

DIAGNÓSTICOS ALTERNATIVOS EM PACIENTES COM SUSPEITA DE ENCEFALITE POR HERPES SIMPLEX E NEGATIVOS À REAÇÃO EM CADEIA POR POLIMERASE (PCR)

RENAN B. DOMINGUES*, CLÁUDIO S. PANNUTI**,
MARIA CRISTINA D. FINK**, ANA MARIA C. TSANACLIS***

RESUMO - O objetivo do presente estudo é analisar os diagnósticos encontrados em uma série de pacientes cuja suspeita clínica inicial era de encefalite herpética (HSE), mas que tiveram este diagnóstico afastado através de resultado negativo à reação em cadeia por polimerase (PCR) para detecção do Herpes simples (HSV) em líquido cefalorraqueano (LCR). Em 43 dos 61 pacientes com suspeita de HSE estudados (70,5%) o resultado à PCR foi negativo. O diagnóstico diferencial foi elucidado em 41,9% dos 43 casos em que a PCR para HSV resultou negativa. Nestes, as patologias diagnosticadas foram infecções virais (2 casos-11,1%) e não virais (5 casos-27,2%), doenças vasculares (4 casos-22,2%), desmielinizantes (3 casos-16,7%), distúrbios tóxico-metabólicos (3 casos-16,7%) e tumor do sistema nervoso central (1 caso-5,6%). A pouca especificidade do quadro clínico e a disponibilidade de tratamento eficaz e seguro para a HSE justificam a grande quantidade de casos tratados com aciclovir, mas cujo diagnóstico de encefalite pelo HSV não foi confirmado. A utilização da PCR no LCR contribuiu para melhor avaliação etiológica dos quadros de encefalite aguda aqui estudados.

PALAVRAS-CHAVE: encefalite herpética, reação em cadeia por polimerase (PCR), diagnóstico diferencial.

Alternative diagnoses among suspected Herpes simplex encephalitis patients with negative polymerase chain reaction (PCR)

ABSTRACT - The aim of this study was to analyze the diagnosis found in a series of patients in which the diagnosis of Herpes simplex encephalitis (HSE) was ruled out by a negative polymerase chain reaction (PCR) result for HSV DNA in cerebrospinal fluid (CSF) samples. Forty three out of 61 HSE suspected patients had negative PCR. An alternative diagnosis was established in 41.9% of these patients. These patients were diagnosed as having viral (2 cases-11.1%) and non viral (5 cases-27.2%) CNS infections, vascular (4 cases-22.2%) and demyelinating diseases (3 cases-16.7%), metabolic disturbances (3 cases-16.7%), and CNS tumor (1 case-5.6%). The non specific clinical presentation of this disease and the availability of an efficient treatment for HSE explain why several patients with other diseases were initially treated with acyclovir. The early use of PCR in CSF was considered essential for the evaluation of the acute encephalitis cases in this study.

KEY WORDS: Herpes simplex encephalitis, polymerase chain reaction (PCR), differential diagnosis.

A encefalite pelo vírus Herpes simples (HSV) é doença grave, com altos índices de morbidade e letalidade¹. O tratamento antiviral com o aciclovir melhora significativamente o prognóstico desta doença, particularmente quando ele é administrado precocemente². Assim, o diagnóstico precoce desta patologia é fundamental. Entretanto, diversas patologias podem ser confundidas com a encefalite

*Departamento de Patologia, CCSV/EMESCAM, ES, Departamento de Clínica Médica, Universidade Federal do Espírito Santo; **Departamento de Moléstias Infecciosas e Parasitárias, Laboratório de Virologia, Instituto de Medicina Tropical da Universidade de São Paulo (Laboratórios de Investigação Médica); ***Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Estudo financiado pela FAPESP (94/1776-0) e CNPq (processo 201330/95-4). Aceite: 7-agosto-2000.

pelo HSV, principalmente durante a fase inicial de doença. Whitley e col., analisando prospectivamente 432 pacientes com suspeita clínica de encefalite herpética (HSE), confirmaram este diagnóstico em apenas 45% destes casos. Os demais apresentaram outras doenças, tais como encefalites por outros vírus, abscessos bacterianos e fúngicos, neurotuberculose, tumores, doenças vasculares, etc.; neste estudo, o método diagnóstico empregado foi a biópsia cerebral³. Da época de publicação deste trabalho até os dias de hoje, uma série de novos recursos, particularmente a reação em cadeia por polimerase (PCR) no líquido cefalorraqueano (LCR) e a ressonância magnética de encéfalo (RM), substituíram o uso sistemático da biópsia cerebral quando da suspeita de HSE⁴⁻¹².

O objetivo do presente estudo é analisar uma série de pacientes com suspeita clínica de encefalite herpética. Todos apresentaram patologias agudas do sistema nervoso central (SNC), com apresentação clínica compatível com o diagnóstico de HSE e receberam aciclovir endovenoso. Todos os pacientes tiveram amostras de LCR submetidas à PCR para detecção do genoma do vírus HSV, sendo este o método usado para confirmação da etiologia herpética. Nos casos em que a última resultou negativa, os diagnósticos diferenciais estabelecidos foram analisados.

MÉTODO

Pacientes

Sessenta e um pacientes foram incluídos neste estudo. Estes pacientes foram admitidos em seis instituições da cidade de São Paulo e Campinas: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP (Divisões de Neurologia e de Doenças Infecciosas e Parasitárias), Hospital do Servidor Público Estadual-SP (Setor de Moléstias Infecciosas), Hospital Emílio Ribas-SP, Hospital Heliópolis-SP (Setor de Neurologia), Hospital da Universidade Federal de São Paulo (Setor de Infectologia Pediátrica), Universidade Estadual de Campinas (Departamento de Neurologia). Os critérios para inclusão neste estudo foram a suspeita clínica de HSE e a introdução do aciclovir endovenoso, tendo sido consideradas as decisões tomadas nas respectivas unidades de atendimento.

Avaliação clínica e confirmação diagnóstica

Os dados coletados incluíram idade, sexo, história clínica (febre, convulsões, alteração de personalidade, sintomas de comprometimento de outros sistemas) e de exame neurológico (nível de consciência, orientação, linguagem, avaliação motora, sensitiva e de nervos cranianos). Os pacientes foram submetidos a exames complementares, sendo analisados aqui os dados do LCR (contagem de células/mm³ e proteinorraquia), eletrencefalograma (EEG) convencional e tomografia computadorizada de crânio. Estes dois últimos foram classificados como: normais, difusamente alterados ou com anormalidades focais.

Reação em cadeia por polimerase (PCR)

A técnica de PCR utilizada para o diagnóstico de HSE foi a mesma descrita por Lakeman e Whitley e modificada por Domingues e col.¹³. Resumidamente: As amostras de LCR foram fervidas por 10 minutos e centrifugadas por 5 minutos a 4°C. Amostras que apresentaram padrão de inibição (não amplificação do controle interno), foram submetidas a extração de DNA por método de "spin column" (QIAGEN Inc. Chatsworth, CA, EUA). As amostras foram inicialmente testadas no Laboratório de Virologia Clínica do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo (IMT-SP), e retestadas no Laboratório de Virologia do Departamento de Pediatria da Universidade do Alabama em Birmingham (UAB). Duas diferentes técnicas de PCR foram usadas para amplificação e identificação de segmentos dos genes da glicoproteína B e DNA polimerase. A primeira para amplificação de uma região de 179-bp do gene da DNA polimerase e a outra para amplificação uma região de 148-bp do gene da glicoproteína B. As concentrações utilizadas foram: tampão 10X (50 mM KCl, 10 mM Tris), *Taq* polimerase 2,5 unidades/reacção, MgCl₂ 1,5 mM (2,5 mM para amplificação do gene da glicoproteína B), dNTPs: dATP, dCTP, dGTP e dUTP 80µM cada, dUTP 160 µM, primers 1 µM de cada, UNG 0,04 unidade/reacção e LCR 10 µL. Os ciclos utilizados foram os seguintes: 1 ciclo: 50°C-2 minutos, 1 ciclo: 95°C-5 minutos, 40 ciclos de 95°C, 62°C e 72°C, 45 segundos em cada etapa, com um incremento final de 3 segundos a cada etapa de 72°C. A revelação dos produtos marcados com brometo de etídeo foi realizada por eletroforese em gel de agarose. Os produtos da DNA polimerase foram posteriormente submetidos um método de restrição enzimática, utilizando-se a enzima de restrição *HhaI*, permitindo a diferenciação dos produtos de HSV-1 e HSV-2, que apresentam diferentes sítios internos de restrição com esta enzima. Os produtos de amplificação dos oligonucleotídeos da glicoproteína B foram confirmados por hibridização em sistema de detecção em fase sólida. Várias medidas foram utilizadas para prevenção de contaminação: a) preparo de reagentes e amostras em fluxo

laminar, b) utilização de ambientes distintos para preparação das misturas de reagentes, aplicação das amostras e revelação das reações, c) utilização dos controles negativos, d) utilização de uracil N-glicosilase (UNG).

As amostras de LCR submetidas à PCR foram colhidas à admissão do paciente, ou nos primeiros dias subsequentes (máximo de três dias após a introdução do aciclovir). O diagnóstico de HSE foi estabelecido com base na detecção do DNA do HSV em LCR (Grupo 1). As informações clínicas obtidas dos pacientes com diagnóstico de HSE foram comparadas às obtidas dos pacientes com PCR negativa.

Diagnóstico alternativo

Nos casos em que o diagnóstico de HSE foi descartado através de resultado negativo da PCR, os diagnósticos diferenciais foram anotados. Este grupo de pacientes foi rotulado como tendo diagnóstico alternativo estabelecido (Grupo 2). Os métodos diagnósticos (clínica, neuroimagem, LCR, imunodiagnóstico ou biópsia cerebral) para o estabelecimento destes diagnósticos foram registrados. Os casos nos quais os dados clínicos, laboratoriais e radiológicos não definiram a etiologia foram classificados como tendo diagnóstico indeterminado (Grupo 3). Os pacientes com PCR negativa tiveram seus dados clínicos, neurodiagnósticos e de evolução analisados, tendo sido comparadas as alterações encontradas nos pacientes dos grupos 2 e 3.

Análise dos dados

Foram comparados os dados clínicos, de evolução e neurodiagnósticos entre: 1) os pacientes com HSE e os demais e 2) os casos com diagnóstico alternativo estabelecido e os de diagnóstico indeterminado. Todas as comparações estatísticas foram realizadas pelo teste de Wilcoxon ou teste bi-caudal de Fisher e o nível de significância estabelecido em 0,05.

RESULTADOS

A idade média dos pacientes foi $32,8 \pm 21,6$ anos. Dos 61 pacientes analisados, 35 (57,4%) eram do sexo feminino. O diagnóstico de encefalite herpética foi confirmado em 18/61 (29,5%) pacientes através de resultado positivo pela PCR para detecção do genoma do HSV.

Febre foi encontrada em 51 pacientes, 17 (94,4%) com HSE e 34 (79%) dos demais ($p > 0,1$). Trinta e quatro pacientes apresentaram rebaixamento do nível de consciência, 13 deles (72,2%) com PCR positiva e 21 (48,8%) com PCR negativa ($p > 0,05$). Convulsões foram relatadas em 31 pacientes: 8/18 (44,4%) dos com PCR positiva e 23/43 (53,5%) dos demais ($p > 0,5$). Em trinta pacientes foram encontradas alterações focais ao exame neurológico, 11 (61,1%) com PCR positiva e 19/43 (44,2%) dos com PCR negativa ($p > 0,1$).

Os achados tomográficos foram significativamente diferentes entre os pacientes com e sem HSE ($p < 0,05$). Este exame foi realizado em 59 pacientes, sendo que dos pacientes com diagnóstico de HSE, 5/18 (27,8%) tiveram TCC normal, 1/18 (5,5%) teve alteração difusa e 12/18 (66,7%) tiveram lesão focal à TCC. Dos casos com PCR negativa, 20/41 (48,8%) tiveram TCC normal, 11/41 (26,8%) com alterações difusas e 10/41 (24,4%) com lesões focais à TCC.

O EEG também mostrou diferenças significativas entre os pacientes com e sem HSE ($p < 0,05$). Quarenta e seis pacientes foram submetidos ao EEG convencional. Os pacientes com HSE apresentaram EEG normal - 1/12 (8,3%), com anormalidades difusas - 2/12 (16,7%) e anormalidades focais - 9/12 (75%). Dos pacientes com PCR negativa, 11/34 (32,35%) tiveram EEG normal, 11 (32,35%) tiveram EEG com alterações difusas e 12 (35,3%) apresentaram alterações focais ao EEG.

Os dados do LCR não foram significativamente diferentes entre os pacientes com PCR positiva e PCR negativa. Entre os casos de HSE a celularidade foi $248,12 \pm 228$ células/mm³ e a proteinorraquia $77,13 \pm 58$ mg/dL. A celularidade e a proteinorraquia dos pacientes com PCR negativa foram, respectivamente, $256,9 \pm 673,8$ células/mm³ e $69 \pm 69,95$ mg/dL.

Dos 43 pacientes em que a hipótese de HSE foi excluída, 18 (41,9%) tiveram diagnóstico alternativo estabelecido (grupo 2). A Tabela 1 mostra os diagnósticos encontrados, os métodos através dos quais foram firmados e a evolução clínica destes pacientes. Na Tabela 2 são mostrados os dados clínicos e na Tabela 3 os dados neurodiagnósticos destes pacientes. As informações referentes aos pacientes com diagnóstico indeterminado são apresentadas na Tabela 4.

Tabela 1. Pacientes do grupo 2: diagnósticos diferenciais estabelecidos, métodos diagnósticos que resultaram no estabelecimento destes diagnósticos e evolução clínica.

Idade	Diagnóstico	Método	Evolução*
51	Abscesso Nocardia+HIV	Biópsia cerebral	Óbito
11	ADEM	Clínica+neuroimagem	Desc
9	ADEM	Clínica+neuroimagem	Sequela
47	Embolização séptica	ECO+hemocultura	Óbito
11	Encef. Bickerstaff	Clínica+neuroimagem	Cura
27	Encefalite-dengue	Imunodiagnóstico	Cura
21	Encefalopatia por OKT3	Clínica+neuroimagem	Cura
74	Hemorragia meníngea	LCR	Cura
14	Intoxicação exógena	Clínica	Cura
92	Linfoma SNC	Autópsia	Óbito
26	MAV	Neuroimagem	Óbito
1	Meningite meningocócica	LCR	Cura
16	Metabólica	Clínico	Cura
32	Neurocisticercose	LCR (imunodiagnóstico)	Cura
38	Neurocisticercose	LCR (imunodiagnóstico)	Sequela
19	Trombose de seio	Neuroimagem	Desc
2	Trombose de seio	Neuroimagem	Óbito
72	Zoster	Clínico	Cura

*desc, desconhecido.

Tabela 2. Pacientes do grupo 2: dados clínicos

Diagnóstico	Febre*	Glasgow	Convulsão*	Alteração focal*
Abscesso Nocardia+HIV	S	15	S	N
ADEM	S	12	N	S
ADEM	S	6	N	S
Embolização séptica	S	14	S	N
Encef. Bickerstaff	S	7	N	S
Encefalite-Dengue	S	13	S	N
Encefalopatia por OKT3	N	15	S	N
Hemorragia meníngea	S	15	N	N
Intoxicação exógena	S	14	N	N
Linfoma SNC	S	8	S	S
MAV	N	14	S	S
Meningite meningocócica	S	8	N	N
Metabólica	S	3	N	N
Neurocisticercose	N	15	S	S
Neurocisticercose	S	14	N	N
Trombose seio	S	14	N	N
Trombose seio	S	3	S	S
Zoster	N	15	N	N

*S, sim; N, não.

Tabela 3. Pacientes do grupo 2: diagnósticos e resultados dos exames complementares.

Diagnóstico	CT	LCR leucócitos/mm ³	LCR- Proteínas/mg/dL	EEG
Abscesso Nocardia+HIV	Focal	2112	?	Focal
ADEM	não realizada	19	35	Difuso
ADEM	Focal	8	65	Difuso
Embolização séptica	Normal	40	34	não realizado
Encef. Bickerstaff	Focal	100	32	Difuso
Encefalite-Dengue	Difusa	7	60	Difuso
Encefalopatia por OKT3	Normal	4	25	Focal
Hemorragia meníngea	Difusa	?	?	não realizado
Intoxicação exógena	Normal	4	?	Normal
Linfoma SNC	Focal	1	47	Focal
MAV	Focal	1	12	Focal
Meningite Meningocócica	Normal	3410	?	não realizado
Metabólica	Focal	1	27	não realizado
Neurocisticercose	Difusa	115	32	Normal
Neurocisticercose	Difusa	150	53	Difuso
Trombose seio	não realizada	?	?	Focal
Trombose seio	Focal	80	55	não realizado
Zoster	Normal	4	34	Focal

Os dados clínicos e radiológicos foram os mais frequentemente utilizados para o estabelecimento dos diagnósticos alternativos (8 casos), seguidos pelos dados do LCR e de imunodiagnóstico (5 casos). O diagnóstico etiológico alternativo foi estabelecido por autópsia em um caso (linfoma primário do SNC), biópsia cerebral (um paciente com abscesso cerebral por Nocardia) e hemocultura associada a ecocardiografia em paciente com embolização séptica do SNC. No grupo 2, nove pacientes (50%) evoluíram para a cura, dois (11,1%) permaneceram com sequelas neurológicas, cinco (27,8%) foram a óbito. Os diagnósticos nos casos que evoluíram para o óbito foram: abscesso cerebral em paciente HIV positivo, endocardite, linfoma primário de SNC, malformação vascular do SNC e tromboflebite de seio dural. Dos pacientes sem diagnóstico diferencial definido (grupo 3), 17 (68%) evoluíram para a cura, 3 (12%) permaneceram com seqüela neurológica e apenas 1 (4%) evoluiu para o óbito. Embora neste último grupo a porcentagem de pacientes que evoluíram para a cura tenha sido maior e a de pacientes que faleceram menor, a diferença de evolução clínica entre estes dois grupos não foi significativa do ponto de vista estatístico ($p=0,067$).

A idade média dos casos dos grupos 2 e 3 foi $31,3 \pm 26,3$ e $31,2 \pm 19,96$ anos, respectivamente. Convulsões foram vistas em 8 (44,4%) dos pacientes do grupo 2 e 7 (38,8%) do grupo 3 ($p>0,1$). Alterações neurológicas focais foram detectadas em 7 (38,9%) e 12 (48%) dos casos dos grupos 2 e 3, respectivamente ($p>0,5$).

Os pacientes com diagnóstico etiológico alternativo apresentaram maior frequência de lesões tomográficas, particularmente anormalidades focais ($p<0,05$). Alterações à TCC foram vistas em 11/16 (68,75%) dos casos do grupo 2 (7-anormalidades focais e 4-anormalidades difusas) e 10/25 (40%) dos pacientes do grupo 3 (4 com lesões focais e 6 com alterações difusas). Os resultados de EEG não foram significativamente diferentes entre os grupos 2 e 3 ($P>0,1$), tendo sido alterado em 11/13 (84,6%) dos pacientes do grupo 2 (6-alterações focais e 5-alteração difusas) e 12/21 (57,15%) dos casos do grupo 3 (6 com alterações focais e 6 com alterações difusas).

A celularidade média do LCR foi significativamente diferente entre estes dois grupos: $378,5 \pm 960,93$ células/mm³ para os casos do grupo 2 e $159,6 \pm 291,49$ células/mm³ no grupo 3 ($p<0,05$).

Tabela 4. Pacientes do grupo 3: dados clínicos e neurodiagnósticos.

Idade	Febre	Glasgow	Conv	Alt focal	CT	LCR Cél./mm ³	LCR prot./mg/dL	EEG	Evol
57	S	15	N	N	Difusa	250	16	difuso	Cura
33	S	10	S	N	Difusa	66	74	difuso	Cura
57	S	14	N	N	Normal	35	41	difuso	Cura
28	S	8	S	S	Normal	45	67	difuso	Cura
1	S	15	S	N	Normal	5	60	focal	Cura
15	S	14	N	S	Difusa	9	21	focal	Cura
47	S	15	S	N	Normal	117	282	focal	Cura
13	S	15	S	N	Normal	220	75	focal	Cura
19	S	14	S	N	Normal	33	36	focal	Cura
2	S	15	S	S	Normal	95	79	focal	Cura
72	S	14	N	S	Difusa	?	?	normal	Cura
27	N	15	N	N	Normal	109	?	normal	Cura
39	N	15	N	N	Normal	341	67	normal	Cura
78	S	15	N	S	Normal	405	210	normal	Cura
38	N	15	S	S	Normal	32	27	normal	Cura
7	S	15	S	N	Focal	10	?	não realizado	Cura
17	S	15	S	N	Normal	1297	85	não realizado	Cura
29	N	15	N	S	Difusa	?	?	difuso	Desc
14	S	15	N	S	Normal	27	33	normal	Desc
43	S	15	S	N	Focal	?	?	normal	Desc
25	N	10	S	S	Focal	?	?	não realizado	Desc
37	S	6	S	S	Difusa	65	?	normal	Óbito
37	S	11	S	N	Normal	1	33	difuso	Sequela
23	S	14	S	S	Normal	30	94	normal	Sequela
22	S	15	N	S	Focal	?	?	não realizado	Sequela

Conv, convulsão; céls, células no LCR; prot, proteinorraquia; evol, evolução; S, sim; N, não.

O mesmo não ocorreu com a proteinorraquia, que foi $59,4 \pm 72,44$ mg/dL no grupo 2 e $76,47 \pm 69,27$ mg/dL no grupo 3 ($p > 0,5$).

DISCUSSÃO

A confirmação etiológica do diagnóstico de HSE é ainda difícil. Os dados clínicos são sabidamente insuficientes na diferenciação da HSE de outras formas de encefalite aguda. A RM, embora muito superior aos demais métodos neurorradiológicos, pode apresentar alterações semelhantes às vistas em outras patologias¹⁴⁻¹⁶. Os métodos de detecção de anticorpos no LCR apresentam pequena sensibilidade na fase aguda da doença e baixa reprodutibilidade¹⁷⁻²². O isolamento viral a partir de tecido cerebral obtido por biópsia é método sensível, específico e reprodutível, mas altamente agressivo²³⁻²⁶.

A PCR para detecção do HSV no LCR tem se mostrado satisfatória por ser sensível, específica, reprodutível e de rápida execução, possibilitando o diagnóstico da HSE nas fases iniciais da doença. Assim, a PCR é atualmente o método de escolha no diagnóstico da HSE²⁷⁻²⁹.

Neste estudo, a PCR em LCR foi prospectivamente empregada em casos suspeitos de HSE. Dos 61 casos avaliados, apenas 18 (29,5%) tiveram etiologia herpética. Esta baixa porcentagem de

confirmação é justificada pois os dados clínicos foram pouco específicos e, sabendo-se que o tratamento precoce desta doença reduz significativamente a mortalidade, o antiviral vem sendo introduzido tão logo a suspeita seja feita. Além disso, o aciclovir é uma droga pouco tóxica, o que favorece sua utilização empírica. Whitley e col. confirmaram etiologia herpética em 45% dos casos suspeitos, em estudo que teve a biópsia cerebral como método confirmatório. A utilização deste procedimento diagnóstico invasivo possivelmente contribuiu para uma seleção mais rigorosa dos pacientes, aumentando a probabilidade de confirmação laboratorial da etiologia herpética³.

As informações clínicas e neurodiagnósticas dos pacientes com PCR positiva e negativa foram comparadas visando determinar-se os elementos mais significativamente associados ao diagnóstico de HSE. Em concordância com estudos anteriores, não houve especificidade da história clínica e do exame neurológico³. A celularidade e a concentração de proteínas no LCR também não foram significativamente diferentes entre os pacientes com PCR positiva e PCR negativa. Embora tenha havido correlação entre HSE e anormalidades focais à TCC e ao EEG, a sensibilidade e especificidade destes exames não foram altamente satisfatórias (66,7% e 75,6% para a TCC e 75% e 64,7% ao EEG, respectivamente). As alterações mais frequentemente encontradas nos pacientes com HSE foram pleocitose (100%) e febre (94,4%).

Dos 43 pacientes com PCR negativa, 18 (41,9%) tiveram diagnóstico alternativo estabelecido. Destes, 7 casos apresentaram outras doenças infecciosas do SNC, sendo três infecções bacterianas (complicação oportunista em AIDS, embolização séptica e meningite bacteriana), dois casos de neurocisticercose e dois pacientes com infecção viral (encefalite associada a dengue e encefalite por zoster). A pequena quantidade de encefalites virais não herpéticas neste grupo reflete possivelmente o não emprego de técnicas virológicas para a definição destas patologias, como biópsia cerebral ou PCR no LCR para enterovírus, vírus Epstein-Barr, citomegalovírus. A utilização sistemática destas últimas técnicas resultaria, provavelmente, em aumento da porcentagem de casos com diagnóstico etiológico estabelecido³. O perfil de diagnósticos diferenciais aqui encontrados foi diferente do que relataram Whitley e col.³. A presença, no presente estudo, de complicações associadas à AIDS e ao uso de drogas em função de transplante reflete a diferente época de realização destes trabalhos (o estudo de Whitley e col.³ foi realizado nas décadas de 70 e 80). A menor porcentagem aqui verificada de encefalites virais deve-se a não realização sistemática de investigação para tais agentes. Outras peculiaridades na casuística deste estudo, como a presença de complicação pelo vírus da dengue, neurocisticercose e não ocorrência de encefalites por outros arbovirus, são resultantes de diferenças epidemiológicas.

Os dados clínicos e neurodiagnósticos foram comparados entre os pacientes com diagnóstico alternativo estabelecido e indeterminado. A idade média destes grupos foi semelhante. Os pacientes do grupo 2 evoluíram mais frequentemente para o óbito (27,8% contra 4% entre os casos indeterminados), enquanto os casos do grupo 3 evoluíram mais frequentemente para a cura (68% contra 50%). Embora esta diferença na evolução clínica não tenha sido significativa do ponto de vista estatístico ($p=0,06$), ela sugere uma tendência a uma evolução mais favorável entre os casos indeterminados. Foram encontradas diferenças significativas na frequência de lesões tomográficas focais (43,75% entre os do grupo 2 contra 16% no grupo 3, $p<0,05$), e contagem de células/mm³ do LCR ($378,5\pm 960,93$ e $159,6\pm 291,49$, grupos 2 e 3, respectivamente, $p=0,02$). A tendência a um prognóstico pior, maior frequência de lesões tomográficas e maior número de leucócitos no LCR podem sugerir uma doença mais grave entre os casos que tiveram o diagnóstico etiológico elucidado. Possivelmente, a apresentação mais branda da doença no grupo indeterminado tenha contribuído para menor agressividade da investigação em parte destes pacientes, corroborando para o não estabelecimento de diagnóstico etiológico. É possível ainda que neste grupo estejam pacientes com quadros encefalíticos virais, frequentemente de bom prognóstico (como enterovírus e vírus Epstein-Barr), não pesquisados sistematicamente neste estudo.

Concluindo, verificou-se neste estudo uma baixa porcentagem de casos suspeitos em que o diagnóstico de HSE tenha se confirmado pela PCR. Os dados clínicos e neurodiagnósticos aqui empregados não permitiram definir uma estratégia de abordagem inicial destes pacientes que possa

limitar a população de pacientes submetidos a tratamento empírico. Assim, exames complementares (como a PCR) são importantes. A frequência de definição etiológica entre os casos de etiologia não herpética foi baixa. É provável que a utilização mais frequente de recursos como PCR em LCR para outras viroses pudesse aumentar esta frequência. As diferenças etiológicas encontradas em comparação com outros estudos refletem diferenças metodológicas, a época de realização dos estudos e características epidemiológicas distintas. Em virtude da gravidade das patologias em questão, é essencial a disponibilização dos métodos diagnósticos acima mencionados. Desta forma será possível definir mais claramente o perfil etiológico das encefalites em nosso meio.

Agradecimentos - Os autores agradecem aos seguintes colaboradores: Dr. Paulo E. Marchiori, Dr. Getúlio D. Rabello, Prof. Milberto Scaff, Prof. Vicente Amato Neto, Dra. Maria Joaquina Marques Dias, Prof. João S. de Mendonça, Dra. Helena H. Ruocco, Dra. Maria C. do Nascimento, Prof. Fred D Lakeman e Prof. Richard Whitley (University of Alabama at Birmingham).

REFERÊNCIAS

- Whitley RJ, Lakeman FD. Herpes simplex virus infections of the central nervous system: therapeutic and diagnostic considerations. *Clin Infect Dis* 1995;20:414-420.
- Whitley RJ, Alford CA, Hirsh MS, et al. Vidarabine versus acyclovir therapy in herpes simplex encephalitis. *N Eng J Med* 1986;314:144-149.
- Whitley RJ, Cobbs CG, Alford CA, et al. Diseases that mimic herpes simplex encephalitis: diagnosis, presentation, and outcome. *J Am Med Assoc* 1989;262:234-239.
- Schroth G, Kretzschmar K, Gawehn J, et al. Advantage of magnetic resonance imaging in the diagnosis of cerebral infections. *Neuroradiology* 1987;29:120-126.
- Lester JW, Carter MP, Reynolds TL. Herpes encephalitis: MR monitoring of response to acyclovir therapy. *J Comput Assisted Tomogr* 1988;12:941-943.
- Schmidbauer M, Podreka I, Wimberger D, et al. SPECT and MR imaging in herpes simplex encephalitis. *J Comput Assisted Tomogr* 1991;15:811-815.
- Gasecki AP, Steg RE. Correlation of early MRI with CT scan, EEG, and CSF: analyses in a case of biopsy-proven herpes simplex encephalitis. *Eur Neurol* 1991;31:372-375.
- Powell KF, Anderson NE, Frith RW, Croxon MC. Non invasive diagnosis of herpes simplex encephalitis. *Lancet* 1990;1:357-358.
- Aurelius E, Johanson BO, Sköldenberg B, et al. Rapid diagnosis of herpes simplex encephalitis by nested polymerase chain reaction. *Lancet* 1991;337:189-192.
- Anderson NE, Powell KF, Croxon MC. A polymerase chain reaction assay of cerebrospinal fluid in patients with suspected herpes simplex encephalitis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1993;56:520-525.
- Lakeman FD, Whitley RJ. Diagnosis of herpes simplex encephalitis: application of polymerase chain reaction to cerebrospinal fluid from brain-biopsied patients and correlation with disease. *J Infect Dis* 1995;171:857-863.
- Guffond T, Dewilde A, Lobert PE, et al. Significance and clinical relevance of the detection of herpes simplex virus DNA by polymerase chain reaction in cerebrospinal fluid from patients with presumed encephalitis. *Clin Infect Dis* 1994;18:744-749.
- Domingues RB, Tsanaclis AMC, Pannuti CS, et al. Evaluation of the range of clinical presentations of herpes simplex encephalitis using polymerase chain reaction assay of cerebrospinal fluid samples. *Clin Infect Dis* 1997;25:86-91.
- Kodama T, Numagushi Y, Gellad FE, et al. Magnetic resonance imaging in limbic encephalitis. *Neuroradiology* 1991;33:520-523.
- Dirr LY, Elster AD, Donofrio PD, et al. Evolution of brain MRI abnormalities in limbic encephalitis. *Neurology* 1990;40:1304-1306.
- Sempere AP, Elizaga J, Duarte J, et al. Q fever mimicking herpetic encephalitis. *Neurology* 1993;43:2713-2714.
- Levine DP, Lauter CB, Lerner AM. Simultaneous serum and cerebrospinal fluid antibodies in herpes simplex virus encephalitis. *J Am Med Assoc* 1978;240:356-360.
- Klapper PE, Laing I, Longson M. Rapid non-invasive diagnosis of herpes encephalitis. *Lancet* 1981;1:607-609.
- Sköldenberg B, Kalimo K, Carlström A. Herpes simplex encephalitis: a serological follow-up study. *Acta Neurol Scand* 1981;63:273-285.
- Dayan AD, Stokes MI. Rapid diagnosis of encephalitis by immunofluorescent examination of the cerebrospinal fluid cells. *Lancet* 1973;1:177-179.
- Hanada N, Kido S, Terashima M, Nishikawa K, Morishima T. Non-invasive method for early diagnosis of herpes simplex encephalitis. *Arch Dis Child* 1988;63:1470-1473.
- Kahlon J, Chatterjee S, Lakeman FD, et al. Detection of antibodies to herpes simplex virus in the cerebrospinal fluid of patients with herpes simplex encephalitis. *J Infect Dis* 1987;155:38-44.
- Whitley RJ, Soong SJ, Dolin R, et al. Adenine arabinoside therapy of biopsy-proved herpes simplex encephalitis. *N Eng J Med* 1977;297:289-294.
- Hanley DF, Johnson RT, Whitley RJ. Yes, brain biopsy should be a prerequisite for herpes simplex encephalitis treatment. *Arch Neurol* 1987;44:1289-1290.
- Morawetz RB, Whitley RJ, Murphy DM. Experience with brain biopsy for suspected herpes encephalitis: a review of forty consecutive cases. *Neurosurgery* 1983;12:654-657.
- Anderson NE, Willoughby BJ, Synek MC. Brain biopsy in the management of focal encephalitis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1991;54:1001-1003.
- Domingues RB, Tsanaclis AMC, Fink MCD, et al. Diagnosis of herpes simplex encephalitis by magnetic resonance imaging and polymerase chain reaction assay of cerebrospinal fluid. *J Neurol Sci* 1998;157:148-153.
- Domingues RB, Lakeman FD, Mayo MS, Whitley RJ. Application of competitive PCR to cerebrospinal fluid samples from patients with herpes simplex encephalitis. *J Clin Microbiol* 1998;36:2229-2234.
- Domingues RB, Lakeman FD, Pannuti CS, et al. Advantage of polymerase chain reaction in the diagnosis of herpes simplex encephalitis: presentation of 5 atypical cases. *Scand J Infect Dis* 1997;29:229-231.