

ENCEFALITES

PROTOCOLO DA SOCIEDADE DE INFECIOLOGIA PEDIÁTRICA DA SPP E SOCIEDADE PORTUGUESA DE NEUROPEDIATRIA

Âmbito: este protocolo procura estabelecer normas de actuação prática para a abordagem dos doentes com suspeita de encefalite aguda, após os 28 dias de idade corrigida.

DEFINIÇÃO

Encefalite: Inflamação do cérebro

Meningoencefalite: Inflamação do cérebro e meninges

O diagnóstico **definitivo** só pode ser estabelecido após observação microscópica do tecido cerebral pelo que na prática baseia-se na correlação de dados clínicos e dos exames complementares de diagnóstico: exame do LCR, EEG e RM encefálica.

Disfunção aguda do sistema nervoso central, com evidência imagiológica e/ou laboratorial de inflamação cerebral

As encefalites podem ser de dois tipos:

Primária - Doença do SNC com invasão directa e replicação do agente infeccioso no SNC; atinge predominantemente a substância cinzenta. É possível identificar o agente no SNC.

Pós-infecciosa ou parainfecciosa - Ocorre após ou associada a outra doença infecciosa ou vacinação, por uma resposta imunológica, que atinge predominantemente a substância branca, com alterações da mielina. Não se identifica o agente no SNC. Correspondem a cerca de 1/3 dos casos de encefalite aguda.

ETIOLOGIA

Uma lista não exaustiva dos agentes causais inclui:

Vírus: HVS1, HVS2, HV6, HV7, Varicela-zoster, EBV, CMV, Adenovirus, Enterovirus, Influenza, Parainfluenza, VSR, Sarampo, Parotidite. Arbovirus (*St Louis, West Nile*). Raiva, Parvovirus B19, Rotavirus

Bactérias: *Borrelia spp, Treponema pallidum,, Bartonella hensalea, Brucella...* Rickettsias, *Mycoplasma pneumoniae*

Outros: Protozoários (*Toxoplasma, Toxocara, Trypanosoma sp..*), Helmintas (*trichinella, shistosoma sp...*), Fungos (*Cândida, Cryptococcus*)

INCIDÊNCIA

Em Portugal a incidência é desconhecida. Os resultados do Estudo da UVP_SPP (Unidade de Vigilância Pediátrica da Sociedade Portuguesa de Pediatria) ainda não estão publicados.

Globalmente estão descritas incidências de 0,07-12,6/100000 habitantes, variável consoante:

1. **Região** – diferenças regionais nos EUA (encefalites a arbovírus), Europa Central (encefalite da carraça)
2. **Época do ano** – meses quentes (encefalite da carraça), monções (encefalite japonesa)
3. **Taxas de vacinação**
4. **Grupo etário (lactentes, crianças em idade escolar, adolescentes)** (ex: a encefalite por HSV2 é mais frequente no recém-nascido e lactente e a encefalite a *Mycoplasma pneumoniae* e a encefalite posinfecciosa na criança mais velha)
5. **Sexo** (ex: a encefalite da parotidite no sexo masculino e a encefalite por *Mycoplasma pneumoniae* no sexo feminino)
6. **Estadio imunitário**

Mecanismo Directo

1. Via hematogénica (*Herpes simplex*, Arbovírus) – infecção do endotélio dos pequenos vasos, leucócitos infectados, passagem pelos plexos coroídeos.
2. Difusão centrípeta a partir de nervos periféricos (Raiva).
3. Via olfactiva (*Herpes simplex*, Poliomielite e Arbovírus).

Mecanismo Indirecto

1. Imunológico: a hipótese autoimune pressupõe que o hospedeiro, por um mecanismo predominantemente mediado por células T activadas, reconhece determinantes antigénicos da mielina (*múltiplos agentes virais e bacterianos*).

CLÍNICA

A História Clínica e o Exame Objectivo são fundamentais na abordagem do doente com encefalite, podendo fornecer pistas sobre o agente etiológico.

Antecedentes pessoais

Doenças crónicas, imunodeficiência (ex agamaglobulinémia: Enterovirus, *Mycoplasma pneumoniae*), imunossupressão (ex: V. varicela-zoster, CMV, Herpes 6, HIV, vírus JC, *Listeria monocytogenes*, *Mycobacterium tuberculosis*, *C. neoformans*, *Coccidioides* spp, *Histoplasma capsulatum*, *Toxoplasma gondii*, Enterovirus, *Mycoplasma pneumoniae*)

Epidemiologia

- Doença viral ou vacinações nas quatro semanas precedentes
- Viagens recentes, piqueniques
- Contacto com animais e insectos (carraças, mosquitos, etc) (Quadro 1)
- Contacto com pessoas doentes
- Estação do ano (ex: encefalite a enterovírus: no fim do Verão e início do Outono)

Dado Epidemiológico	Agentes possíveis
Contacto com animais:	
• Gatos	<i>Toxoplasma gondii, Coxiella burnetti, Bartonella henselae</i>
• Cães	Raiva
• Roedores	<i>Bartonella quintana</i> , encefalite da carraça
• Ovelhas e cabras	<i>Coxiella burnetti</i>
Alimentos	
• Carne mal confeccionada	<i>Toxoplasma gondii</i>
• Leite não pasteurizado	<i>Listeria monocytogenes, Coxiella burnetti, Borrelia burgdorferii</i>
Actividades recreativas	
• Campismo/actividades outdoor	Todas as doenças transmitidas por mosquitos
• Natação (águas fluviais)	Enterovirus, <i>Naegleria fowleri</i>
• Contacto sexual	HIV; <i>Treponema pallidum</i>

Tabela I – Agentes etiológicos possíveis de acordo com a Epidemiologia (Adaptado de *IDSA Guidelines for Management of Encephalitis*)

História Clínica

1. Pródromos - Investigar sintomatologia de outros órgãos e sintomas prévios ao atingimento neurológico: exantema, *tache noir*, infecção respiratória, por exemplo.
2. Disfunção do SNC - Para além de sintomas gerais como a febre, os vómitos e as cefaleias, ocorrem sintomas de disfunção do SNC:
 - Alterações do estado de consciência,
 - Alterações do comportamento e/ou da personalidade,
 - Manifestações neurológicas focais (hemiparésia, hemianópsia...),

- Manifestações de disfunção cognitiva (alterações da linguagem, alterações da memória...),
 - Convulsões.
3. Evolução - O início pode ser agudo ou gradual, e o quadro clínico pode ter uma evolução flutuante. A **doença** também **pode ser bifásica** (mais frequente nas encefalites posinfeciosas).

Exame Objectivo - Exame neurológico completo

- Estado de consciência (Escala de Coma de Glasgow)
- Excluir HIC (em caso de suspeita de HIC realizar TC antes de efectuar punção lombar, mesmo se fundoscopia normal).

Exame objectivo - Exame exaustivo, procurando identificar alterações que possam orientar para o agente etiológico:

- Exantema
- Sintomas respiratórios
- Alterações parotídeas

Clínica	Agentes possíveis
Hepatite	<i>Coxiella burnetti</i>
Adenopatias	HIV, EBV, CMV; sarampo, rubéola, <i>T. pallidum</i> , <i>Bartonella</i> spp, <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , <i>Toxoplasma gondii</i>
Parotidite	Sarampo
Rash cutâneo	Varicela-zoster, herpes 6, rubéola, enterovirus, HIV, <i>Rickettsia</i> spp, <i>Mycoplasma pneumoniae</i> , <i>Borrelia burgdorferii</i> , <i>Treponema pallidum</i> , <i>Ehrlichia chaffeensis</i>
Sintomas respiratórios	Influenza, adenovirus, <i>Mycoplasma pneumoniae</i> , <i>Coxiella burnetti</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
Retinite	CMV, <i>Bartonella hensalae</i> , <i>Treponema pallidum</i>
Tubérculos coroideus	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
Sintomas neurológicos	
• Ataxia cerebelosa	Varicela-zoster, EBV, sarampo
• Pares cranianos	HSV, EBV, <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , <i>Treponema pallidum</i> , <i>Borrelia burgdorferii</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i>
• Demência	HIV, sarampo (panencefalite esclerosante), <i>Treponema pallidum</i>
• Sind. Parkinsónico	<i>Toxoplasma gondii</i>
• Polio-like	Enterovirus, polivirus, encefalite da carraça
• Rombencefalite	HSV, enterovirus 71, <i>Listeria monocytogenes</i>

Tabela II – Agentes etiológicos possíveis de acordo com os dados clínicos (Adaptado de *IDSIA Guidelines for Management of Encephalitis*)

DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Outras infecções do SNC: meningite, abscessos cerebrais

Doenças cérebro-vasculares: hemorragia subaracnoideia ou parenquimatosa (por ruptura de aneurisma ou malformação arteriovenosa)

Encefalopatias metabólicas

Intoxicações

Doenças inflamatórias do SNC: doenças desmielinizantes (esclerose múltipla, encefalomielite aguda disseminada)

Encefalites autoimunes (anti NMDAR, anti VGKC, antiGAD, anti GluR, encefalopatia da tiroidite de Hashimoto, neurolupus)

Encefalopatias para infecciosas (síndrome de Reye, síndrome hemolítico-urémico, síndrome de choque tóxico, doença de Kawasaki)

Encefalopatia aguda associada com vasculites

Enxaqueca aguda confusional

EXAMES COMPLEMENTARES DE DIAGNÓSTICO

1. PUNÇÃO LOMBAR

Punção Lombar com medição da pressão de abertura

Exames a pedir: exame citoquímico, exame directo e cultural, pesquisa de antigénios capsulares (para outros exames ver diagnóstico etiológico)

O exame citoquímico do LCR nas encefalites apresenta-se habitualmente com:

- Células: 50 – 200 (pode variar entre 0 - >1000)
- Predomínio: linfócitos (inicialmente podem existir polimorfonucleares)
- Proteínas: normal ou elevadas (<200mg/dl)
- Glicorraquia: normal

Atenção: o exame citoquímico do LCR pode ser normal

Excluir sempre meningite bacteriana pedindo antigénios capsulares, gram e exame cultural

Se suspeita de encefalite imunologicamente mediada, realizar imunoelectroforese das proteínas do LCR e guardar um tubo congelado, para estudo dos anticorpos, seleccionados de acordo com a clínica apresentada.

2. OUTROS EXAMES COMPLEMENTARES

- Hemograma, PCR, função hepática e renal, ionograma, calcémia
- Gasimetria (se a clínica o justificar)
- Hemocultura

3. EEG

O EEG é um marcador precoce e sensível de disfunção cerebral. No entanto é pouco específico, existindo habitualmente uma **lentificação focal ou difusa**. Durante a fase aguda pode existir uma dissociação clínica-EEG.

A excepção é a encefalite herpética, em que cerca de $\frac{3}{4}$ dos doentes apresentam alterações típicas no EEG, particularmente em EEGs seriados efectuados entre o 2º e o 10º dia: anomalias lentas temporais e actividade periódica.

O EEG deverá ser feito o mais precocemente possível, sem atrasar o início da terapêutica. Poderá ser repetido caso a situação clínica o justifique: persistência de alteração do estado de consciência, défices neurológicos de novo ou convulsões.

A gravidade das alterações pode correlacionar-se com a deterioração do estado de consciência. As alterações no EEG resolvem mais lentamente que a sintomatologia.

4. TAC-CE (Se não houver disponibilidade para RM-CE)

Exame pouco sensível e pouco específico na encefalite. É útil na exclusão de diagnósticos alternativos e na avaliação pré-punção lombar, se suspeita clínica de HIC.

5. RM-CE

É o exame imagiológico mais sensível e mais específico. Protocolo mínimo: sequências T1, T2 spin-echo, FLAIR e gradient-echo.

Atenção: A RM normal não exclui o diagnóstico

DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO

O diagnóstico etiológico é desconhecido numa percentagem importante de casos!

Resulta da História clínica, EEG e Imagiologia MAS habitualmente são necessários outros exames para tentar identificar a etiologia.

Actualmente há demasiados agentes que podem causar encefalite para que todos os doentes tenham uma avaliação exhaustiva. Na prática o que fazer?

1 - SE NÃO VIAJOU PARA FORA DE PORTUGAL

Avaliar pela história clínica (ex: varicela, sarampo, parotidite), altura do ano (Ex: influenza) e região (Algarve e Arbovirus) os agentes mais prováveis.

Requisitar no LCR

Realizar colheitas de LCR para 4 tubos secos e 1 tubo de meio chocolate para:

- Exame citoquímico, gram, antigenios capsulares e exame microbiológico

- PCR para painel de *Herpes vírus* (inclui HVS1, HVS2, Varicela, CMV; EBV; HV6; HV7)
- PCR Enterovirus
- PCR para *Mycoplasma pneumoniae*
- PCR para *Borrelia*
- Imunoelectroforese (enviar com tubo seco com 2 ml de sangue)

Dependendo da clínica e estação do ano, considerar PCR para outros vírus (adenovirus, influenza) ou com a historia epidemiológica e clínica considerar situações mais raras e pedir exame parasitológico e micológico. Guardar tubo com 1 ml de liquor no laboratório para eventuais estudos posteriores

NOTAS

1. A PCR substituiu as técnicas de cultura viral como *gold-standard* para o diagnóstico. A sensibilidade decresce muito a partir da 2ª semana, pelo que devem ser pedidas precocemente.
2. A imunoelectroforese contribui no diagnóstico diferencial com as patologias inflamatórias não infecciosas, e a documentação de produção intratecal de anticorpos específicos (níveis Soro/LCR ≤ 20) pode contribuir para o diagnóstico.

Outros exames para investigação etiológica

Os exames sanguíneos e de outros materiais biológicos podem sugerir o agente etiológico, mas a sua interpretação deve ser cautelosa, não identificando necessariamente um agente como causador da encefalite.

Colheita: 2 hemoculturas, 2 tubos secos (serologias); se possível guardar um tubo para estudos futuros.

- Hemoculturas
- Serologias de acordo com a clínica: CMV, EBV, *Mycoplasma pneumoniae*, *Borrelia burgdorferii*, outros agentes
- IFI no sangue para *Chlamydia trachomatis* (de acordo com a clínica)
- IFI nas secreções respiratórias para vírus respiratórios (de acordo com a clínica) ou serologias séricas se doença com mais de uma semana de evolução
- PCR para enterovirus nas fezes com eventual cultura viral

Nos casos graves em que não seja possível o diagnóstico etiológico, a punção lombar deverá ser repetida após 3 a 7 dias, e as serologias deverão ser repetidas em 2 a 4 semanas (viragem, ou subida de títulos).

2 - SE VIAJOU PARA FORA DE PORTUGAL

Proceder como acima mas relativamente à região, consultar Infeciologista

ENCEFALITES - ASPECTOS PARTICULARES

1 - Encefalite Herpética (HSV1, HSV2)

10 – 20% das causas identificadas nos USA. Incidência: 2:1000000 casos/ano

- **HSV2** – Mais frequente no recém nascido
Clínica: instabilidade térmica, convulsões, letargia, irritabilidade
LCR:células<100, com eritrócitos. PCR Sensibilidade 75-100%; Especificidade 71-100%. Cultura 40%
- **HSV1** - Criança mais velha
Clínica: febre, sinais focais, convulsões
LCR: células 10-500, pode ser hemorrágico. PCR Sensibilidade 94%, Especificidade 98%. Cultura 2%

EEG - Padrão típico em 80% dos casos, quando são feitos EEGs seriados, em particular entre o 2º e o 10º dias de doença, lentificação focal temporal e descargas periódicas lateralizadas (1-4 seg.).

RM-CE - Lesões com hipersinal T2 nos lobos temporais e em outras estruturas do sistema límbico (excepto no primeiro ano de vida, em que as lesões são mais disseminadas)

2 - Outros Vírus Herpes

- **EBV** – “Síndrome de Alice no País das Maravilhas”. Rara.
A serologia pode ser negativa e a pleocitose pode persistir meses.
- **CMV** – mais frequente em imunodeficiências

- **Varicela** – A etiologia permanece controversa desconhecendo-se se existe um mecanismo citopático directo com vasculite ou imunológico?
- **HV6 e HV7** – Ainda pouco descritas na idade pediátrica

3 - Encefalite *Mycoplasma pneumoniae*

O *Mycoplasma pneumoniae* é uma das maiores causas de encefalite correspondendo a 3 - 5% das causas identificadas. Esta etiologia é habitualmente subvalorizada

Idade média: criança mais velha e adolescentes

Clínica inespecífica: **o quadro respiratório frequentemente está ausente**

LCR: proteínas ↑ ou normal. A PCR no LCR para *Mycoplasma pneumoniae* raramente é positiva e o diagnóstico é realizado por serologias no sangue

RM-CE alterada 49%. Coma 40%. Mortalidade 4%

Sequelas: 20 – 60%

4 - Encefalite Enterovírus (Coxsackie, Echovirus, Poliovirus)

10 - 20% das causas identificadas

LCR: proteínas ↑, pleocitose ligeira ou normal. PCR: sensibilidade 86-100%; especificidade 92 – 100%. Identificação do serótipo por cultura viral em amostra de fezes quando a clínica o justificar.

Imagiologia: normal ou pode haver lesões focais ou difusas ou imagem típica em anel.

Prognóstico: habitualmente bom excepto na hipogamaglobulinémia que cursa com meningoencefalite crónica.

5 - Encefalite Influenza

Influenza A - No Japão 37% mortalidade; USA 4 – 7%

Clínica: surge habitualmente nas primeiras 48 horas de gripe

LCR: normal ou pleocitose ligeira. PCR e Cultura viral/LCR: raramente positivo

Identificação do vírus: cultura/antígenos nasofaringe

EEG: padrão lento, alterações focais, descargas periódicas.

Imagiologia: normal ou lesões multifocais corticais e subcorticais; No Japão com a designação de encefalopatia necrosante subaguda foram descritas lesões talâmicas bilaterais.

6 – Encefalite por *Bartonella henselae* (rara)

Ocorre em 5% das infecções a *Bartonella*. É rara em imunocompetentes

Clínica: 2 – 3 semanas após adenopatia (pode variar de dias a meses) mas não é obrigatório existir adenopatia.

Cefaleias e convulsões em 50%; nervos de pares cranianos e nervos periféricos podem estar envolvidos

PCR e Cultura viral/LCR: raramente positivo

IFI para *Bartonella* no sangue

7 – Encefalite por *Rickettsia conorii* (rara)

História epidemiológica suspeita

Ausência de *tache-noire* e exantema

Convulsões, coma, parésia espástica...

LCR: normal. PCR LCR e IFI *Rickettsia* no sangue

TERAPÊUTICA

Todas as crianças com encefalite devem estar internadas em Unidades Hospitalares com fácil acesso a Cuidados Intensivos.

Terapêutica de suporte

1) Monitorização clínica:

- Frequência cardíaca, respiratória, saturação de oxigénio e tensão arterial
- Estado de consciência – Escala de Coma de Glasgow
- Balanço hídrico
- Vigilância de Hipertensão Intra-craniana (hipertensão arterial, bradicardia, polipneia/apneia e anisocória)

2) Dieta zero

3) Controlo das convulsões

- Diazepam rectal (0.5mg/kg, máx 10mg) ou Diazepam e.v. 0.15mg/Kg

- Fenitoína – impregnação: 20mg/kg em 20 minutos, seguido de dose de manutenção: 5mg/kg/dia

Terapêutica específica

1 - ENCEFALITE PRIMÁRIA

Iniciar o mais precocemente possível a terapêutica empírica. A terapêutica empírica visa cobrir os principais agentes tratáveis.

Deverá incluir aciclovir (vírus herpes) e ceftriaxone (principais agentes bacterianos). Caso a clínica assim o justifique, ponderar o uso de ciprofloxacina (*Mycoplasma pneumoniae*)

1. Aciclovir: 1500mg/m²/dia (3 tomas)
2. Ceftriaxone: 100mg/Kg/dia (1 toma)
3. Ciprofloxacina: 20mg/Kg/dia (2 tomas)

A suspensão de cada fármaco deve ser feita: **só se ocorrer evolução favorável!**

Se for identificado um agente causal ponderar início de terapêutica específica (Quadro III)

Agente	Fármaco	Nível de evidência
Sem agente isolado	Aciclovir	C – IV
Herpes simplex	Aciclovir	A – I
Varicela	Aciclovir	B – II
Citomegalovirus	Ganciclovir e Foscarnet	C – III
Vírus Ebstein-Barr	Aciclovir	Não recomendado
Enterovirus	Pleconaril	C – III
Influenza	Oseltamivir	C – III
Adenovirus	Cidofovir	C – III
Herpes 6 (imunodef.)	Ganciclovir/foscarnet	B – III
Sarampo	Ribavarina	C – III
HIV	Esquema HAART	A – II
<i>Listeria monocytogenes</i>	Ampicilina e gentamicina	A – III
<i>Borrelia burgdorferi</i>	Ceftriaxone	B – II
<i>Bartonella spp</i>	Doxicilina ou Azitromicina ± Rifampicina	C – III
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Ciprofloxacina ou Azitromicina	C – III
Rickettsioses	Doxicilina	A – II
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Antibacilares ± corticóides	A – III
<i>Toxoplasma gondii</i>	Pirimetamina + sulfadiazina ou clindamicina	A – I

Tabela III – Terapêutica específica para vários agentes etiológicos de encefalite (Adaptado de EFNS Task force on viral encephalitis e IDSA Guidelines for Management of Encephalitis)

Na encefalite herpética deve ser ponderado o uso precoce de alfa interferão e realização posterior de estudo genético.

2 - ENCEFALOMIELITE AGUDA DISSEMINADA (ADEM) (PÓS-INFECCIOSA)

Pulsos metilprednisolona, 30mg/Kg/dia (máx 1g/Kg/dia), ev, 3 a 5 dias; seguido de Prednisolona (1mg/Kg/d) via oral, em esquema de desmame lento em 4-6 semanas. (desmame muito precoce associa-se a maior risco de recidiva)

Considerar gama-globulina e.v (0.4g/Kg/dia, 5 dias) ou plasmaferese nos doentes graves em que não há resposta favorável à metilprednisolona.

PROGNÓSTICO

Factores de mau prognóstico: recém nascido, lactente, encefalite por HSV1, HSV2, *Mycoplasma pneumoniae*, Glasgow < 6, atraso no início do tratamento, ausência de melhoria do EEG

PREVENÇÃO

O Programa Nacional de Vacinação inclui vacinas para vários agentes etiológicos de Encefalite (sarampo, parotidite). Ponderar cobertura vacinal adicional na criança viajante:

1. Encefalite japonesa – viagens para o extremo Oriente e Timor
2. Encefalite da Carraça – viagens para a Europa Central

SEGUIMENTO

Todas as crianças com encefalite primária deverão ser seguidas em consultas hospitalares de Infeciologia Pediátrica para identificação precoce e orientação das possíveis sequelas. As crianças com encefalite imunomediada (ADEM, encefalite por Anticorpos específicos ex: anti NMDAR, anti VGKC, anti GlyR) devem ser orientadas para Consulta de Neuropediatria.

Caso clinicamente se justifique poderão ser encaminhadas para outras consultas: Medicina Física e Reabilitação, Desenvolvimento, Oftalmologia, ORL.

BIBLIOGRAFIA

1. Steiner I, Budka H, Chaudhuri A, et al. EFNS Task Force Viral encephalitis: a review of diagnostic methods and guidelines. *Eur J Neurol* 2005,12:331-43
2. Tunkel AR, Glaser CA, Bloch KC, et al. The Management of encephalitis: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Inf Dis* 2008,47:303-27
3. Granerod J, Cunningham R, Zuckerman M et al. Causality in acute encephalitis: defining etiologies. *Epidemiol Infect* 2010,138:783-800.
4. Crawford JR. Advances in Pediatric Neurovirology. *Cuu Neurol Neurosci Rep* 2010,10:147-54
5. Sonnevile R, Klein I, Broucker T, et al. Post-infectious encephalitis in adults: Diagnosis and management. *J Inf* 2009;58:321-8

ANEXOS

ANÁLISES DISPONIBILIZADAS PELO CEVDI / INSA (AGENTES POTENCIALMENTE RESPONSÁVEIS POR ENCEFALITES)

Arbovírus		
Dengue	IFA	Soro, liquor
	ELISA	Soro, liquor
Dhori	IFA	Soro, liquor
Febre Amarela	IFA	Soro, liquor
TBE	IFA	Soro, liquor
West Nile	IFA	Soro, liquor
	ELISA	Soro, liquor
Palma	IFA	Soro, liquor
Thogoto	IFA	Soro, liquor
Vírus transmitidos por roedores		
Hantavirus	IFA	Soro, liquor
Vírus da coriomeningite linfocitária	IFA	Soro, liquor

Proteobactérias		
<i>Coxiella burnetii</i>	Immunofluorescência Indirecta (IFA)	Soro, plasma e LCR
	PCR (a disponibilizar a partir...)	Sangue total com EDTA
Estirpes do complexo <i>Rickettsia conorii</i>	IFA	Soro, plasma e LCR
	PCR	Sangue total com EDTA, biópsia
	Isolamento em células Vero E6	Sangue total com heparina
<i>Bartonella spp</i>	IFA	Soro, plasma e LCR
	PCR	Sangue total com EDTA, biópsia
Eubactérias		
<i>Borrelia burgdorferi</i>	IFA	Soro, plasma, LCR e líquido sinovial
	ELISA	Soro, plasma, LCR e líquido sinovial
	IMMUNOBLOT	Soro, plasma, LCR e líquido sinovial
	PCR	Sangue total com EDTA, LCR, líquido sinovial e biópsia
	Isolamento do agente em meio axénico BSKII	Sangue total, LCR, líquido sinovial e biópsia

NORMAS DE COLHEITA (INSA)

Amostra	Quantidade	Tubo	Análise
Sangue total	5 ml	Tubo com heparina	Serologia e isolamento
	5 ml	Tubo com EDTA	Serologia e PCR
Soro e plasma	3-5ml	Tubo seco	Serologia
LCR e líquido sinovial	1-3ml	Tubo seco	Serologia e PCR
Biópsia	1-2g	Tubo seco	Isolamento e PCR

Serologia (IFA, ELISA, BLOT): enviar em condições de refrigeração

Biologia molecular (PCR) e Exame cultural (Isolamento):

- Esterilidade na colheita da amostra;
- Biopsias colocadas em tubo seco;
- Enviadas para o laboratório nas 24h posteriores em condições de refrigeração