrapolados de maneira mais fidedigna, acompanhando a dinâmica viral em uma prolongada série histórica. Ainda que os vetores de arbovírus sejam circulantes em áreas diferentes do Brasil e do mundo, os vírus não ocorrem com a mesma frequência, podendo o perfil de positividade ser distinto com pacientes diferentes, de regiões igualmente diversas e em séries históricas assíncronas.

O estudo teve como foco a detecção de agentes virais em as amostras sem diagnóstico estabelecido por técnicas moleculares. Com isso foi possível obter resultados quanto aos padrões sintomatológicos e HD dos pacientes, bem como comparar os relevantes achados de partículas em LCR entre amostras com e sem vírus detectados. Esse último comparativo traz uma relevante revelação, mostrando ausência de diferença estatística, o que, conseqüentemente, reduz o valor preditivo desses achados, mediante o direcionamento do diagnóstico. Da mesma forma, a detecção de agente viral em mais de um terço das amostras sem diagnóstico definido expõe a relevância da aplicação dessas técnicas moleculares para o diagnóstico e vigilância. Foi possível detectar distintas espécies virais associadas a HD iniciais relevantes, inclusive considerando que o HC/Unicamp atende casos complexos.

A verificação do risco associado a codetecção dos vírus com outros agentes também poderiam ser realizada. Com isso, estudos futuros para o acompanhamento da circulação dessas viroses devem continuar ocorrendo, verificando a manutenção dos padrões sintomatológicos. Ainda assim, observando amostras com material agora relacionado a agentes virais, foi possível verificar padrões sintomatológicos e HD com esses achados. Estudos para relacionar os achados de genomas virais com de espécies classificadas em outros reinos podem contribuir para elucidação de casos complexos.

A biologia molecular, com a aplicação do NAAT, pode compor arsenal de ferramentas de importância fundamental para a aquisição de um diagnóstico preciso, quando adotadas. Assim, a vigilância viral deve ser estimulada e incentivada a verificar a circulação de espécies virais. E, da mesma forma, o diagnóstico dessas infecções deve ser estimulado, garantindo maior conhecimento a respeito dessas viroses, além de propiciar tratamento específico para pacientes acometidos por

esses agentes, reduzindo tratamentos e gastos desnecessários. Em países como o Brasil, com vários vírus endêmicos, essa vigilância deve ser constante e o diagnóstico encorajado. Investigação por meio de técnicas modernas de biologia molecular podem fornecer resultados rápidos e confiáveis, complementando uma lacuna investigativa das técnicas tradicionais.

6. CONCLUSÕES

- Em pacientes adultos (n=148), internados ou não, e atendidos no HC/Unicamp entre janeiro de 2017 e julho de 2018, com resultados negativos quanto a busca de patógenos não-virais foram identificados genomas de diferentes vírus.
- A detecção e identificação dos vírus presentes nas amostras estudadas foram:
 - Flaviviridae (ZIKV, DENV, YFV);
 - Picornaviridae;
 - Herpesviridae (HSV-1, HSV-2, VZV, EBV, HCMV e HHV- 6).
- As HD iniciais foram associadas aos casos com a detecção dos vírus bem como identificado o HD relacionado aos casos que os agentes virais não foram identificados.
- Os sinais e sintomas apresentado pelos pacientes com identificação viral positiva foram descritos no estudo.
- A comparação dos achados laboratoriais em relação às proteínas, glicose, hemácias e leucócitos de pacientes com resultados positivos para a análise de ácidos nucleicos virais, obtidos das amostras do LCR com aqueles sem vírus detectados, não mostrou diferença estatística.
- A testagem virológica mostrou-se uma ferramenta para investigação de agentes etiológicos infecciosos e poderia ser incluído na rotina, aumentando a capacidade de fornecer resultado acurado para os pacientes atendidos no HC/Unicamp.

Estudos sentinelas fornecem informações sobre a circulação de organismos para direcionamento das investigações. Foi possível identificar várias espécies virais circulantes em pacientes atendidos no HC/Unicamp, Campinas, no período citado, em amostras de LCR de pacientes que estavam sem diagnóstico de agente etiológico relacionado ao quadro desenvolvido. Considerando que alguns achados laboratoriais não diferenciam amostras com presença viral e o padrão sindrômico

pode não direcionar ao diagnóstico, fica evidente a importância da pesquisa virológica na rotina laboratorial para elucidar as patologias associadas aos pacientes atendidos em um hospital terciário.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ben Abid F, Abukhattab M, Ghazouani H, Khalil O, Gohar A, Al Soub H, et al. Epidemiology and clinical outcomes of viral central nervous system infections. *Int J Infect Dis.* 2018;73:85-90.
2. Mawuntu AHP, Bernadus JBB, Dhenni R, Wiyatno A, Anggreani R, Feliana, et al. Detection of central nervous system viral infections in adults in Manado, North Sulawesi, Indonesia. *PLoS One.* 2018;13(11):e0207440.
3. Bastos MS, Lessa N, Naveca FG, Monte RL, Braga WS, Figueiredo LT, et al. Detection of Herpesvirus, Enterovirus, and Arbovirus infection in patients with suspected central nervous system viral infection in the Western Brazilian Amazon. *J Med Virol.* 2014;86(9):1522-7.
4. Soung A, Klein RS. Viral Encephalitis and Neurologic Diseases: Focus on Astrocytes. *Trends Mol Med.* 2018;24(11):950-62.
5. Vieira DS, Zambenedetti MR, Requião L, Borghetti IA, Luna LKS, Santos AOD, et al. Epidemiological profile of Zika, Dengue and Chikungunya virus infections identified by medical and molecular evaluations in Rondonia, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2019;61:e40.
6. Meningites virais. *Rev Saúde Pública* 2006;40(4):748-50.
7. Studahl M, Lindquist L, Eriksson BM, Günther G, Bengner M, Franzen-Röhl E, et al. Acute viral infections of the central nervous system in immunocompetent adults: diagnosis and management. *Drugs.* 2013;73(2):131-58.
8. Bloch KC, Glaser CA. Encephalitis Surveillance through the Emerging Infections Program, 1997-2010. *Emerg Infect Dis.* 2015;21(9):1562-7.
9. Michael BD, Solomon T. Seizures and encephalitis: clinical features, management, and potential pathophysiologic mechanisms. *Epilepsia.* 2012;53 Suppl 4:63-71.
10. Ludlow M, Kortekaas J, Herden C, Hoffmann B, Tappe D, Trebst C, et al. Neurotropic virus infections as the cause of immediate and delayed neuropathology. *Acta Neuropathol.* 2016;131(2):159-84.
11. Lanciotti RS, Kosoy OL, Laven JJ, Panella AJ, Velez JO, Lambert AJ, et al. Chikungunya virus in US travelers returning from India, 2006. *Emerg Infect Dis.* 2007;13(5):764-7.
12. Lanciotti RS, Kosoy OL, Laven JJ, Velez JO, Lambert AJ, Johnson AJ, et al. Genetic and serologic properties of Zika virus associated with an epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. *Emerg Infect Dis.* 2008;14(8):1232-9.
13. Cinque P, Bossolasco S, Lundkvist A. Molecular analysis of cerebrospinal fluid in viral diseases of the central nervous system. *J Clin Virol.* 2003;26(1):1-28.

14. Chesky M, Scalco R, Failace L, Read S, Jobim LF. Polymerase chain reaction for the laboratory diagnosis of aseptic meningitis and encephalitis. *Arq Neuropsiquiatr*. 2000;58(3B):836-42.
15. Challoner PB, Smith KT, Parker JD, MacLeod DL, Coulter SN, Rose TM, et al. Plaque-associated expression of human herpesvirus 6 in multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995;92(16):7440-4.
16. Whitley RJ. Herpes simplex encephalitis: adolescents and adults. *Antiviral Res*. 2006;71(2-3):141-8.
17. Grinde B. Herpesviruses: latency and reactivation - viral strategies and host response. *J Oral Microbiol*. 2013;5.
18. Weidner-Glunde M, Kruminis-Kaszkiel E, Savanagoudar M. Herpesviral Latency-Common Themes. *Pathogens*. 2020;9(2).
19. Mahiet C, Ergani A, Huot N, Alende N, Azough A, Salvaire F, et al. Structural variability of the herpes simplex virus 1 genome in vitro and in vivo. *J Virol*. 2012;86(16):8592-601.
20. Dan K, Miyashita K, Seto Y, Yamase T. Quantitation of herpes simplex viral DNA in Vero cells for evaluation of an antiviral agent using the polymerase chain reaction. *J Virol Methods*. 1998;76(1-2):73-9.
21. Tyler KL. Herpes simplex virus infections of the central nervous system: encephalitis and meningitis, including Mollaret's. *Herpes*. 2004;11 Suppl 2:57A-64A.
22. Dolan A, Jamieson FE, Cunningham C, Barnett BC, McGeoch DJ. The genome sequence of herpes simplex virus type 2. *J Virol*. 1998;72(3):2010-21.
23. Cohen JL. The varicella-zoster virus genome. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2010;342:1-14.
24. Baldwin KJ, Cummings CL. Herpesvirus Infections of the Nervous System. *Continuum (Minneapolis, Minn)*. 2018;24(5, Neuroinfectious Disease):1349-69.
25. Domingues RB, Teixeira AL. Management of acute viral encephalitis in Brazil. *Braz J Infect Dis*. 2009;13(6):433-9.
26. Cohen JL. Epstein-Barr virus infection. *N Engl J Med*. 2000;343(7):481-92.
27. Epstein MA, Achong BG. The EB virus. *Annu Rev Microbiol*. 1973;27:413-36.
28. Imai S, Usui N, Sugiura M, Osato T, Sato T, Tsutsumi H, et al. Epstein-Barr virus genomic sequences and specific antibodies in cerebrospinal fluid in children with neurologic complications of acute and reactivated EBV infections. *J Med Virol*. 1993;40(4):278-84.
29. Jenson HB. Epstein-Barr virus. *Pediatr Rev*. 2011;32(9):375-83; quiz 84.
30. Croen KD. Latency of the human herpesviruses. *Annu Rev Med*. 1991;42:61-7.

31. Taylor GS, Long HM, Brooks JM, Rickinson AB, Hislop AD. The immunology of Epstein-Barr virus-induced disease. *Annu Rev Immunol.* 2015;33:787-821.
32. Friedman S, Ford-Jones EL. Congenital cytomegalovirus infection - An update. *Paediatr Child Health.* 1999;4(1):35-8.
33. Landolfo S, Gariglio M, Gribaudo G, Lembo D. The human cytomegalovirus. *Pharmacol Ther.* 2003;98(3):269-97.
34. Goodrum F. Human Cytomegalovirus Latency: Approaching the Gordian Knot. *Annu Rev Virol.* 2016;3(1):333-57.
35. Agut H, Bonnafous P, Gautheret-Dejean A. Laboratory and clinical aspects of human herpesvirus 6 infections. *Clin Microbiol Rev.* 2015;28(2):313-35.
36. Mohammadpour Touserkani F, Gaínza-Lein M, Jafarpour S, Brinegar K, Kapur K, Loddenkemper T. HHV-6 and seizure: A systematic review and meta-analysis. *J Med Virol.* 2017;89(1):161-9.
37. Agnihotri SP. Central Nervous System Opportunistic Infections. *Semin Neurol.* 2019;39(3):383-90.
38. Hill JA. Human herpesvirus 6 in transplant recipients: an update on diagnostic and treatment strategies. *Curr Opin Infect Dis.* 2019;32(6):584-90.
39. Ogata M, Satou T, Kawano R, Goto K, Ikewaki J, Kohno K, et al. Plasma HHV-6 viral load-guided preemptive therapy against HHV-6 encephalopathy after allogeneic stem cell transplantation: a prospective evaluation. *Bone Marrow Transplant.* 2008;41(3):279-85.
40. Fida M, Hamdi AM, Bryson A, Razonable RR, Abu Saleh O. Long-term Outcomes of Patients With Human Herpesvirus 6 Encephalitis. *Open Forum Infect Dis.* 2019;6(7):ofz269.
41. Salavert M, Granada R, Díaz A, Zaragoza R. [Role of viral infections in immunosuppressed patients]. *Med Intensiva.* 2011;35(2):117-25.
42. Razonable RR, Hayden RT. Clinical utility of viral load in management of cytomegalovirus infection after solid organ transplantation. *Clin Microbiol Rev.* 2013;26(4):703-27.
43. Cavallo R, Elia M, Gruosso V, Curtoni A, Costa C, Bergallo M. Molecular epidemiology of Epstein-Barr virus in adult kidney transplant recipients. *Transplant Proc.* 2010;42(7):2527-30.
44. Smith JM, Dharnidharka VR. Viral surveillance and subclinical viral infection in pediatric kidney transplantation. *Pediatr Nephrol.* 2015;30(5):741-8.
45. Wenderfer SE. Viral-associated glomerulopathies in children. *Pediatr Nephrol.* 2015;30(11):1929-38.

46. De Clercq E. Antivirals and antiviral strategies. *Nat Rev Microbiol*. 2004;2(9):704-20.
47. Elion GB. Acyclovir: discovery, mechanism of action, and selectivity. *J Med Virol*. 1993;Suppl 1:2-6.
48. Mendoza LP, Bronzoni RV, Takayanagui OM, Aquino VH, Figueiredo LT. Viral infections of the central nervous system in Brazil. *J Infect*. 2007;54(6):589-96.
49. Verma R, Sahu R, Holla V. Neurological manifestations of dengue infection: a review. *J Neurol Sci*. 2014;346(1-2):26-34.
50. Brogueira P, Miranda AC. Zika Virus: Emergence of an Old Known. *Medicina Interna* 2017. p. 146-53.
51. Salimi H, Cain MD, Klein RS. Encephalitic Arboviruses: Emergence, Clinical Presentation, and Neuropathogenesis. *Neurotherapeutics*. 2016;13(3):514-34.
52. Hull R, Nattanmai S, Kramer LD, Bernard KA, Tavakoli NP. A duplex real-time reverse transcriptase polymerase chain reaction assay for the detection of St. Louis encephalitis and eastern equine encephalitis viruses. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2008;62(3):272-9.
53. Mondini A, Cardeal IL, Lázaro E, Nunes SH, Moreira CC, Rahal P, et al. Saint Louis encephalitis virus, Brazil. *Emerg Infect Dis*. 2007;13(1):176-8.
54. Martins LC, Silva EVPD, Casseb LMN, Silva SPD, Cruz ACR, Pantoja JAS, et al. First isolation of West Nile virus in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2019;114:e180332.
55. Silva ASG, Matos ACD, da Cunha MACR, Rehfeld IS, Galinari GCF, Marcelino SAC, et al. West Nile virus associated with equid encephalitis in Brazil, 2018. *Transbound Emerg Dis*. 2019;66(1):445-53.
56. de Souza Lopes O, Coimbra TL, de Abreu Sacchetta L, Calisher CH. Emergence of a new arbovirus disease in Brazil. I. Isolation and characterization of the etiologic agent, Rocio virus. *Am J Epidemiol*. 1978;107(5):444-9.
57. Figueiredo LT. Emergent arboviruses in Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2007;40(2):224-9.
58. Silva JR, Romeiro MF, Souza WM, Munhoz TD, Borges GP, Soares OA, et al. A Saint Louis encephalitis and Rocio virus serosurvey in Brazilian horses. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2014;47(4):414-7.
59. Pauvolid-Corrêa A, Kenney JL, Couto-Lima D, Campos ZM, Schatzmayr HG, Nogueira RM, et al. Ilheus virus isolation in the Pantanal, west-central Brazil. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013;7(7):e2318.
60. Gardner CL, Ryman KD. Yellow fever: a reemerging threat. *Clin Lab Med*. 2010;30(1):237-60.

61. Chen LH, Wilson ME. Yellow fever control: current epidemiology and vaccination strategies. *Trop Dis Travel Med Vaccines*. 2020;6:1.
62. Silva NIO, Sacchetto L, de Rezende IM, Trindade GS, LaBeaud AD, de Thoisy B, et al. Recent sylvatic yellow fever virus transmission in Brazil: the news from an old disease. *Virology*. 2020;17(1):9.
63. Campos GS, Pinho AC, Brandão CJ, Bandeira AC, Sardi SI. Dengue virus 4 (DENV-4) re-emerges after 30 years in Brazil: cocirculation of DENV-2, DENV-3, and DENV-4 in Bahia. *Jpn J Infect Dis*. 2015;68(1):45-9.
64. Yip VC, Sanjay S, Koh YT. Ophthalmic complications of dengue Fever: a systematic review. *Ophthalmol Ther*. 2012;1(1):2.
65. Paz-Bailey G, Rosenberg ES, Sharp TM. Persistence of Zika Virus in Body Fluids - Final Report. *N Engl J Med*. 2019;380(2):198-9.
66. de Souza Costa MC, Siqueira Maia LM, Costa de Souza V, Gonzaga AM, Correa de Azevedo V, Ramos Martins L, et al. Arbovirus investigation in patients from Mato Grosso during Zika and Chikungunya virus introduction in Brazil, 2015-2016. *Acta Trop*. 2019;190:395-402.
67. Alves RJL. Zika virus in the history of diseases: malformation in gestation to public policies in the field of women's reproductive health. *Revista Eletrônica História em Reflexão*; 2018. p. 235 - 54.
68. DE. G. Alphaviruses. In: Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields virology*. 5th. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2007. p. 1023-67.
69. Solomon T. Flavivirus encephalitis. *N Engl J Med*. 2004;351(4):370-8.
70. Bronzoni RV, Moreli ML, Cruz AC, Figueiredo LT. Multiplex nested PCR for Brazilian Alphavirus diagnosis. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2004;98(8):456-61.
71. Coimbra TL, Santos CL, Suzuki A, Petrella SM, Bisordi I, Nagamori AH, et al. Mayaro virus: imported cases of human infection in São Paulo State, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2007;49(4):221-4.
72. Figueiredo ML, Figueiredo LT. Emerging alphaviruses in the Americas: Chikungunya and Mayaro. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2014;47(6):677-83.
73. Terzian AC, Auguste AJ, Vedovello D, Ferreira MU, da Silva-Nunes M, Sperança MA, et al. Isolation and characterization of Mayaro virus from a human in Acre, Brazil. *Am J Trop Med Hyg*. 2015;92(2):401-4.
74. Mackay IM, Arden KE. Mayaro virus: a forest virus primed for a trip to the city? *Microbes Infect*. 2016;18(12):724-34.
75. Esposito DLA, Fonseca BALD. Will Mayaro virus be responsible for the next outbreak of an arthropod-borne virus in Brazil? *Braz J Infect Dis*. 2017;21(5):540-4.

76. Mosimann ALP, de Siqueira MK, Ceole LF, Nunes Duarte Dos Santos C. A new Aura virus isolate in Brazil shows segment duplication in the variable region of the nsP3 gene. *Parasit Vectors*. 2018;11(1):321.
77. Rumenapf T, Strauss EG, Strauss JH. Aura virus is a New World representative of Sindbis-like viruses. *Virology*. 1995;208(2):621-33.
78. Laine M, Luukkainen R, Toivanen A. Sindbis viruses and other alphaviruses as cause of human arthritic disease. *J Intern Med*. 2004;256(6):457-71.
79. Powers AM, Logue CH. Changing patterns of chikungunya virus: re-emergence of a zoonotic arbovirus. *J Gen Virol*. 2007;88(Pt 9):2363-77.
80. Muehlenbachs A, Bhatnagar J, Zaki SR. Tissue tropism, pathology and pathogenesis of enterovirus infection. *J Pathol*. 2015;235(2):217-28.
81. Papa A, Papadopoulou E. Acute viral infections of the central nervous system, 2014-2016, Greece. *J Med Virol*. 2018;90(4):644-7.
82. Akiyoshi K, Nakagawa N, Suga T. An outbreak of aseptic meningitis in a nursery school caused by echovirus type 30 in Kobe, Japan. *Jpn J Infect Dis*. 2007;60(1):66-8.
83. Dahm T, Rudolph H, Schwerk C, Schrotten H, Tenenbaum T. Neuroinvasion and Inflammation in Viral Central Nervous System Infections. *Mediators Inflamm*. 2016;2016:8562805.
84. Dando SJ, Mackay-Sim A, Norton R, Currie BJ, St John JA, Ekberg JA, et al. Pathogens penetrating the central nervous system: infection pathways and the cellular and molecular mechanisms of invasion. *Clin Microbiol Rev*. 2014;27(4):691-726.
85. Koyuncu OO, Hogue IB, Enquist LW. Virus infections in the nervous system. *Cell Host Microbe*. 2013;13(4):379-93.
86. Spindler KR, Hsu TH. Viral disruption of the blood-brain barrier. *Trends Microbiol*. 2012;20(6):282-90.
87. Chambers TJ, Diamond MS. Pathogenesis of flavivirus encephalitis. *Adv Virus Res*. 2003;60:273-342.
88. Neshar L, Hadi CM, Salazar L, Wootton SH, Garey KW, Lasco T, et al. Epidemiology of meningitis with a negative CSF Gram stain: under-utilization of available diagnostic tests. *Epidemiol Infect*. 2016;144(1):189-97.
89. Willison HJ, Jacobs BC, van Doorn PA. Guillain-Barré syndrome. *Lancet*. 2016;388(10045):717-27.
90. Jeffery KJ, Read SJ, Peto TE, Mayon-White RT, Bangham CR. Diagnosis of viral infections of the central nervous system: clinical interpretation of PCR results. *Lancet*. 1997;349(9048):313-7.

91. Silva C, Leite F, Vale T, Baptista N, Leite B. Líquido cefalorraquidiano - técnicas de coleta e aspecto diagnósticos. . Exames Complementares - Revista Médica Oficial HC/UFJF. 2004; 30 (2-3).
92. Leite A, Honório S, Torres G, Errante P. Análise do líquido cefalorraquidiano: Revisão da Literatura. Atas de Ciências da Saúde, São Paulo, 2016; 4(3): 1-24.
93. Gutierrez M, Emmanuel PJ. Expanding Molecular Diagnostics for Central Nervous System Infections. *Adv Pediatr.* 2018;65(1):209-27.
94. Rogers BB. The Evolution of the Polymerase Chain Reaction to Diagnose Childhood Infections. *Pediatr Dev Pathol.* 2015;18(6):495-503.
95. Joshi M, Deshpande J. Polymerase chain reaction: methods, principles and application. *int Jour of Biomed Res*2011. p. 81-97.
96. Navarro E, Serrano-Heras G, Castaño MJ, Solera J. Real-time PCR detection chemistry. *Clin Chim Acta.* 2015;439:231-50.
97. Bachman J. Reverse-transcription PCR (RT-PCR). *Methods Enzymol.* 2013;530:67-74.
98. Rahman M, Uddin M, Sultana R, Moue A, Setu M. Polymerase chain reaction (PCR): A short review. . *AKMMC.* 2013;1(4):30-6.
99. Espy MJ, Uhl JR, Sloan LM, Buckwalter SP, Jones MF, Vetter EA, et al. Real-time PCR in clinical microbiology: applications for routine laboratory testing. *Clin Microbiol Rev.* 2006;19(1):165-256.
100. Giulietti A, Overbergh L, Valckx D, Decallonne B, Bouillon R, Mathieu C. An overview of real-time quantitative PCR: applications to quantify cytokine gene expression. *Methods.* 2001;25(4):386-401.
101. Escosteguy CC, Medronho RdA, Madruga R, Dias HG, Braga RC, Azevedo OP. Epidemiologic surveillance and evaluation of meningitis hospital care. *Rev Saúde Pública* 2004; 38(5): 657-63.
102. Emmerick ICM, Campos MR, Schramm JMda, Silva RS, Costa MdFdS. Estimativas corrigidas de casos de meningites, Brasil 2008-2009. *Epidemiol. Serv. Saúde,* 2014; 23(2):215-226 2014.
103. Mehrabani-Khasraghi S, Ameli M, Khalily F. Demonstration of Herpes Simplex Virus, Cytomegalovirus, and Epstein-Barr Virus in Colorectal Cancer. *Iran Biomed J.* 2016;20(5):302-6.
104. Danise A, Cinque P, Vergani S, Candino M, Racca S, De Bona A, et al. Use of polymerase chain reaction assays of aqueous humor in the differential diagnosis of retinitis in patients infected with human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis.* 1997;24(6):1100-6.

105. Cinque P, Brytting M, Vago L, Castagna A, Parravicini C, Zanchetta N, et al. Epstein-Barr virus DNA in cerebrospinal fluid from patients with AIDS-related primary lymphoma of the central nervous system. *Lancet*. 1993;342(8868):398-401.
106. Ehrnst A, Barkholt L, Lewensohn-Fuchs I, Ljungman P, Teodosiu O, Staland A, et al. CMV PCR monitoring in leucocytes of transplant patients. *Clin Diagn Virol*. 1995;3(2):139-53.
107. Wang FZ, Dahl H, Linde A, Brytting M, Ehrnst A, Ljungman P. Lymphotropic herpesviruses in allogeneic bone marrow transplantation. *Blood*. 1996;88(9):3615-20.
108. Read SJ, Kurtz JB. Laboratory diagnosis of common viral infections of the central nervous system by using a single multiplex PCR screening assay. *J Clin Microbiol*. 1999;37(5):1352-5.
109. Rimério CA, De Oliveira RS, de Almeida Bonatelli MQ, Nucci A, Costa SC, Bonon SH. Human herpesvirus infections of the central nervous system: laboratory diagnosis based on DNA detection by nested PCR in plasma and cerebrospinal fluid samples. *J Med Virol*. 2015;87(4):648-55.
110. Yalcin S, Karpuzoglu T, Suleymanlar G, Mutlu G, Mukai T, Yamamoto T, et al. Human herpesvirus 6 and human herpesvirus 7 infections in renal transplant recipients and healthy adults in Turkey. *Arch Virol*. 1994;136(1-2):183-90.
111. Zoll GJ, Melchers WJ, Kopecka H, Jambroes G, van der Poel HJ, Galama JM. General primer-mediated polymerase chain reaction for detection of enteroviruses: application for diagnostic routine and persistent infections. *J Clin Microbiol*. 1992;30(1):160-5.
112. Gomes MdLC, Kopecka H, Ferreira Jr AG, Ferreira SMAG, Maneschy LAR, Linhares AC. Detection of enteroviral sequence in endomyocardial tissues from patients with cardiac diseases in Northern Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 1998;31(5):487-90.
113. de Moraes Bronzoni RV, Baleotti FG, Ribeiro Nogueira RM, Nunes M, Moraes Figueiredo LT. Duplex reverse transcription-PCR followed by nested PCR assays for detection and identification of Brazilian alphaviruses and flaviviruses. *J Clin Microbiol*. 2005;43(2):696-702.
114. Huhtamo E, Hasu E, Uzcátegui NY, Erra E, Nikkari S, Kantele A, et al. Early diagnosis of dengue in travelers: comparison of a novel real-time RT-PCR, NS1 antigen detection and serology. *J Clin Virol*. 2010;47(1):49-53.
115. Zaravinos A, Bizakis J, Spandidos DA. Prevalence of human papilloma virus and human herpes virus types 1-7 in human nasal polyposis. *J Med Virol*. 2009;81(9):1613-9.
116. Griffiths MJ, McGill F, Solomon T. Management of acute meningitis. *Clin Med (Lond)*. 2018;18(2):164-9.

117. Majumdar I, Hartley-McAndrew ME, Weinstock AL. Central nervous system herpes simplex virus infection in afebrile children with seizures. *J Child Neurol.* 2012;27(4):445-50.
118. Lipkin WI, Hornig M. Diagnostics and Discovery in Viral Central Nervous System Infections. *Brain Pathol.* 2015;25(5):600-4.
119. Esser HJ, Mögling R, Cleton NB, van der Jeugd H, Sprong H, Stroo A, et al. Risk factors associated with sustained circulation of six zoonotic arboviruses: a systematic review for selection of surveillance sites in non-endemic areas. *Parasit Vectors.* 2019;12(1):265.
120. Fisman D. Seasonality of viral infections: mechanisms and unknowns. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18(10):946-54.
121. Churakov M, Villabona-Arenas CJ, Kraemer MUG, Salje H, Cauchemez S. Spatio-temporal dynamics of dengue in Brazil: Seasonal travelling waves and determinants of regional synchrony. *PLoS Negl Trop Dis.* 2019;13(4):e0007012.
122. Wright EJ, Brew BJ, Wesselingh SL. Pathogenesis and diagnosis of viral infections of the nervous system. *Neurol Clin.* 2008;26(3):617-33, vii.
123. Almeida Bentes A, Kroon EG, Romanelli RMC. Neurological manifestations of pediatric arboviral infections in the Americas. *J Clin Virol.* 2019;116:49-57.
124. Martins VoC, Bastos MeS, Ramasawmy R, de Figueiredo RP, Gimaque JB, Braga WS, et al. Clinical and virological descriptive study in the 2011 outbreak of dengue in the Amazonas, Brazil. *PLoS One.* 2014;9(6):e100535.
125. Gregianini TS, Tumimoto-Giannini GL, Favreto C, Plentz LC, Ikuta N, da Veiga ABG. Dengue in Rio Grande do Sul, Brazil: 2014 to 2016. *Rev Med Virol.* 2018;28(1).
126. Brito Ferreira ML, Antunes de Brito CA, Moreira Á, de Moraes Machado M, Henriques-Souza A, Cordeiro MT, et al. Guillain-Barré Syndrome, Acute Disseminated Encephalomyelitis and Encephalitis Associated with Zika Virus Infection in Brazil: Detection of Viral RNA and Isolation of Virus during Late Infection. *Am J Trop Med Hyg.* 2017;97(5):1405-9.
127. Oehler E, Watrin L, Larre P, Leparç-Goffart I, Lastere S, Valour F, et al. Zika virus infection complicated by Guillain-Barre syndrome--case report, French Polynesia, December 2013. *Euro Surveill.* 2014;19(9).
128. Ventura CV, Ventura LO. Ophthalmologic Manifestations Associated With Zika Virus Infection. *Pediatrics.* 2018;141(Suppl 2):S161-S6.
129. Nunes MR, Palacios G, Cardoso JF, Martins LC, Sousa EC, de Lima CP, et al. Genomic and phylogenetic characterization of Brazilian yellow fever virus strains. *J Virol.* 2012;86(24):13263-71.
130. Soares CN, Cabral-Castro MJ, Peralta JM, de Freitas MR, Zalis M, Puccioni-Sohler M. Review of the etiologies of viral meningitis and encephalitis in a dengue endemic region. *J Neurol Sci.* 2011;303(1-2):75-9.

131. Madhukar M, Menon A. Acute flaccid paralysis: Guillain-Barre syndrome with enterovirus infection. *Indian Pediatr.* 2005;42(10):1049-50.
132. Pons-Salort M, Oberste MS, Pallansch MA, Abedi GR, Takahashi S, Grenfell BT, et al. The seasonality of nonpolio enteroviruses in the United States: Patterns and drivers. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2018;115(12):3078-83.
133. de Ory F, Avellón A, Echevarría JE, Sánchez-Seco MP, Trallero G, Cabrerizo M, et al. Viral infections of the central nervous system in Spain: a prospective study. *J Med Virol.* 2013;85(3):554-62.
134. Dupuis M, Hull R, Wang H, Nattanmai S, Glasheen B, Fusco H, et al. Molecular detection of viral causes of encephalitis and meningitis in New York State. *J Med Virol.* 2011;83(12):2172-81.
135. Romeiro MF, Fumagalli MJ, Dos Anjos AB, Figueiredo LTM. Serological evidence of Mayaro virus infection in blood donors from São Carlos, São Paulo, Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2020.
136. Barbosa Costa G, Marinho PES, Vilela APP, Saraiva-Silva AT, Crispim APC, Borges IA, et al. Silent Circulation of the Saint Louis Encephalitis Virus among Humans and Equids, Southeast Brazil. *Viruses.* 2019;11(11).

APÊNDICE I – Descrição dos pacientes com detecção de ácido nucleico viral em amostras de LCR

Paciente 3 - Positividade detectada para genoma de EBV, YFV. Paciente do sexo feminino. 35 anos na data da coleta (24/01/2017). Residente de Valinhos. Apresentou hipótese diagnóstica de Neurite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 31 mg/dL e 55mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 6 e 2. Paciente imunocompetente. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, sintomas ópticos, visão turva e coma.

Paciente 13 - Positividade detectada para VZV. Paciente do sexo feminino. 57 anos na data da coleta (07/02/2017). Residente de Várzea Paulista. Apresentou hipótese diagnóstica de Triagem infecciosa. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 34 mg/dL e 41mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 3 e 0. Foi hospitalizado. Paciente imunocompetente. Consta que utilizou Prednisona, ciprofloxacina, metronidazol. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, febre, rebaixamento de nível de consciência, prostração e diarreia.

Paciente 14 - Positividade detectada para HHV-6. Paciente do sexo masculino. 36 anos na data da coleta (08/02/2017). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Mielite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 71 mg/dL e 62mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 67 e 26. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Fez uso de aciclovir e ceftriaxona bem como ampicilina, metiprednisolona. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, fraqueza simétrica, paresia, fraqueza de membros inferiores e arreflexia.

Paciente 16 - Positividade detectada para VZV. Paciente do sexo masculino. 78 anos na data da coleta (09/02/2017). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Triagem infecciosa. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para

proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 44 mg/dL e 62mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 2 e 58. Paciente imunocompetente. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, febre, rebaixamento de nível de consciência, irritabilidade, fraqueza simétrica, fraqueza de membros inferiores e fraqueza de membros superiores.

Paciente 18 - Positividade detectada para ZIKV. Paciente do sexo feminino. 76 anos na data da coleta (10/02/2017). Residente de Sumaré. Apresentou hipótese diagnóstica de Meningite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 29 mg/dL e 52mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 3 e 6. Passou por hospitalização. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, febre, sintomas ópticos, tontura e visão turva.

Paciente 19 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo feminino. 28 anos na data da coleta (13/02/2017). Residente de Indaiatuba. Apresentou hipótese diagnóstica de Esclerose Múltipla. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 33 mg/dL e 51mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 2 e 93. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, sintomas respiratórios e paresia.

Paciente 22 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo masculino. 65 anos na data da coleta (15/02/2017). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Triagem infecciosa. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 55 mg/dL e 164mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 0 e 13. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, náusea, tontura, rebaixamento de nível de consciência, tremores e sonolência.

Paciente 23 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo feminino. 26 anos na data da coleta (16/02/2017). Residente de Cosmópolis. Apresentou hipótese diagnóstica de Encefalite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 7 mg/dL e 65mg/dL, com contagem de

leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 0 e 123. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, sintomas ópticos e paresia facial.

Paciente 27 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo feminino. 36 anos na data da coleta (22/02/2017). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Encefalopatia. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 46 mg/dL e 43mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 2 e 17. Paciente imunocompetente. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, dor retro orbital e sintomas ópticos.

Paciente 31 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo feminino. 24 anos na data da coleta (22/02/2017). Residente de Jundiaí. Apresentou hipótese diagnóstica de Esclerose Múltipla. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 42 mg/dL e 56mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 5 e 0. Paciente imunocompetente. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, dor retro orbital, sintomas ópticos, náusea, artralgia, irritabilidade, fraqueza simétrica, paresia, visão turva e fraqueza de membros inferiores.

Paciente 32 - Positividade detectada para VZV. Paciente do sexo masculino. 33 anos na data da coleta (23/02/2017). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Encefalite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 14 mg/dL e 75mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 4 e 2. Paciente imunocompetente.

Paciente 33 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo feminino. 60 anos na data da coleta (02/03/2017). Residente de Sumaré. Apresentou hipótese diagnóstica de Encefalopatia. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 48 mg/dL e 70mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 2 e 31.

Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia e febre.

Paciente 35 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo feminino. 52 anos na data da coleta (03/03/2017). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Meningite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 83 mg/dL e 69mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 5 e 1. Paciente imunocompetente.

Paciente 36 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo masculino. 27 anos na data da coleta (03/03/2017). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Encefalopatia. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 24 mg/dL e 67mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 0 e 0. Paciente imunocompetente.

Paciente 37 - Positividade detectada para ZIKV. Paciente do sexo feminino. 32 anos na data da coleta (03/03/2017). Residente de Artur Nogueira. Apresentou hipótese diagnóstica de Meningite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 33 mg/dL e 56mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 1 e 10. Paciente imunocompetente.

Paciente 39 - Positividade detectada para HHV-6. Paciente do sexo masculino. 30 anos na data da coleta (06/03/2017). Residente de Águas da Prata. Apresentou hipótese diagnóstica de Esclerose Múltipla. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 53 mg/dL e 60mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 6 e 0. Paciente imunocompetente. Foi registrado, a respeito de sinais e sintomas, apenas paresia.

Paciente 41 - Positividade detectada para DENV, ZIKV. Paciente do sexo masculino. 30 anos na data da coleta (13/03/2017). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Triagem infecciosa. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 47 mg/dL e 57mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 17 e 10. Passou por hospitalização. Consta que fez uso de antirretrovirais, sem especificação. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, febre, náusea, artralgia, diarreia, dispneia, sintomas cardiovasculares e sintomas respiratórios.

Paciente 43 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo feminino. 25 anos na data da coleta (16/03/2017). Residente de Itapira. Apresentou hipótese diagnóstica de Distúrbios de comportamento. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 22 mg/dL e 50mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 4 e 5. Paciente imunocompetente.

Paciente 44 - Positividade detectada para ZIKV. Paciente do sexo feminino. 37 anos na data da coleta (20/03/2017). Residente de Sumaré. Apresentou hipótese diagnóstica de Encefalopatia. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 635 mg/dL e 65mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 30 e 1024. Paciente imunocompetente. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, náusea e diarreia.

Paciente 45 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo feminino. 44 anos na data da coleta (20/03/2017). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Encefalite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 33 mg/dL e 55mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 1 e 98. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, prostração, tontura, tremores e sonolência.

Paciente 46 - Positividade detectada para HHV-6, DENV. Paciente do sexo feminino. 55 anos na data da coleta (21/03/2017). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Meningite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 41 mg/dL e 37mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 120 e 1323. Paciente imunocompetente. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, febre e tontura.

Paciente 49 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo feminino. 67 anos na data da coleta (23/03/2017). Residente de Santo André. Apresentou hipótese diagnóstica de Síndrome motora. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 48 mg/dL e 59mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 1 e 4. Paciente imunocompetente.

Paciente 51 - Positividade detectada para EBV, HHV-6. Paciente do sexo feminino. 44 anos na data da coleta (23/03/2017). Residente de Monte Mor. Apresentou hipótese diagnóstica de Mielite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 140 mg/dL e 99mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 25 e 1. Passou por hospitalização. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, prurido, irritabilidade, tremores, sonolência e hiperreflexia.

Paciente 53 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo feminino. 59 anos na data da coleta (24/03/2017). Residente de Sumaré. Apresentou hipótese diagnóstica de Triagem infecciosa. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 18 mg/dL e 75mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 1 e 0. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Consta registro de uso de Amoxicilina, Clavulanato, Dobutamina, Risperidona. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, náusea, rebaixamento de nível de consciência, sintomas cardiovasculares, sintomas respiratórios e coma.

Paciente 54 - Positividade detectada para VZV, ZIKV. Paciente do sexo masculino. 52 anos na data da coleta (20/03/2017). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Epilepsia. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 93 mg/dL e 78mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 12 e 140. Paciente imunocompetente. Utilizou aciclovir e amoxicilina. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, náusea, edema, sintomas respiratórios, fraqueza simétrica, convulsão, tremores, diplopia e fraqueza de membros superiores.

Paciente 57 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo feminino. 78 anos na data da coleta (30/03/2017). Residente de Sumaré. Apresentou hipótese diagnóstica de Triagem infecciosa. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 47 mg/dL e 151 mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 11 e 430. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Fez uso de Diazepam, Amoxicilina, Clavulanato. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, paresia facial e dificuldade de mobilidade. Paciente veio a óbito.

Paciente 60 - Positividade detectada para HHV-6. Paciente do sexo feminino. 40 anos na data da coleta (05/04/2017). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Meningite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 31 mg/dL e 78mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 0 e 240. Paciente imunocompetente.

Paciente 66 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo masculino. 46 anos na data da coleta (19/04/2017). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Encefalopatia. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 70 mg/dL e 54mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 2 e 91. Passou por hospitalização. Utilizou tenovir, efavirenz, lamivudina, fenitoina. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, fraqueza de membros inferiores.

Paciente 72 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo masculino. 30 anos na data da coleta (28/04/2017). Residente de Nazaré Paulista. Apresentou hipótese diagnóstica de Meningite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 46 mg/dL e 55mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 1 e 60. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Consta registro de uso de Ciprofloxacina. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, febre, mialgia, sintomas respiratórios, paresia.

Paciente 74 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo masculino. 75 anos na data da coleta (03/05/2017). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Doença neurodegenerativas. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 75 mg/dL e 83mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 2 e 2. Foi registrado, a respeito de sinais e sintomas, apenas sintomas ópticos.

Paciente 78 - Positividade detectada para VZV. Paciente do sexo masculino. 26 anos na data da coleta (06/05/2017). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Meningite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 184 mg/dL e 47mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 510 e 10. Paciente imunocompetente. Fez uso de aciclovir e ceftriaxona. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, febre, náusea e sonolência.

Paciente 83 - Positividade detectada para HHV-6. Paciente do sexo feminino. 72 anos na data da coleta (11/05/2017). Residente de Pilar do Sul. Apresentou hipótese diagnóstica de Meningite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 138 mg/dL e 86mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 119 e 27. Passou por hospitalização. Consta registro de uso de noradrenalina, vancomicina, meropenem, dexametasona, midazolam, fentanil, omeprazol, fenodaparinax, insulina. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, febre e sintomas respiratórios.

Paciente 86 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo masculino. 50 anos na data da coleta (16/05/2017). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Encefalopatia. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 107 mg/dL e 45mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 10 e 101. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, febre, tontura, irritabilidade, disfagia, disfonia, fraqueza de membros inferiores e sonolência.

Paciente 87 - Positividade detectada para EV, DENV. Paciente do sexo masculino. 83 anos na data da coleta (17/05/2017). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Síndrome de Guillain-Barré. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 46 mg/dL e 68 mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 2 e 6. Paciente imunocompetente. Foi registrado, a respeito de sinais e sintomas, fraqueza de membros inferiores.

Paciente 88 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo feminino. 57 anos na data da coleta (17/05/2017). Residente de Cachoeira Paulista. Apresentou hipótese diagnóstica de Encefalopatia. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 33 mg/dL e 102mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 2 e 12.

Paciente 92 - Positividade detectada para EV. Paciente do sexo masculino. 41 anos na data da coleta (22/05/2017). Residente de Águas de Lindóia. Apresentou hipótese diagnóstica de Encefalopatia. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 46 mg/dL e 80mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 2 e 15. Consta registro de uso de decetozolamida, amoxicilina, sertralina, omeprazol. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, parestesia.

Paciente 93 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo masculino. 71 anos na data da coleta (24/05/2017). Residente de Sumaré. Apresentou hipótese

diagnóstica de Meningoencefalite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 34 mg/dL e 53mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 2 e 122. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Consta registro de uso de losartana, carvediol, clopidogrel, carbamazepina, ceftriaxone. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, sintomas cardiovasculares e fraqueza de membros inferiores.

Paciente 95 - Positividade detectada para EV. Paciente do sexo feminino. 47 anos na data da coleta (24/05/2017). Residente de Americana. Apresentou hipótese diagnóstica de Esclerose Múltipla. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 41 mg/dL e 54mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 1 e 1. Paciente imunocompetente.

Paciente 98 - Positividade detectada para HHV-6. Paciente do sexo masculino. 22 anos na data da coleta (05/06/2017). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Meningite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 272 mg/dL e 98mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 5120 e 853. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Consta que utilizou aciclovir, ceftriaxone e dexametasona. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia e febre.

Paciente 107 - Positividade detectada para ZIKV. Paciente do sexo masculino. 29 anos na data da coleta (07/06/2017). Residente de Sumaré. Apresentou hipótese diagnóstica de Síndrome cerebelar. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 43 mg/dL e 60mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 36 e 0. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Há registro de administração de penicilina. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, náusea, tontura, disfagia, paresia e disartria.

Paciente 110 - Positividade detectada para HHV-6. Paciente do sexo feminino. 70 anos na data da coleta (10/06/2017). Residente de Nova Odessa. Apresentou hipótese diagnóstica de Neuropatia. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 42 mg/dL e 71mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 2 e 0. Paciente imunocompetente. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, dor retro orbital, sintomas ópticos, diplopia e visão turva.

Paciente 113 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo masculino. 59 anos na data da coleta (13/06/2017). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Epilepsia. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 90 mg/dL e 86mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 0 e 182. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Fez uso de amicacina, polimixina b, meropenem, metronidazol. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, febre, náusea, convulsão, sintomas respiratórios e sonolência.

Paciente 114 - Positividade detectada para HHV-6. Paciente do sexo feminino. 18 anos na data da coleta (14/06/2017). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Esclerose Múltipla. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 52 mg/dL e 47mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 20 e 13. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, fraqueza simétrica e arreflexia.

Paciente 115 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo masculino. 47 anos na data da coleta (16/06/2017). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Meningite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 44 mg/dL e 85mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 1 e 271. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Consta registro de uso de ATB (não especificado), Dipirona. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, sintomas ópticos, náusea, sintomas cardiovasculares e visão turva.

Paciente 120 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo feminino. 48 anos na data da coleta (21/06/2017). Residente de Limeira. Apresentou hipótese diagnóstica de Encefalopatia. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 31 mg/dL e 67mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 3 e 0. Paciente imunocompetente. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, sintomas ópticos, edema e visão turva.

Paciente 123 - Positividade detectada para ZIKV. Paciente do sexo masculino. 67 anos na data da coleta (26/06/2017). Residente de Vinhedo. Apresentou hipótese diagnóstica de Demência. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 47 mg/dL e 63mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 2 e 688. Paciente imunocompetente. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, sintomas respiratórios, irritabilidade, disfagia e tremores.

Paciente 127 - Positividade detectada para HCMV. Paciente do sexo feminino. 26 anos na data da coleta (28/06/2017). Residente de Araras. Apresentou hipótese diagnóstica de Neuropatia. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 24 mg/dL e 72mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 1 e 1. Paciente imunocompetente. Foi registrado, a respeito de sinais e sintomas, apenas parestesia.

Paciente 130 - Positividade detectada para EV. Paciente do sexo feminino. 59 anos na data da coleta (05/07/2017). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Encefalopatia. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 30 mg/dL e 55mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 2 e 0. Paciente imunocompetente. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, náusea e visão turva.

Paciente 131 - Positividade detectada para EV, DENV. Paciente do sexo feminino. 24 anos na data da coleta (05/07/2017). Residente de Hortolândia. Apresentou

hipótese diagnóstica de Epilepsia e convulsão. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 32 mg/dL e 56mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 2 e 8. Paciente imunocompetente.

Paciente 132 - Positividade detectada para EV. Paciente do sexo feminino. 64 anos na data da coleta (06/07/2017). Residente de Salto. Apresentou hipótese diagnóstica de Síndrome motora. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 90 mg/dL e 88mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 1 e 1. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, tremores, paresia, fraqueza de membros inferiores e fraqueza de membros superiores.

Paciente 135 - Positividade detectada para EV. Paciente do sexo feminino. 29 anos na data da coleta (10/07/2017). Residente de Indaiatuba. Apresentou hipótese diagnóstica de Neurite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 36 mg/dL e 58mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 3 e 2. Fez uso de carbamazepina, prednisona, azatioprina, oxacilina. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, sintomas ópticos, visão turva, fraqueza de membros inferiores e fraqueza de membros superiores.

Paciente 136 - Positividade detectada para EV. Paciente do sexo masculino. 65 anos na data da coleta (09/07/2017). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Triagem infecciosa. Queixa de rebaixamento de nível de consciência. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 74 mg/dL e 86mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 2 e 187. Passou por hospitalização. Há registro de administração de Ceftriaxone, Risperidona, Diazepam.

Paciente 137 - Positividade detectada para ZIKV. Paciente do sexo feminino. 31 anos na data da coleta (10/07/2017). Residente de Piracicaba. Apresentou hipótese diagnóstica de Encefalopatia. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para

proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 27 mg/dL e 52mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 3 e 0. Paciente imunocompetente. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, conjuntivite, dor retro orbital, sintomas ópticos, diplopia e visão turva.

Paciente 138 - Positividade detectada para EV. Paciente do sexo feminino. 19 anos na data da coleta (09/07/2017). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Triagem infecciosa. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 30 mg/dL e 59mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 1 e 1. Paciente imunocompetente. Fez uso de diazepam, clonazepam, clavulin. Foi registrado rebaixamento de nível de consciência como principal sintoma.

Paciente 140 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo masculino. 32 anos na data da coleta (12/07/2017). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Triagem infecciosa. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 61 mg/dL e 59mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 1 e 8. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Há registro de administração de Ceftriaxone, Doxiciclina. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, febre, sintomas ópticos, mialgia e fraqueza simétrica.

Paciente 142 - Positividade detectada para EV. Paciente do sexo feminino. 30 anos na data da coleta (17/07/2017). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Meningite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 24 mg/dL e 91mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 2 e 1. Paciente imunocompetente.

Paciente 146 - Positividade detectada para EV. Paciente do sexo feminino. 31 anos na data da coleta (22/07/2017). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Neurite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 33 mg/dL e 55mg/dL, com contagem de

leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 2 e 4. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Consta registro de uso de Albendazol, Ciprofloxacino, Metilpredisolona. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, dor retro orbital, sintomas ópticos e visão turva.

Paciente 147 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo masculino. 24 anos na data da coleta (24/07/2017). Residente de Itu. Apresentou hipótese diagnóstica de Distúrbios de comportamento. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 87 mg/dL e 67mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 1 e 3. Paciente imunocompetente. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, sintomas ópticos, edema e fraqueza de membros inferiores.

Paciente 149 - Positividade detectada para EV. Paciente do sexo feminino. 50 anos na data da coleta (24/07/2017). Residente de Santa Barbara do Oeste. Apresentou hipótese diagnóstica de Neurite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 46 mg/dL e 90mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 5 e 0. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, febre, conjuntivite, sintomas ópticos, mialgia e náusea.

Paciente 154 - Positividade detectada para EV. Paciente do sexo masculino. 50 anos na data da coleta (26/07/2017). Residente de Itupeva. Apresentou hipótese diagnóstica de Esclerose Múltipla. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 69 mg/dL e 57mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 0 e 0. Consta registro de uso de paraxitina, colina, riboflavina, ácido fólico, selênio, picolinato de cromo, fingolimoide e antibióticoterapia (sem descrição). Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, sintomas ópticos, visão turva, fraqueza de membros inferiores e fraqueza de membros superiores.

Paciente 156 - Positividade detectada para EV, DENV. Paciente do sexo feminino. 18 anos na data da coleta (26/07/2017). Residente de Americana. Apresentou hipótese diagnóstica de Síndrome de Guillain-Barré. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 28 mg/dL e 56mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 2 e 1. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, fraqueza simétrica, fraqueza de membros inferiores e fraqueza de membros superiores.

Paciente 165 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo masculino. 37 anos na data da coleta (09/08/2017). Residente de São João da Boa Vista. Apresentou hipótese diagnóstica de Meningite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 62 mg/dL e 67 mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 25 e 19. Paciente imunocompetente. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, sintomas ópticos e visão turva.

Paciente 166 - Positividade detectada para EV. Paciente do sexo masculino. 21 anos na data da coleta (10/08/2017). Residente de Santo Antônio da Posse. Apresentou hipótese diagnóstica de Encefalopatia. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 66 mg/dL e 58mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 1 e 597. Passou por hospitalização. Fez uso de vancomicina, imepenem, polimixena, fluconazol, bactrim. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, febre, prostração, diarreia, dispneia, sintomas cardiovasculares, sintomas respiratórios, tremores e coma.

Paciente 167 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo feminino. 77 anos na data da coleta (14/08/2017). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Doença neurodegenerativas. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 47 mg/dL e 52mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 3 e 21. Paciente imunocompetente.

Paciente 170 - Positividade detectada para EBV. Paciente do sexo masculino. 42 anos na data da coleta (14/08/2017). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Meningite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 37 mg/dL e 89mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 1 e 300. Paciente imunocompetente. Há registro de administração de carbamazepina e gabapentina. Foi registrado, a respeito de sinais e sintomas, apenas febre.

Paciente 172 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo feminino. 75 anos na data da coleta (23/08/2017). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Demência. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 27 mg/dL e 59mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 2 e 198. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Há registro de administração de cefepime e ceftridina. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, sintomas respiratórios e irritabilidade.

Paciente 174 - Positividade detectada para VZV. Paciente do sexo feminino. 27 anos na data da coleta (21/08/2017). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Esclerose Múltipla. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 26 mg/dL e 75mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 0 e 1. Paciente imunocompetente. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia e náusea.

Paciente 183 - Positividade detectada para ZIKV. Paciente do sexo feminino. 35 anos na data da coleta (02/09/2017). Residente de Itapira. Apresentou hipótese diagnóstica de Neurite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 27 mg/dL e 53mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 1 e 27. Passou por hospitalização. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, sintomas ópticos e visão turva.

Paciente 186 - Positividade detectada para ZIKV. Paciente do sexo feminino. 28 anos na data da coleta (06/09/2017). Residente de Bragança Paulista. Apresentou hipótese diagnóstica de Epilepsia e convulsão. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 35 mg/dL e 73mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 1 e 20. Paciente imunocompetente.

Paciente 189 - Positividade detectada para HHV-6, YFV. Paciente do sexo masculino. 58 anos na data da coleta (06/09/2017). Residente de Sumaré. Apresentou hipótese diagnóstica de Encefalite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 40 mg/dL e 71mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 3 e 0. Paciente imunocompetente. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, disfagia, fraqueza simétrica, tremores, paresia, disartria, fraqueza de membros inferiores e fraqueza de membros superiores.

Paciente 191 - Positividade detectada para ZIKV. Paciente do sexo feminino. 47 anos na data da coleta (11/09/2017). Residente de Hortolândia. Apresentou hipótese diagnóstica de Síndrome motora. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 58 mg/dL e 72mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 2 e 0. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, dor retro orbital, sintomas ópticos, diplopia, visão turva e paresia facial.

Paciente 196 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo masculino. 42 anos na data da coleta (13/09/2017). Residente de Pedreira. Apresentou hipótese diagnóstica de Doença neurodegenerativas. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 57 mg/dL e 57mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 1 e 24.

Paciente 198 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo feminino. 33 anos na data da coleta (14/09/2017). Residente de Várzea Paulista. Apresentou hipótese diagnóstica de Neurite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 82 mg/dL e 33mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 390 e 18. Passou por hospitalização. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, febre, dor retro orbital e sintomas ópticos.

Paciente 199 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo masculino. 46 anos na data da coleta (14/09/2017). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Triagem infecciosa. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 42 mg/dL e 92mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 0 e 102. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Consta que utilizou Ceftriaxona, Metronidazol. Foi registrado, a respeito de sinais e sintomas, apenas febre.

Paciente 204 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo feminino. 47 anos na data da coleta (24/09/2017). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Neuropatia. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 56 mg/dL e 57mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 2 e 0. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, dor retro orbital, sintomas ópticos, rigidez de nuca e visão turva.

Paciente 212 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo masculino. 25 anos na data da coleta (11/10/2017). Residente de Vinhedo. Apresentou hipótese diagnóstica de Hidrocefalia. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 18 mg/dL e 58mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 3 e 1167. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Consta que utilizou Oxacilina, Risperidona, Clonazepam.

Paciente 213 - Positividade detectada para HHV-6. Paciente do sexo feminino. 32 anos na data da coleta (12/10/2017). Residente de Lindóia. Apresentou hipótese diagnóstica de Demência. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 7 mg/dL e 82mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 2 e 1383. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Fez uso de Oxacilina, meropenem, vancomicina. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, febre, dor retro orbital, sintomas ópticos, náusea, tontura, sintomas respiratórios, fraqueza simétrica, diplopia, rigidez de nuca e sonolência.

Paciente 218 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo masculino. 77 anos na data da coleta (17/10/2017). Residente de Serra Negra. Apresentou hipótese diagnóstica de Síndrome de Guillain-Barré. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 70 mg/dL e 57mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 1 e 90. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, náusea, fraqueza simétrica, fraqueza de membros inferiores e fraqueza de membros superiores.

Paciente 224 - Positividade detectada para VZV, DENV. Paciente do sexo feminino. 51 anos na data da coleta (23/10/2017). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Meningite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 111 mg/dL e 45mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 334 e 18. Paciente imunocompetente.

Paciente 226 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo feminino. 22 anos na data da coleta (25/10/2017). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Encefalopatia. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 31 mg/dL e 44mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 1 e 1. Paciente imunocompetente. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia e sintomas ópticos.

Paciente 235 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo feminino. 34 anos na data da coleta (01/11/2017). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Encefalopatia. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 24 mg/dL e 53mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 2 e 1. Paciente imunocompetente. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, sintomas ópticos, náusea, tontura e visão turva.

Paciente 238 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo feminino. 20 anos na data da coleta (06/11/2017). Residente de Santo Antônio da Posse. Apresentou hipótese diagnóstica de Encefalopatia. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 43 mg/dL e 59mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 1 e 144. Paciente imunocompetente. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, sintomas ópticos, edema e sonolência.

Paciente 240 - Positividade detectada para ZIKV. Paciente do sexo masculino. 75 anos na data da coleta (06/11/2017). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Neurite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 61 mg/dL e 65mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 37 e 1. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Consta que utilizou aciclovir, ceftriaxone e norfloxacino. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, febre, conjuntivite, dor retro orbital, sintomas ópticos, sintomas cardiovasculares, rigidez de nuca e fraqueza de membros inferiores.

Paciente 250 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo masculino. 28 anos na data da coleta (16/11/2017). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Meningite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 34 mg/dL e 50mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 13 e 2. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, fraqueza de membros superiores, paresia facial e coma.

Paciente 253 - Positividade detectada para HHV-6. Paciente do sexo feminino. 52 anos na data da coleta (25/11/2017). Residente de Santa Cruz das Palmeiras. Apresentou hipótese diagnóstica de Meningoencefalite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 122 mg/dL e 57mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 6 e 17. Passou por hospitalização. Fez uso de amoxicilina, aciclovir e pulsoterapia. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, tontura, rigidez de nuca, visão turva, disfonia e sonolência.

Paciente 258 - Positividade detectada para ZIKV. Paciente do sexo masculino. 28 anos na data da coleta (27/11/2017). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Neurite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 75 mg/dL e 31mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 3 e 802. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, dor retro orbital e visão turva.

Paciente 263 - Positividade detectada para HHV-6. Paciente do sexo feminino. 58 anos na data da coleta (29/11/2017). Residente de Artur Nogueira. Apresentou hipótese diagnóstica de Meningite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 243 mg/dL e 53mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 675 e 0. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, febre e sonolência.

Paciente 264 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo feminino. 55 anos na data da coleta (29/11/2017). Residente de São Paulo. Apresentou hipótese diagnóstica de Meningite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 30 mg/dL e 80mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 1 e 1. Consta registro de uso de Dexametasona e de antibiótico (não especificado). Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, sintomas ópticos e diplopia.

Paciente 268 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo feminino. 53 anos na data da coleta (05/12/2017). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Meningite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 37 mg/dL e 108mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 2 e 2. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Consta registro de uso de Ceftriaxona. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, febre, náusea, diarreia, edema, sintomas respiratórios, fraqueza de membros inferiores e sonolência.

Paciente 270 - Positividade detectada para ZIKV. Paciente do sexo masculino. 63 anos na data da coleta (06/12/2017). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Encefalite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 63 mg/dL e 60mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 1 e 1. Passou por hospitalização. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, febre, sintomas ópticos, mialgia, fraqueza de membros inferiores, fraqueza de membros superiores e sonolência.

Paciente 272 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo masculino. 63 anos na data da coleta (06/12/2017). Residente de Atibaia. Apresentou hipótese diagnóstica de Encefalite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 50 mg/dL e 49mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 0 e 0. Passou por hospitalização. Fez uso de Amoxicilina, Clavunolato, Aciclovir, Vancomicina, Meropenem. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, febre, sintomas ópticos, prostração, sintomas respiratórios, tremores, diplopia e sonolência.

Paciente 273 - Positividade detectada para ZIKV. Paciente do sexo feminino. 31 anos na data da coleta (13/12/2017). Residente de Hortolândia. Apresentou hipótese diagnóstica de Encefalite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 34 mg/dL e 46mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 0 e 38. Passou

por hospitalização. Paciente imunocompetente. Foi registrado, a respeito de sinais e sintomas, apenas irritabilidade.

Paciente 274 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo masculino. 60 anos na data da coleta (16/12/2017). Residente de Jaguariúna. Apresentou hipótese diagnóstica de Encefalopatia. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 35 mg/dL e 66mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 2 e 41. Sintoma de cefaleia. Consta que utilizou quimioterapia e radioterapia. Paciente veio a óbito.

Paciente 278 - Positividade detectada para HSV-2, HHV-6. Paciente do sexo masculino. 18 anos na data da coleta (21/12/2017). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Meningite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 20 mg/dL e 60mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 2 e 10. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Consta registro de uso de Ceftriaxone. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, febre e náusea.

Paciente 279 - Positividade detectada para HHV-6. Paciente do sexo feminino. 53 anos na data da coleta (22/12/2017). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Neuropatia. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 56 mg/dL e 98mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 56 e 98. Há registro de uso de tenofovir, lamivudina, darunavir, ritonavir, dolutegravir, glifage. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, febre, fraqueza de membros superiores e paresia facial.

Paciente 283 - Positividade detectada para HHV-6. Paciente do sexo feminino. 56 anos na data da coleta (04/01/2018). Residente de Hortolândia. Apresentou hipótese diagnóstica de Encefalopatia. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 34 mg/dL e 55mg/dL, com contagem

de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 2 e 529. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Foi registrado, a respeito de sinais e sintomas, apenas cefaleia.

Paciente 289 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo masculino. 28 anos na data da coleta (19/01/2018). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Distúrbios de comportamento. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 31 mg/dL e 56mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 0 e 1. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente.

Paciente 291 - Positividade detectada para ZIKV. Paciente do sexo masculino. 18 anos na data da coleta (14/01/2018). Residente de Morungaba. Apresentou hipótese diagnóstica de Síndrome de Guillain-Barré. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 79 mg/dL e 70mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 6 e 1. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, febre, náusea, sintomas respiratórios, fraqueza de membros inferiores e fraqueza de membros superiores.

Paciente 292 - Positividade detectada para ZIKV. Paciente do sexo feminino. 48 anos na data da coleta (19/01/2018). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Neurite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 25 mg/dL e 67mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 4 e 70. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Fez uso de Ciprofloxacino, Albendazol e Pulsoterapia. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, dor retro orbital, sintomas ópticos e visão turva.

Paciente 294 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo feminino. 66 anos na data da coleta (21/01/2018). Residente de Hortolândia. Apresentou hipótese diagnóstica de Triagem infecciosa. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 48 mg/dL e 52mg/dL, com contagem

de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 1 e 0. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, rebaixamento de nível de consciência, náusea, fraqueza simétrica, fraqueza de membros inferiores e sonolência.

Paciente 297 - Positividade detectada para HHV-6, EV. Paciente do sexo masculino. 64 anos na data da coleta (29/01/2018). Residente de Hortolândia. Apresentou hipótese diagnóstica de Triagem infecciosa. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 62 mg/dL e 201mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 2 e 7. Passou por hospitalização. Há registro de administração de Tiamina, Cefepime, Metronidazol. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, febre, rigidez de nuca, paresia, disartria e fraqueza de membros inferiores.

Paciente 300 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo masculino. 35 anos na data da coleta (07/02/2018). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Meningite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 73 mg/dL e 46mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 8 e 1. Foi registrado, a respeito de sinais e sintomas, apenas cefaleia.

Paciente 304 - Positividade detectada para EV. Paciente do sexo masculino. 49 anos na data da coleta (20/02/2018). Residente de Poços de Caldas. Apresentou hipótese diagnóstica de Neurite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 28 mg/dL e 54mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 1 e 0. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, sintomas ópticos e visão turva.

Paciente 305 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo masculino. 41 anos na data da coleta (21/02/2018). Residente de Praia Grande. Apresentou hipótese diagnóstica de Encefalopatia. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 32 mg/dL e 97mg/dL, com

contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 0 e 8. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Consta que utilizou polimixina. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, febre, sintomas cardiovasculares, sintomas respiratórios, disfagia e tremores.

Paciente 306 - Positividade detectada para HHV-6. Paciente do sexo feminino. 55 anos na data da coleta (21/02/2018). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Meningite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 133 mg/dL e 50mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 278 e 27. Passou por hospitalização. Há registros de uso de Dexametasona, Ceftriaxone, Aciclovir Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, febre, sintomas ópticos, náusea, rebaixamento de nível de consciência, tontura e rigidez de nuca.

Paciente 307 - Positividade detectada para EBV. Paciente do sexo feminino. 52 anos na data da coleta (01/03/2018). Residente de Cosmópolis. Apresentou hipótese diagnóstica de Triagem infecciosa. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 40 mg/dL e 80mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 2 e 2. Passou por hospitalização. Consta registro de uso de Ceftriaxone, Clavulin. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, febre, edema, confusão mental, rebaixamento de nível de consciência, sonolência e coma. Paciente veio a óbito.

Paciente 309 - Positividade detectada para EV. Paciente do sexo feminino. 75 anos na data da coleta (23/02/2018). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Encefalite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 69 mg/dL e 65mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 2 e 22. Paciente imunocompetente. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, febre, sintomas ópticos e náusea.

Paciente 311 - Positividade detectada para HHV-6. Paciente do sexo masculino. 41 anos na data da coleta (23/02/2018). Residente de Campinas. Apresentou hipótese

diagnóstica de Hidrocefalia. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 253 mg/dL e 40mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 41 e 308. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Consta que utilizou Ondasentrona, Oxacilina. Foi registrado, a respeito de sinais e sintomas, apenas cefaleia.

Paciente 313 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo feminino. 64 anos na data da coleta (01/03/2018). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Triagem infecciosa. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 29 mg/dL e 100mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 1 e 0. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Fez uso de antibiótico (não especificado), Metformina, captopril, glicamil. Foi registrado, a respeito de sinais e sintomas, apenas cefaleia.

Paciente 314 - Positividade detectada para ZIKV. Paciente do sexo masculino. 20 anos na data da coleta (02/03/2018). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Triagem infecciosa. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 29 mg/dL e 64mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 0 e 102. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Há registro de administração de landol, ácido acetil salicílico, fenergan, midazolan, Clavilun. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, sintomas cardiovasculares, sintomas respiratórios, irritabilidade e sonolência.

Paciente 316 - Positividade detectada para EV. Paciente do sexo masculino. 64 anos na data da coleta (02/03/2018). Residente de Paulínia. Apresentou hipótese diagnóstica de Síndrome cerebelar. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 46 mg/dL e 60mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 1 e 9. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, febre, disfagia, parestesia, disartria e disfonia.

Paciente 317 - Positividade detectada para HHV-6. Paciente do sexo masculino. 30 anos na data da coleta (05/03/2018). Residente de Piracicaba. Apresentou hipótese diagnóstica de Neurite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 48 mg/dL e 58mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 2 e 0. Paciente imunocompetente. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, edema visão turva e sonolência.

Paciente 320 - Positividade detectada para HHV-6. Paciente do sexo masculino. 20 anos na data da coleta (07/03/2018). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Encefalite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 36 mg/dL e 58mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 10 e 5. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Consta que utilizou Amoxicilina. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, febre, mialgia e rigidez de nuca.

Paciente 324 - Positividade detectada para HHV-6. Paciente do sexo masculino. 58 anos na data da coleta (12/03/2018). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Triagem infecciosa. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 191 mg/dL e 47mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 138 e 120. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Fez uso de meropenem, tazocim. Foi registrado, a respeito de sinais e sintomas, apenas febre.

Paciente 330 - Positividade detectada para HHV-6, DENV. Paciente do sexo masculino. 75 anos na data da coleta (25/03/2018). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Hidrocefalia. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 95 mg/dL e 56mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 4 e 3. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Fez uso de Ceftriaxona, Metronidazol, Imipenem, hidrocortizona. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, febre, prostração, diarreia, sintomas respiratórios, disfagia

Paciente 331 - Positividade detectada para HHV-6, DENV. Paciente do sexo feminino. 63 anos na data da coleta (22/03/2018). Residente de Hortolândia. Apresentou hipótese diagnóstica de Meningoencefalite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 103 mg/dL e 83mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 29 e 59. Passou por hospitalização. Consta que utilizou Micofenolato, Prednisolona, Vancomicina, Meropenem, Hidrocortizona. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, febre, diarreia e sintomas cardiovasculares. Paciente veio a óbito.

Paciente 332 - Positividade detectada para HHV-6. Paciente do sexo feminino. 42 anos na data da coleta (24/03/2018). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Meningite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 158 mg/dL e 52mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 427 e 12. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, febre e rigidez de nuca.

Paciente 335 - Positividade detectada para HHV-6. Paciente do sexo feminino. 60 anos na data da coleta (27/03/2018). Residente de Hortolândia. Apresentou hipótese diagnóstica de Síndrome motora. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 32 mg/dL e 55mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 2 e 9. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Consta que utilizou codeína, amoxicilina e baclofeno. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, fraqueza simétrica, fraqueza de membros inferiores, fraqueza de membros superiores e sonolência.

Paciente 336 - Positividade detectada para ZIKV. Paciente do sexo masculino. 34 anos na data da coleta (27/03/2018). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Triagem infecciosa. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 31 mg/dL e 51mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 0 e 24.

Passou por hospitalização. Fez uso de bactrim, ceftriaxona, azitromicina, meropenem. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, febre, náusea, rebaixamento de nível de consciência, diarreia e sintomas respiratórios. Paciente veio a óbito.

Paciente 337 - Positividade detectada para HHV-6. Paciente do sexo masculino. 22 anos na data da coleta (28/03/2018). Residente de Sumaré. Apresentou hipótese diagnóstica de Epilepsia e convulsão. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 32 mg/dL e 80mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 1 e 6. Paciente imunocompetente.

Paciente 343 - Positividade detectada para HHV-6. Paciente do sexo masculino. 69 anos na data da coleta (11/04/2018). Residente de Sumaré. Apresentou hipótese diagnóstica de Triagem infecciosa. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 44 mg/dL e 61mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 1 e 6. Passou por hospitalização. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, fraqueza de membros inferiores e rebaixamento de nível de consciência.

Paciente 348 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo feminino. 35 anos na data da coleta (16/04/2018). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Esclerose Múltipla. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 33 mg/dL e 60mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 1 e 5. Passou por hospitalização. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia e visão turva.

Paciente 349 - Positividade detectada para HHV-6, DENV. Paciente do sexo feminino. 23 anos na data da coleta (19/04/2018). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Hidrocefalia. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 10 mg/dL e 80mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de,

respectivamente, 2 e 747. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia e náusea.

Paciente 350 - Positividade detectada para EV. Paciente do sexo feminino. 48 anos na data da coleta (20/04/2018). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Triagem infecciosa. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 52 mg/dL e 165mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 1 e 3. Passou por hospitalização. Consta que utilizou Cefazolina, fluconazol, ciprofloxacino. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, rebaixamento de nível de consciência, sintomas respiratórios e sonolência.

Paciente 351 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo feminino. 61 anos na data da coleta (25/04/2018). Residente de Paulínia. Apresentou hipótese diagnóstica de Hidrocefalia. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 45 mg/dL e 66mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 1 e 654. Paciente imunocompetente. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, náusea e diarreia.

Paciente 356 - Positividade detectada para HSV-1, HSV-2. Paciente do sexo feminino. 34 anos na data da coleta (29/04/2018). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Encefalopatia. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 43 mg/dL e 51mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 19 e 179. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, mialgia, irritabilidade, fraqueza simétrica, rigidez de nuca, fraqueza de membros inferiores e fraqueza de membros superiores.

Paciente 359 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo masculino. 64 anos na data da coleta (03/05/2018). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Triagem infecciosa. Sintoma registrado de rebaixamento de nível de

consciência. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 46 mg/dL e 79mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 2 e 29. Passou por hospitalização.

Paciente 368 - Positividade detectada para YFV. Paciente do sexo feminino. 72 anos na data da coleta (11/05/2018). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Encefalite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 55 mg/dL e 83mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 1 e 33. Passou por hospitalização. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, prostração, sintomas cardiovasculares, rigidez de nuca e sonolência.

Paciente 369 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo feminino. 54 anos na data da coleta (16/05/2018). Residente de Sumaré. Apresentou hipótese diagnóstica de Síndrome motora. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 24 mg/dL e 70mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 1 e 0. Paciente imunocompetente. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, fraqueza simétrica, paresia, fraqueza de membros inferiores e fraqueza de membros superiores.

Paciente 383 - Positividade detectada para EV, ZIKV. Paciente do sexo masculino. 45 anos na data da coleta (29/05/2018). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Triagem infecciosa. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 26 mg/dL e 138mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 2 e 109. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Fez uso de cefepine e azitromicina. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, febre, dispneia, sintomas respiratórios, disfagia e sonolência.

Paciente 386 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo masculino. 69 anos na data da coleta (05/06/2018). Residente de Campinas. Apresentou hipótese

diagnóstica de Triagem infecciosa. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 64 mg/dL e 106mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 1 e 1. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Há registro de administração de clavulim, cefepime, metronidazol. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, febre, rebaixamento de nível de consciência, irritabilidade, parestia e disartria.

Paciente 387 - Positividade detectada para HHV-6, DENV. Paciente do sexo masculino. 42 anos na data da coleta (06/06/2018). Residente de Tambaú. Apresentou hipótese diagnóstica de Epilepsia. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 31 mg/dL e 59 mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 2 e 25. Paciente imunocompetente. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, convulsão, cefaleia, tremores, parestia e sonolência.

Paciente 390 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo feminino. 65 anos na data da coleta (11/06/2018). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Encefalite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 59 mg/dL e 77 mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 165 e 1. Passou por hospitalização. Consta que fez uso de metformina e aciclovir. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, febre, rigidez de nuca e hiperreflexia.

Paciente 393 - Positividade detectada para EV. Paciente do sexo masculino. 76 anos na data da coleta (14/06/2018). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Neurite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 91 mg/dL e 97 mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 18 e 311. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Consta que fez uso de aciclovir. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, febre, rebaixamento de nível de consciência e sonolência.

Paciente 394 - Positividade detectada para EV. Paciente do sexo feminino. 67 anos na data da coleta (18/06/2018). Residente de Hortolândia. Apresentou hipótese diagnóstica de Hidrocefalia. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 27 mg/dL e 64 mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 0 e 69. Paciente imunocompetente.

Paciente 395 - Positividade detectada para EV, DENV. Paciente do sexo feminino. 44 anos na data da coleta (20/06/2018). Residente de Americana. Apresentou hipótese diagnóstica de Mielite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 28 mg/dL e 54 mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 1 e 60. Paciente imunocompetente. Consta registro de uso de Sertralina, Carbamazepina, amoxicilina.

Paciente 398 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo feminino. 24 anos na data da coleta (20/06/2018). Residente de São Jose do Rio Pardo. Apresentou hipótese diagnóstica de Encefalopatia. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 38 mg/dL e 62mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 2 e 1195. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia e sintomas ópticos.

Paciente 401 - Positividade detectada para EV. Paciente do sexo feminino. 44 anos na data da coleta (02/07/2018). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Triagem infecciosa. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 29 mg/dL e 112mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 2 e 0. Passou por hospitalização. Há registro de que fez uso de tenofovir, lamivudina, dolutegravir midazolam, cefepime, azitromicina, sinfetanil, bactrin. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, febre, náusea, dispneia e sintomas respiratórios.

Paciente 403 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo masculino. 82 anos na data da coleta (04/07/2018). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Meningite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 70 mg/dL e 79mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 1 e 2. Há registro de que fez uso de aciclovir, ciclovenzaprina, sinvastatia e ácido acetil salicílico. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, náusea e rigidez de nuca.

Paciente 404 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo masculino. 47 anos na data da coleta (05/07/2018). Residente de Paulínia. Apresentou hipótese diagnóstica de Triagem infecciosa. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 27 mg/dL e 70mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 4 e 396. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, sintomas respiratórios e paresia.

Paciente 405 - Positividade detectada para VZV, HHV-6, EV. Paciente do sexo feminino. 35 anos na data da coleta (06/07/2018). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Meningite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 80 mg/dL e 56mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 136 e 6. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Consta que utilizou Ceftriaxone, aciclovir. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, febre, dor retro orbital, náusea, diarreia e rigidez de nuca.

Paciente 406 - Positividade detectada para ZIKV. Paciente do sexo feminino. 75 anos na data da coleta (06/07/2018). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Triagem infecciosa. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 29 mg/dL e 150mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 1 e 105. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Fez uso de dopamina, adrenalina, ceftriaxone. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas,

edema, sintomas cardiovasculares, sintomas respiratórios, rebaixamento de nível de consciência, fraqueza de membros inferiores, fraqueza de membros superiores, arreflexia e coma.

Paciente 408 - Positividade detectada para EV. Paciente do sexo masculino. 49 anos na data da coleta (07/07/2018). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Meningite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 63 mg/dL e 65mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 0 e 81. Passou por hospitalização. Consta que utilizou fenobarbital, carbamazepina, amoxicilina. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, sintomas ópticos, náusea e sintomas respiratórios.

Paciente 409 - Positividade detectada para EV. Paciente do sexo feminino. 62 anos na data da coleta (11/07/2018). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Síndrome de Guillain-Barré. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 36 mg/dL e 64mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 2 e 2. Passou por hospitalização. Paciente imunocompetente. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia, náusea, tontura, disfagia, diplopia, parestesia, visão turva, fraqueza de membros inferiores, fraqueza de membros superiores, sonolência e arreflexia.

Paciente 410 - Positividade detectada para EV. Paciente do sexo feminino. 40 anos na data da coleta (11/07/2018). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Neurite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 29 mg/dL e 57mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 1 e 6. Paciente imunocompetente. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, sintomas ópticos e visão turva.

Paciente 411 - Positividade detectada para DENV. Paciente do sexo feminino. 71 anos na data da coleta (12/07/2018). Residente de Campinas. Apresentou hipótese

diagnóstica de Epilepsia. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 32 mg/dL e 200mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 1 e 1. Passou por hospitalização. Consta registro de uso de antibioticoterapia, prednisona, hydrea, metformina. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, febre, tontura, sintomas cardiovasculares, fraqueza simétrica, convulsão, paresia, fraqueza de membros inferiores, fraqueza de membros superiores, hiperreflexia e arreflexia.

Paciente 419 - Positividade detectada para EV. Paciente do sexo feminino. 29 anos na data da coleta (23/07/2018). Residente de Rio Claro. Apresentou hipótese diagnóstica de Meningite. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 52 mg/dL e 70mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 3 e 0. Passou por hospitalização. Foram registrados, a respeito de sinais e sintomas, cefaleia e febre.

Paciente 420 - Positividade detectada para HHV-6. Paciente do sexo feminino. 60 anos na data da coleta (25/07/2018). Residente de Campinas. Apresentou hipótese diagnóstica de Encefalopatia. Quanto aos exames laboratoriais, o valor para proteína e glicose em LCR foi, respectivamente 30 mg/dL e 58mg/dL, com contagem de leucócitos e hemácias (apresentadas em /mm³) de, respectivamente, 1 e 9.

APÊNDICE II – Compilação dos resultados de eletroferograma em conjunto da sequência FASTA obtida por meio do sequenciamento dos amplicons dos EVs.

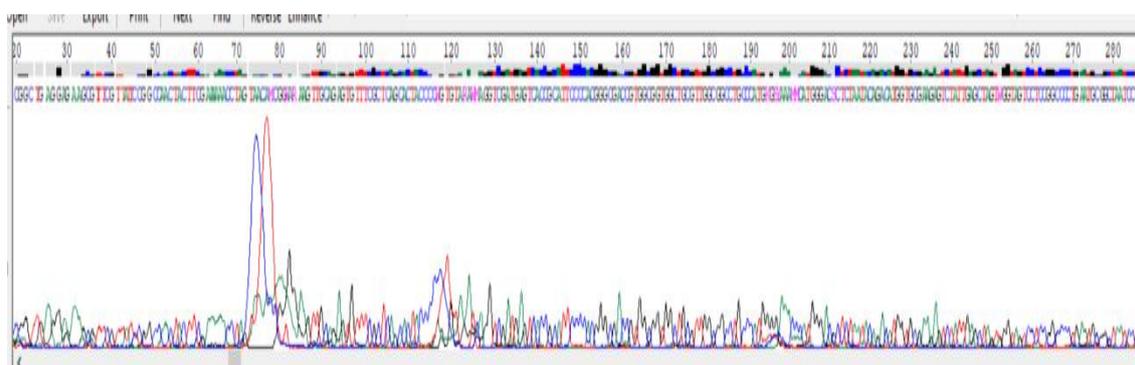
Amostra 87

Provável subtipo viral: Coxsackievirus B3, cepa Nancy (GenBank: JX312064.1)

Sequência resultante:

```
CCCTCTGGCTTGAGGGTGTGTGCTCCGCAGCTAGGATTAGCCGATCAGG
GGCCGGAGGACTACWACTAGCTCAATAGACTCTTCGCACCATGTCTGT
ATTAGAGCGTCCCATGGGTTTCCCCATGGGCAGGCCGCCAACGCAGCCA
CCGCCACGGTGCCCCGTGGGGAATGCGGTGACTCATCGACCTGATCTAC
ACTGGGGTAGTGCTGAGCGAAACACTCTGCAACTTCCACGGTGTTACTA
GGTTTTTCGAAGTAGTTGGCC
```

Eletroferograma:



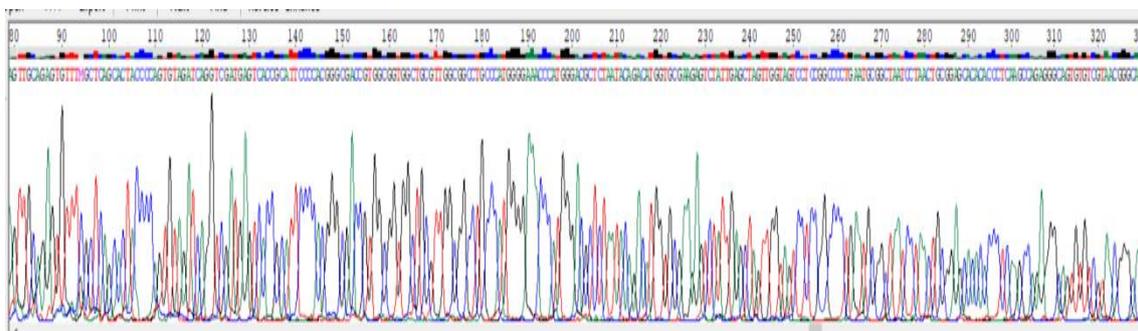
Amostra 149

Provável subtipo viral: Coxsackievirus B3 clone CV-B3/28 2A C107S (GenBank: MK012537.1)

Sequência resultante:

```
CGTTACGACACACTGCCTCTGGCTTGAGGGTGTGTGCTCCGCAGTTAGG
ATTAGCCGCATTCAGGGGSCGGAGGACTACCAACTAGCTCAATAGACTCT
TCGCACCATGTCTGTATTAGAGCGTCCCATGGGTTTCCCCATGGGCAGG
CCGCCAACGCAGCCACCGCCACGGTGCCCCGTGGGGAATGCGGTGACT
CATCGACCTGATCTACACTGGGGTAGTGCTGAGCGAAACACTCTGCAACT
TCCACGGTGTTACTAGGTTTTTCGAAGTAGTTGGCCGGATAACGAACGCT
TTCTCCTTCAACCGCGC
```

Eletróferograma:



Amostra 304

Provável subtipo viral: Coxsackievirus B3 clone CV-B3/28 2A C107S (GenBank: MK012537.1)

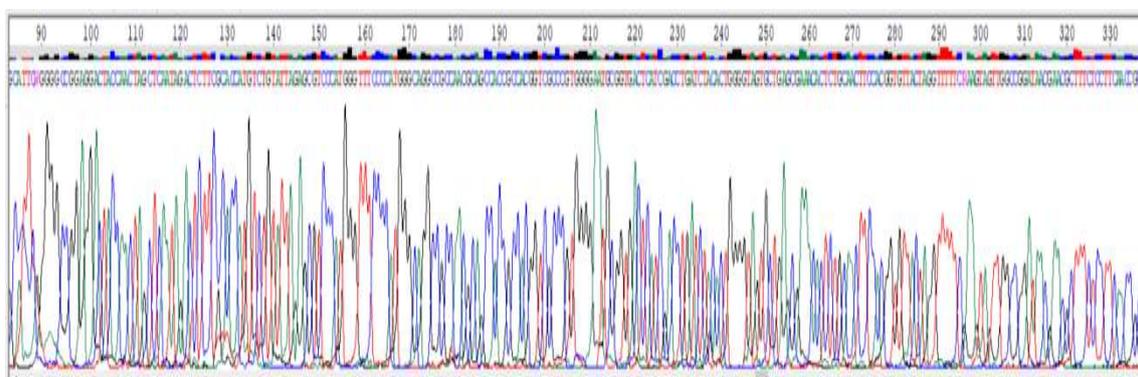
Sequência resultante:

```

ACTGCCCTCTGGCTTGAGGGTGTGTGCTCCGCAGTTAGGATTAGCCGCA
TTCWGGGGCCGGAGGACTACCAACTAGCTCAATAGACTCTTCGCACCAT
GTCTGTATTAGAGCGTCCCATGGGTTTCCCATGGGCAGGCCGCCAACG
CAGCCACCGCCACGGTCGCCCGTGGGGAATGCGGTGACTCATCGACCT
GATCTACACTGGGGTAGTGCTGAGCGAAACACTCTGCAACTTCCACGGT
GTTACTAGGTTTTTCRAAGTAGTTGGCCGGATAACGAACGCTTTCTCCTT
CAACCGC

```

Eletróferograma:



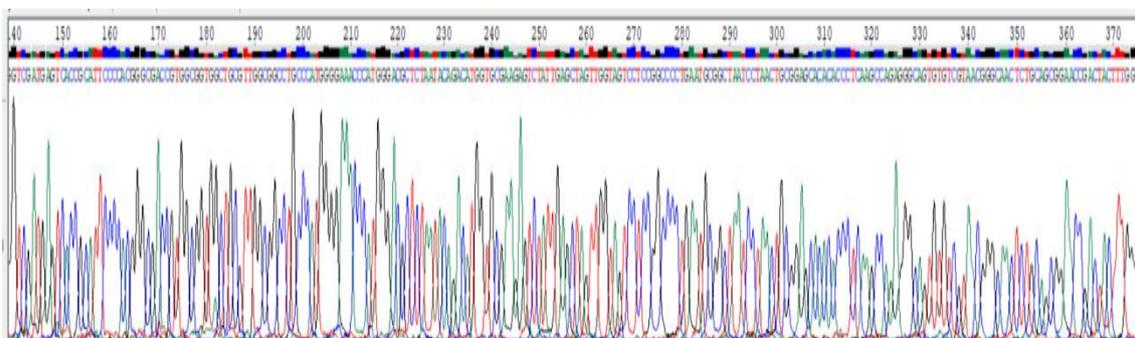
Amostra 309

Provável subtipo viral: Coxsackievirus B3, cepa Nancy (GenBank: JX312064.1)

Sequência resultante:

```
TTACGACACACTGCCCTCTGGCTTGAGGGTGTGTGCTCCGCAGTTAGGA
TTAGCCGCATTCAGGGGCCGGAGGACTACCAACTAGCTCAATAGACTCTT
CGCACCATGTCTGTATTAGAGCGTCCCATGGGTTTCCCATGGGCAGGC
CGCCAACGCAGCCACCGCCACGGTGC CCCGTGGGGAATGCGGTGACTC
ATCGACCTGATCTACACTGGGGTAGTGCTGAGCGAAACTCTGCAACTT
CCACGGTGTTACTAGGTTTTTTCGAAGTAGTTGGCCGGATAACGAACGCTT
CTCCTTCAACCGCGTGAGCAGTCTATTGATACTCAGT
```

Eletroferograma:

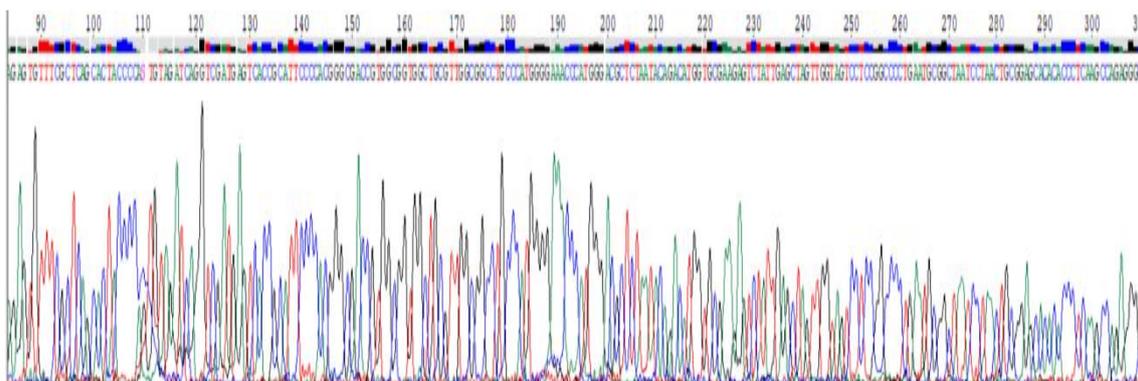
**Amostra 383**

Provável subtipo viral: Coxsackievirus B3 clone CV-B3/28 2A C107S (GenBank: MK012537.1)

Sequência resultante:

```
ACTGCTCACGCGGKTGAAGGAGAAAAGCGTTYGTTATCCGGCCAACTAC
TTYGAAAACCTAGTAACACCGTGAAGTTGCAGAGTGTTCGCTCAGCA
CTACCCAGTGTAGATCAGGTCGATGAGTCACCGCATTCCCCACGGGCG
ACCGTGGCGGTGGCTGCGTGGCGGCCTGCCCATGGGGAAACCCATGGG
ACGCTCTAATACAGACATGGTGCGAAGAGTCTATTGAGCTAGTTGGTAGT
CCTCCGGCCCTWGAATGCGGCTAATCCTAACTGCGGAGCACACACCCTC
AAGCCAGAGGGCAGTGTGTCGTAAC
```

Eletroferograma:

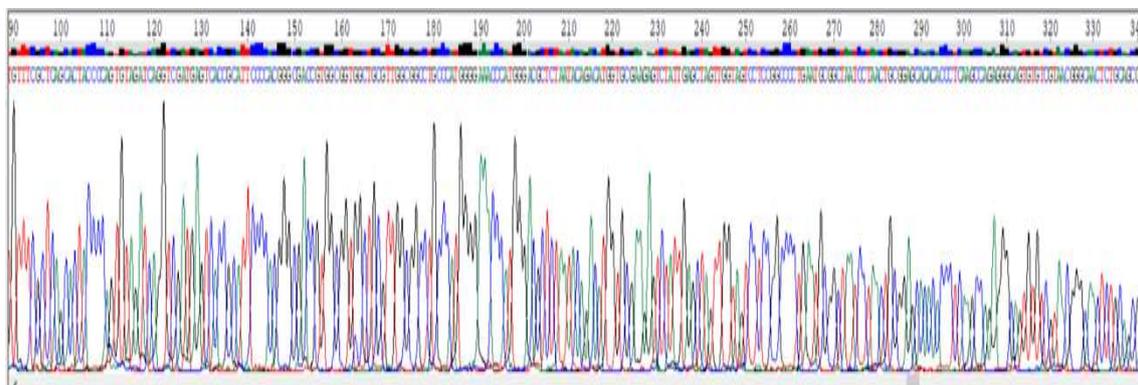
**Amostra 393**

Provável subtipo viral: Coxsackievirus B3 clone CV-B3/28 2A C107S (GenBank: MK012537.1)

Sequência resultante:

```
CGCGGTTGAGGAGAAGMGTTTCGTTATCCGGCCAACTACTTCGAAAACC
TAGTAACACCGTGGAAGTTGCAGAGTGTTTCGCTCAGCACTACCCAGTG
TAGATCAGGTGATGAGTCACCGCATTCCCCACGGGCGACCGTGGCGGT
GGCTGCGTTGGCGGCCTGCCATGGGGAAACCCATGGGACGCTCTAATA
CAGACATGGTGCGAAGAGTCTATTGAGCTAGTTGGTAGTCCTCCGGCCC
CTGAATGCGGCTAATCCTAACTGCGGAGCACACACCTCAAGCCAGAGG
GCAGTGTGTGTAACGGGC-AACTCTGCAGCGGAACCGACT
```

Eletroferograma:



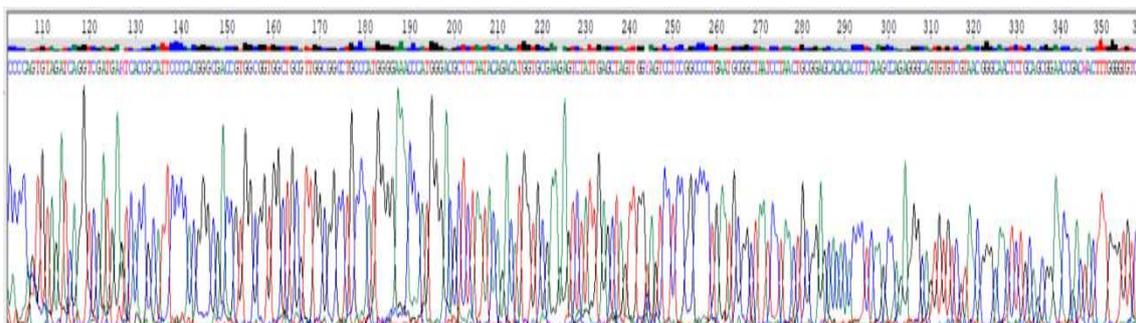
Amostra 395

Provável subtipo viral: Coxsackievirus B3 clone CV-B3/28 2A C107S (GenBank: MK012537.1)

Sequência resultante:

```
TTACGACACACTGCCCTCTGGCTTGAGGGTGTGTGCTCCGCAGTTAGGA
TTAGCCGCATTCAGGGGCCGGAGGACTRCCAAGCTCAATAGACTCT
TCGCACCATGTCTGTATTAGAGCGTCCCATGGGTTTCCCATGGGCAGG
CCGCCAACGCAGCCACCGCCACGGTCGCCCGTGGGGAATGCGGTGAYT
CATCGACCTGATCTACACTGGGGTAGTGCTGAGCGAAACAC
```

Eletroferograma:

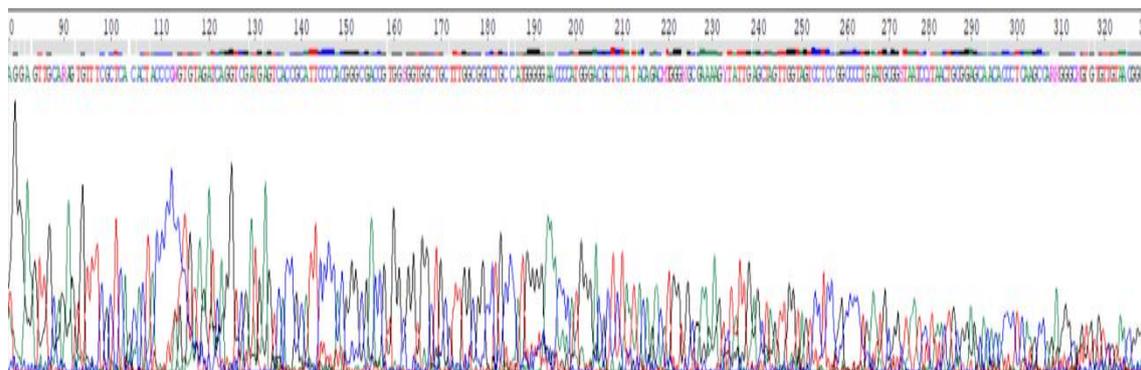
**Amostra 401**

Provável subtipo viral: Coxsackievirus B3 clone CV-B3/28 2A C107S (GenBank: MK012537.1)

Sequência resultante:

```
ACTGCCCTCTGGCTTGAGGGTGTGTGCTCCGCAGTTAIGGATTAGCCGCA
CTCTGGGGCCGGAGGACTACCAACTAGCTCAATAGACTCTTCKCACCAT
GTCTGTATTAGAGCGTCCCATGGGGTTTCCCATGGGCAGGCCGCCAAC
GCAGCCACCGCCACGGTCGCCCGTGGGGAATGCGGTGACTCATCGACC
TGATCTACACTGGGGTAGTGSTGAGCGAAACACTCTGCAACTTCCACGG
GTTACTAGGTTTTCGAAGTAKTTGGCCGGAATAACGAACGCTTTCTCC
```

Eletroferograma:



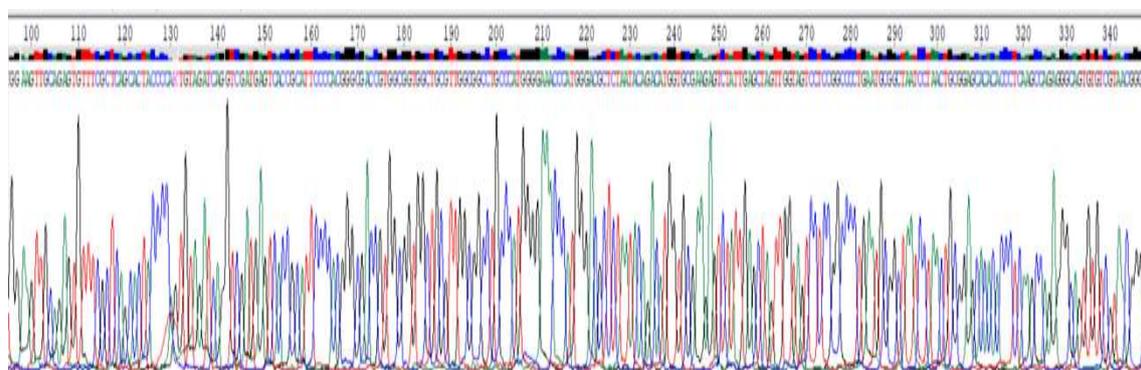
Amostra 408

Provável subtipo viral: Coxsackievirus B3 clone CV-B3/28 2A C107S (GenBank: MK012537.1)

Sequência resultante:

```
GACACACTGCCCTCTGGCTTGAGGGTGTGTGCTCCGCAGTTAGGATTAG
CCGCATTCAGGGGCCGGAGGACTACCAACTAGCTCAATAGACTCTTCGC
ACCATGTCTGTATTAGAGCGTCCCATGGGTTTCCCCATGGGCAGGCCGC
CAACGCAGCCACCGCCACGGTTCGCCCGTGGGGAATGCGGTGACTCATC
GACCTGATCTAACTGGGGTAGTGCTGAGCGAAACTCTGCAACTTCCA
CGGTGTTACTAGGTTTTTTCGAAGTAGTTGGCCGGATAACGAACGCTTTCT
CCTTCAACCGCGTGAGCAGTCTATTGATACTCAGTCCGGG
```

Eletroferograma:



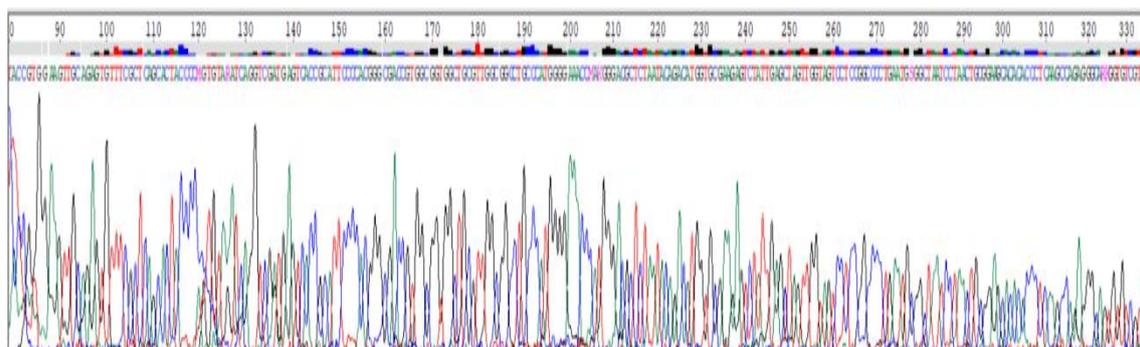
Amostra 410

Provável subtipo viral: Coxsackievirus B3 clone CV-B3/28 2A C107S (GenBank: MK012537.1)

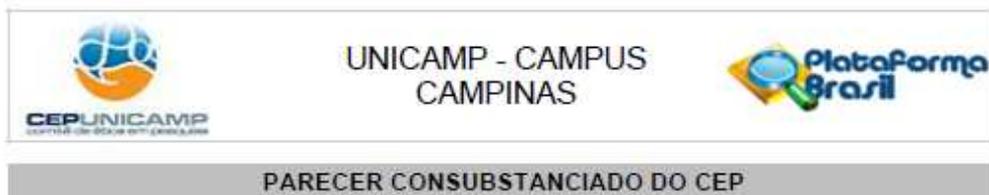
Sequência resultante:

```
CCGTTACGACACCMYTGCCCTCTGGCTTGAGGGTGTGTGCTTCCGCAGT
TAGGATTAGCCSCATTCAGGGGCCGGAGGACTACCAACTAGCTCAATAG
ACTCTTCGCACCATGTCTGTATTAGAGCGTCCCMTKGGTTTCCCCATGGG
CAGGCCGCCAACGCAGCCACCGCCACGGTCGCCCGTGGGGAATGCGGT
GACTCATCGACCTGATYACACKGGGGTAGTGCTGAGCGAAACACTCTG
CAACTTCCACGGTAWTACTAGGTTTTTTCGAAGTAGTTGGGCCGGATAAAA
CGAACGC
```

Eletroferograma:



ANEXO I – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP



DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Zika Vírus e outros vírus causadores de síndromes neurológicas em pacientes atendidos no Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas. Estudo de coorte prospectivo.

Pesquisador: SANDRA HELENA ALVES BONON

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 59361816.3.0000.5404

Instituição Proponente: Hospital de Clínicas da UNICAMP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.385.191

Apresentação do Projeto:

Parecer de apreciação de solicitação de emenda 1 (um).

Justificativa da Emenda:

Inclusão do pesquisador Lucas Lopes Leon por fazer parte da equipe de pesquisa como aluno de Doutorado, sob orientação da Profa. Dra. Sandra Helena Alves Bonon, no curso de Pós-Graduação em Clínica Médica.

Objetivo da Pesquisa:

Nada é alterado em relação ao projeto original.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Na emenda a inclusão de outro pesquisador não altera os riscos e benefícios dos participantes em participar da pesquisa.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

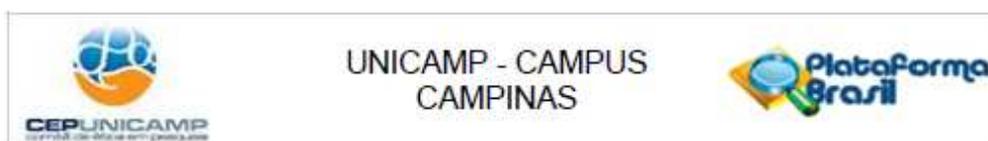
Projeto original aprovado em novembro de 2016.

Nada é alterado em objetivos, métodos ou cronograma.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Para solicitação de emenda pesquisador apresenta o documento

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 2.385.191

"PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_982738_E1.pdf 07/11/2017 " com a justificativa da emenda e inserção do aluno de doutorado na pesquisa em pesquisa, Equipe de Pesquisa
CPF/Documento Nome 418.276.408-04 Lucas Lopes Leon

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Emenda aprovada.

Considerações Finais a critério do CEP:

- O sujeito de pesquisa deve receber uma via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado.
- O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado.
- O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado. Se o pesquisador considerar a descontinuação do estudo, esta deve ser justificada e somente ser realizada após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou. O pesquisador deve aguardar o parecer do CEP quanto à descontinuação, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito.
- O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo. É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido e enviar notificação ao CEP junto com seu posicionamento.
- Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.
- Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, inicialmente seis meses após a data deste parecer de aprovação e ao término do estudo.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
 Bairro: Barão Geraldo CEP: 13.083-887
 UF: SP Município: CAMPINAS
 Telefone: (19)3521-8936 Fax: (19)3521-7187 E-mail: cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 2.385.151

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_982738_E1.pdf	07/11/2017 17:08:08		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	termodeconsentimento.pdf	16/11/2016 17:23:57	SANDRA HELENA ALVES BONON	Aceito
Outros	cartaresposta2.pdf	10/10/2016 14:34:21	SANDRA HELENA ALVES BONON	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETOSNETICA2016.pdf	10/10/2016 12:10:58	SANDRA HELENA ALVES BONON	Aceito
Outros	TERMODISPENSA2.pdf	10/10/2016 11:59:46	SANDRA HELENA ALVES BONON	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMAATIVIDADESoutubro2016.pdf	10/10/2016 11:57:44	SANDRA HELENA ALVES BONON	Aceito
Folha de Rosto	folhaderostohc.pdf	10/08/2016 16:33:32	SANDRA HELENA ALVES BONON	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CAMPINAS, 17 de Novembro de 2017

Assinado por:
Maria Fernanda Ribeiro Bittar
 (Coordenador)

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
 Bairro: Barão Geraldo CEP: 13.083-887
 UF: SP Município: CAMPINAS
 Telefone: (19)3521-8936 Fax: (19)3521-7187 E-mail: cep@fcm.unicamp.br

ANEXO II – MODELO DO TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Pesquisa “ZIKA VÍRUS E OUTROS VÍRUS CAUSADORES DE SÍNDROMES NEUROLÓGICAS EM PACIENTES ATENDIDOS NO HOSPITAL DE CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS. ESTUDO DE COORTE PROSPECTIVO”

Responsável: Profa. Dra. Sandra Helena Alves Bonon

Número do CAAE: 59361816.3.0000.5404

Você está sendo convidado e participar como voluntário de uma pesquisa. Este documento, chamado Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, visa assegurar seus direitos e deveres como participante e é elaborado em duas vias, uma que deverá ficar com você e outra com o pesquisador.

Por favor, leia com atenção e calma, aproveitando para esclarecer suas dúvidas. Se houverem perguntas antes ou mesmo depois de assiná-lo, você poderá esclarecê-las com o pesquisador. Se preferir, pode levar para casa e consultar seus familiares ou outras pessoas antes de decidir participar.

Procedimento:

Participando do estudo você está sendo convidado a autorizar que o resto de amostra de líquido que seria descartada pudesse ser testada para outros exames. Estes exames são chamados de biologia molecular e eles podemos pesquisar se na sua amostra existe a presença de vírus que podem ou não ser prejudiciais à sua saúde e que podem ou não ser responsáveis pelos seus sintomas ou parte deles.

Esclarecemos que sua participação é totalmente voluntária, podendo o (a) senhor (a): recusar-se a participar, ou mesmo desistir a qualquer momento, sem que isto acarrete qualquer ônus ou prejuízo à sua pessoa. Esclarecemos, também, que suas informações serão utilizadas somente para os fins desta pesquisa ou para esta e futuras pesquisas e serão tratadas com o mais absoluto sigilo.

Justificativa e Objetivos: As infecções do sistema nervoso (SN) atingem anualmente milhões de pessoas em todo o mundo. Podem ser causadas por vírus e são responsáveis por um grande número de doenças neurológicas. Por este motivo, este estudo poderá auxiliá-lo e também auxiliar outros pacientes a verificar se estes vírus estão causando mal ou não à sua saúde. Por estes motivos, os objetivos deste trabalho são o de identificar agentes virais que causam infecção no Sistema Nervoso em pacientes atendidos no Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas.

As amostras somente serão utilizadas após a sua assinatura no termo de consentimento ou de seu responsável. Esta colaboração em muito auxiliará o tratamento dos pacientes que apresentam resultados dos exames positivos para estes vírus, evitando complicações que possam vir a ocorrer, como o agravamento da doença neurológica. A pesquisadora responsável fará todo o acompanhamento e todos os resultados obtidos com esta pesquisa e os resultados serão transmitidos para a equipe médica e, se necessário, condutas serão tomadas, caso os exames sejam indicativos para modificação ou não do tratamento. Serão prestados esclarecimentos aos pacientes, quando necessário, antes, durante e após a realização da pesquisa.

Desconfortos e riscos:

Você **não** deve participar deste estudo se houver risco iminente de vida e outras condições que impeçam a coleta do material.

*Termo de Consentimento Livre Esclarecido apresentado, atendendo, conforme normas da Resolução 466/2012 de 12 de dezembro de 2012.

Os principais riscos associados à punção lombar para a coleta do líquido são:

- Sangramento no local da punção (punção traumática);
- Desconforto durante ou após o procedimento;
- Reação alérgica ao anestésico;
- Infecção no local da punção;
- Cefaleia (dor de cabeça) depois do procedimento.

Não há outros riscos previsíveis para os participantes.

Benefícios: Esta sua colaboração em muito auxiliará o seu tratamento, no caso do seu exame ser positivo para algum destes vírus pesquisados e para o estudo em geral, para sabermos quantos pacientes participantes apresentam resultados positivos, evitando complicações que possam vir a ocorrer. A pesquisadora responsável fará todo o acompanhamento laboratorial e todos os resultados obtidos com esta pesquisa serão transmitidos para a equipe médica.

Acompanhamento e assistência: As coletas de líquido, já anteriormente realizadas pelos médicos que fizeram o seu atendimento no ambulatório, enfermaria ou unidade de pronto-atendimento do Hospital das Clínicas da UNICAMP (HC/UNICAMP) seguirão para o Serviço de Líquidos Biológicos do Laboratório de Patologia Clínica do HC/UNICAMP para realização dos exames convencionais. Após utilização, o material que sobrar será encaminhado para o Laboratório de Virologia/FCM, onde será realizado o procedimento de análise da amostra proposto pelo estudo.

Sigilo e privacidade: Você tem a garantia de que sua identidade será mantida em sigilo e nenhuma informação será dada a outras pessoas que não façam parte da equipe de pesquisadores. Na divulgação dos resultados desse estudo, seu nome não será citado. Os resultados dos testes poderão ser arquivados em seu prontuário médico.

Ressarcimento: (Não haverá ressarcimento de despesas e nenhuma forma de reembolso de dinheiro, já que com a participação na pesquisa você não vai ter nenhum gasto como, por exemplo, transporte, alimentação, diárias etc.). Estou ciente de que todos os dados obtidos dos prontuários médicos serão sigilosos, e que o nome do colaborador não será utilizado em qualquer tipo de publicação. Após o estudo, as amostras serão descartadas, e caso (quando se fizer necessário) utilizadas em outro trabalho, o mesmo será submetido ao Comitê de Ética desta Instituição:

Para isso, optarei por uma alternativa, se aceitarei ou não que meu material biológico seja armazenado para utilização em pesquisas futuras:

() concordo em participar do presente estudo, porém NÃO AUTORIZO o armazenamento do meu material biológico, devendo o mesmo ser descartado ao final desta pesquisa.

() concordo em participar do presente estudo e AUTORIZO o armazenamento do meu material biológico, sendo necessário meu consentimento a cada nova pesquisa, que deverá ser aprovada pelo CEP institucional e, se for o caso, pela CONEP.

O descarte geralmente é realizado após a emissão do laudo final dos exames, de acordo com a RDC 306/04 e a RDC 302/05, Resoluções da ANVISA, que dispõem sobre o Regulamento Técnico para o Gerenciamento de resíduos de serviços de saúde e Regulamento Técnico para Funcionamento de Laboratórios Clínicos, respectivamente. O descarte de material biológico de acordo com essas RDCs já é um procedimento de rotina dentro dos Laboratórios da Divisão de Patologia Clínica do HC/UNICAMP.

*Termo de Consentimento Livre Esclarecido apresentado, atendendo, conforme normas da Resolução 466/2012 de 12 de dezembro de 2012.

Após a realização de todos os exames bioquímicos, citológicos e de cultura, as amostras, ao invés de serem descartadas, serão armazenadas a -20 graus Celsius em freezer e encaminhadas ao Laboratório de Virologia/FCM/UNICAMP, em recipiente de transporte apropriado, para a extração de DNA e RNA e realização dos exames moleculares complementares para a pesquisa de genomas virais. Em caso de falecimento ou condição incapacitante, os direitos sobre o material armazenado deverão ser dados a: _____ (favor indicar o nome de uma pessoa a ser contatada).

Caso o(a) senhor(a) tenha dúvidas ou necessite de maiores esclarecimentos poderá nos contatar: Dra. Sandra Bonon, Rua Tessália Vieira de Camargo, 126, Cidade Universitária "Zeferino Vaz" – Faculdade de Ciências Médicas – Prédio do Centro de Pesquisa Clínica – CPC/FCM/UNICAMP, telefone (19) 3521-7734, sbonon@fcm.unicamp.br.

Em caso de denúncias ou reclamações sobre sua participação e sobre questões éticas do estudo, você poderá entrar em contato com a secretaria do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UNICAMP das 08:30hs às 11:30hs e das 13:00hs as 17:00hs na Rua: Tessália Vieira de Camargo, 126; CEP 13083-887 Campinas – SP; telefone (19) 3521-8936 ou (19) 3521-7187; e-mail: cep@fcm.unicamp.br.

O Comitê de Ética em Pesquisa (CEP): O papel do CEP é avaliar e acompanhar os aspectos éticos de todas as pesquisas envolvendo seres humanos. A Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) tem por objetivo desenvolver a regulamentação sobre proteção dos seres humanos envolvidos nas pesquisas. Desempenha um papel coordenador da rede de Comitês de Ética em Pesquisa (CEPs) das instituições, além de assumir a função de órgão consultor na área de ética em pesquisas.

Consentimento livre e esclarecido: Após ter sido esclarecimento sobre a natureza da pesquisa, seus objetivos, métodos, benefícios previstos, potenciais riscos e o incômodo que esta possa acarretar, aceito participar:

Nome do(a) participante: _____
Data: ____/____/____.

(Assinatura do participante ou nome e assinatura do responsável)

Responsabilidade do Pesquisador: Asseguro ter cumprido as exigências da resolução 466/2012 CNS/MS e complementares na elaboração do protocolo e na obtenção deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Asseguro, também, ter explicado e fornecido uma cópia deste documento ao participante. Informo que o estudo foi aprovado pelo CEP perante o qual o projeto foi apresentado e pela CONEP, quando pertinente. Comprometo-me a utilizar o material e os dados obtidos nesta pesquisa exclusivamente para as finalidades previstas neste documento ou conforme o consentimento dado pelo participante.

(Assinatura do pesquisador)

*Termo de Consentimento Livre Esclarecido apresentado, atendendo, conforme normas da Resolução 466/2012 de 12 de dezembro de 2012.