

Diagnóstico de Enterovírus em casos suspeitos de conjuntivites e síndromes do sistema nervoso central no Estado de São Paulo (2008-2009)

Samira Julien CALUX, Cibele Daniel RIBEIRO, Bráulio Caetano MACHADO, Denise Hage RUSSO, Adriana LUCHS, Maria do Carmo Sampaio Tavares TIMENETSKY, Rita de Cássia C. CARMONA

Núcleo de Doenças Entéricas, Centro de Virologia, Instituto Adolfo Lutz

O gênero *Enterovirus Humano* (EVH) pertence à família *Picornaviridae*, apresenta 65 sorotipos, divididos em 5 espécies: Poliovírus (PV) e Enterovírus Humano A, B, C e D. Os EVH são adquiridos por via fecal-oral e são causadores de um largo espectro de enfermidades que acometem adultos e crianças^{1, 2}. A maioria das infecções ocorre de forma assintomática, porém podem ocorrer manifestações clínicas que variam de formas brandas a graves, como paralisias e acometimento do Sistema Nervoso Central (SNC)². O período de incubação varia de 7 a 14 dias e as partículas virais podem ser excretadas nas fezes por várias semanas.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a positividade em casos suspeitos de EVH como agentes causadores de meningites, encefalites, meningoencefalites e conjuntivites.

Amostras clínicas de líquido cefalorraquidiano (LCR), fezes e secreção ocular (SOC) coletadas na fase aguda da doença e soros pareados coletados na fase aguda e de convalescença, foram encaminhadas ao

Laboratório de Vírus Entéricos (LVE) do Instituto Adolfo Lutz, para realização do diagnóstico laboratorial, no período de junho de 2008 a junho de 2009. Neste período foi recebido um total de 177 casos, dos quais, 149 foram analisados, sendo 30 casos suspeitos de encefalite, 24 de meningoencefalite, 72 de meningite viral e 23 de conjuntivite viral provenientes de municípios do Estado de São Paulo. O isolamento viral foi realizado em culturas de células RD, HEp-2, VERO e MRC5, onde a ocorrência de efeito citopático (ECP) sugere a presença de vírus. Os casos que apresentaram ECP no isolamento viral foram testados por imunofluorescência indireta (IFI) para identificação do gênero EVH e grupos echovírus, coxsackievírus B, enterovírus e poliovírus, totalizando 18 sorotipos. Os RNAs virais extraídos a partir de vírus isolados em culturas celulares foram submetidos à RT-PCR (Transcriptase Reversa - Reação em Cadeia pela Polimerase) para confirmação do gênero EVH. Nas amostras de fezes, a confirmação da infecção viral ocorreu após realização da pesquisa de anticorpos por

soroneutralização, com avaliação da soroconversão (detecção de anticorpos da classe IgG).

Os casos analisados com suspeita de encefalite apresentaram 6,7% de positividade para EVH; os casos de meningoencefalites

4,2% e meningites 11,1% (Tabela 1). Não houve positividade para o gênero EVH nos casos suspeitos de conjuntivite. Foram identificados nove echovírus em 11 EVH isolados dos casos de síndrome do SNC (Tabela 2).

Tabela 1. Porcentagem de EVH distribuída por suspeita clínica no Estado de São Paulo, junho de 2008 a junho de 2009

Suspeita clínica	Casos analisados	Isolamento positivo				Soroconversão	Positividade (%)
		LCR	Fezes	Fezes e LCR	SOC		
Meningite	72	6	1	1	NA	3	11,1 (8/72)
Encefalite	30	0	2	0	NA	2	6,7 (2/30)
Meningoencefalite	24	1	0	0	NA	0	4,2 (1/24)
Conjuntivite	23	NA	NA	NA	0	0	0 (0/23)
Total	149	7	3	1	0	5	7,4 (11/149)

NA: não se aplica

Tabela 2. Identificação de vírus isolados por IFI e RT-PCR em casos associados a síndromes do SNC

Suspeita clínica	Isolados	IFI			PCR Gênero EVH
		PAN EVH	Grupos	Sorotipos	
Meningite	8	8	echovírus	E4, E6, E11, E30	8
Meningoencefalite	1	1	echovírus	E30	1
Encefalite	2*	2	echovírus	negativo	2

*Negativo para os 4 grupos e 18 sorotipos testados por IFI (reagente Chemicon International – Light DiagnosticsTM)

Os resultados obtidos sugerem alta frequência de echovírus associados a síndromes do SNC no Estado de São Paulo e estão de acordo com resultados previamente publicados pelo LVE^{3, 4, 5}. É importante ressaltar que o envio de amostras biológicas para análise seguindo o protocolo proposto pelo LVE é fundamental para o diagnóstico dos casos suspeitos de EVH, uma vez que o processamento ou não das amostras depende do tipo de material biológico

enviado. O protocolo de Coleta para o Diagnóstico Laboratorial dos Enterovírus encontra-se disponível no site do Centro de Vigilância Epidemiológica do Estado de São Paulo⁶.

Todas as amostras de LCR e SOC são processadas independentemente de estarem acompanhadas por fezes ou amostras pareadas de soro. As amostras de fezes, por sua vez, dependem do envio de soros pareados, pois os EVH são

frequentemente encontrados no trato intestinal e sua presença nas fezes não constitui diagnóstico clínico, sendo necessária a confirmação da infecção por soroconversão. Essa situação encontra-se refletida em 28 não analisados, em que foram recebidas apenas amostras fecais, sem envio soros pareados.

Ações de vigilância e diagnóstico laboratorial são fundamentais e auxiliam no monitoramento da circulação dos EVH em nosso meio, determinando ações de saúde pública e controle de surtos.

REFERÊNCIAS

1. Santos AP, Russo DH, Machado BC, Luchs A, Timenetsky M do C, Carmona R de C. Echovírus 6 associado à doença exantemática. São Paulo, Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2008; 41(6):672-75.
2. Ventura KC, Hawkins H, Smith MB, Walker DH. Fatal neonatal Echovirus 6 infection: Autopsy case report and review of literature. *Mod Pathol*. 2001; 14(2):85-90.
3. Machado BC, Ferreira RS, Carmona, RCC, Timenetsky MCST, Aseptic meningitis by echovirus 30 in São Paulo State, Brazil. *Braz J Microbiol*. 2007; 38(1):97-103.
4. Luchs A, Russo DH, Cilli A, Costa FF, Morillo SG, Machado BC, Pellini ACG, Carmona RCC, Timenetsky MCST. Echovirus. 6 associated to aseptic meningitis outbreak, in São Joaquim da Barra, São Paulo, Brazil. *Braz J Microbiol*. 2008; 39(1):28-31.
5. Pellini ACG, Assi DB, Maladosso G, Cesar MLVS, Barbosa HA, Sidi MSCJO, Timenetsky MCST, Russo DH, Luchs A, Carmona RC. Investigação de Surto de meningite Viral – Município de São Joaquim da Barra (SP). *BEPA Boletim Epidemiológico Paulista*. Ano 1 Número 7. 2004. [acesso em 2010 mar 3]. Disponível em: http://www.cve.saude.sp.gov/agencia/bepa7_mv.htm.
6. Centro de Vigilância Epidemiológica. Protocolo de Coleta para o Diagnóstico Laboratorial dos Enterovírus [acesso em 2010 mar 29]. Disponível em [ftp //ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/resp/if_meni05.pdf](ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/resp/if_meni05.pdf).