

Comparação da pesquisa de enterovírus no líquor com Escore de Meningite Bacteriana em crianças

Comparison of enterovirus detection in cerebrospinal fluid with Bacterial Meningitis Score in children

Frederico Ribeiro Pires¹, Andréia Christine Bonotto Farias Franco¹, Alfredo Elias Gilio¹, Eduardo Juan Troster^{1,2}

RESUMO

Objetivo: Avaliar o papel da pesquisa de enterovírus no líquido cefalorraquidiano em comparação com o Escore de Meningite Bacteriana em crianças com meningite. **Métodos:** Coorte retrospectiva, realizada pela análise de prontuários, incluindo pacientes pediátricos, com diagnóstico de meningite e atendidos em um hospital privado e terciário, localizado em São Paulo, entre 2011 e 2014. Foram excluídos os pacientes com doença crítica, púrpura, derivação ventricular ou neurocirurgia recente, imunossupressão, outra infecção bacteriana concomitante que necessitasse de antibioticoterapia parenteral e aqueles que receberam antibiótico 72 horas antes da punção lombar. **Resultados:** Foram incluídos no estudo 503 pacientes. Destes, 64 foram excluídos e 94 não realizaram todos os exames para análise. Dos 345 pacientes restantes, 7 ficaram no Grupo de Meningite Bacteriana e 338 no Grupo de Meningite Asséptica. Não houve diferença estatística entre os grupos. Na análise do Escore de Meningite Bacteriana, dos 338 pacientes com possível meningite asséptica (culturas negativas), 121 deles tiveram um ou mais pontos para o Escore de Meningite Bacteriana, com valor de sensibilidade de 100%, especificidade de 64,2% e valor preditivo negativo de 100%. Dos 121 pacientes com Escore de Meningite Bacteriana positivo, 71% (86 pacientes) tiveram a pesquisa de enterovírus positiva no líquido cefalorraquidiano. **Conclusão:** A pesquisa de enterovírus no líquido cefalorraquidiano mostrou-se eficaz em diferenciar a meningite bacteriana da viral. Analisada junto com o Escore de Meningite Bacteriana, a especificidade foi maior em comparação ao Escore de Meningite Bacteriana isolado.

Descritores: Meningite/diagnóstico; Meningite viral/diagnóstico; Meningites bacterianas/diagnóstico; Enterovirus; Líquido cefalorraquidiano; Criança

ABSTRACT

Objective: To measure the role of enterovirus detection in cerebrospinal fluid compared with the Bacterial Meningitis Score in children with meningitis. **Methods:** A retrospective cohort based on analysis of medical records of pediatric patients diagnosed as meningitis, seen at a private and tertiary hospital in São Paulo, Brazil, between 2011 and 2014. Excluded were patients with critical illness, purpura, ventricular shunt or recent neurosurgery, immunosuppression, concomitant bacterial infection requiring parenteral antibiotic therapy, and those who received antibiotics 72 hours before lumbar puncture. **Results:** The study included 503 patients. Sixty-four patients were excluded and 94 were not submitted to all tests for analysis. Of the remaining 345 patients, 7 were in the Bacterial Meningitis Group and 338 in the Aseptic Meningitis Group. There was no statistical difference between the groups. In the Bacterial Meningitis Score analysis, of the 338 patients with possible aseptic meningitis (negative cultures), 121 of them had one or more points in the Bacterial Meningitis Score, with sensitivity of 100%, specificity of 64.2%, and negative predictive value of 100%. Of the 121 patients with positive Bacterial Meningitis Score, 71% (86 patients) had a positive enterovirus detection in cerebrospinal fluid. **Conclusion:** Enterovirus detection in cerebrospinal fluid was effective to differentiate bacterial from viral meningitis. When the test was analyzed together with the Bacterial Meningitis Score, specificity was higher when compared to Bacterial Meningitis Score alone.

Keywords: Meningitis/diagnosis; Meningitis, viral/diagnosis; Meningitis, bacterial/diagnosis; Enterovirus; Cerebrospinal fluid; Child

¹ Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil.

² Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

Autor correspondente: Andréia Christine Bonotto Farias Franco – Avenida Albert Einstein, 627/701 – Morumbi – CEP: 05652-900 – São Paulo, SP, Brasil – Tel.: (11) 2151-2255
E-mail: andrea_christine@hotmail.com

Data de submissão: 25/9/2016 – Data de aceite: 18/2/2017

Conflitos de interesse: não há.

DOI: 10.1590/S1679-45082017AO3880



INTRODUÇÃO

A meningite é uma doença inflamatória das leptomeninges, o tecido que envolve o cérebro e a medula espinhal, sendo definida pelas alterações do líquido cefalorraquidiano (LCR), especialmente pelo número anormal de leucócitos. A meningite aguda inclui a meningite bacteriana e a meningite asséptica.

A meningite bacteriana é aquela em que as culturas (sangue e/ou liquor) foram positivas para os patógenos bacterianos rotineiros, condição que ameaça a vida, com mortalidade próxima a 100% quando não tratada adequadamente, exigindo tratamento imediato com antibioticoterapia endovenosa empírica e gestão de suporte.⁽¹⁾

Nas regiões do mundo com altas taxas de vacinação, a incidência de meningite bacteriana vem decrescendo substancialmente, devido à alta efetividade das vacinas conjugadas, principalmente contra *Haemophilus influenzae* tipo B e *Streptococcus pneumoniae*.⁽²⁻⁸⁾

A meningite asséptica pode ser de causas infecciosas e não infecciosas, sendo a infecção pelo enterovírus a causa mais comum,⁽⁹⁾ a qual é uma condição benigna e autolimitada, que pode ser tratada com sintomáticos em nível ambulatorial.⁽¹⁾

A maioria dos pacientes com meningite asséptica é desnecessariamente hospitalizada e recebe antibioticoterapia endovenosa empírica até os resultados das culturas do sangue e do liquor,^(10,11) o que pode demorar 48 horas para excluir o crescimento de microrganismos.⁽¹²⁻¹⁴⁾ Um estudo de epidemiologia de meningite no Reino Unido concluiu que é urgente melhorar o diagnóstico de meningite não bacteriana para reduzir o uso de antibióticos e internação.⁽⁸⁾

Levando em conta que as internações devam ser reduzidas, assim como o uso desnecessário de antibióticos, Nigrovic et al., propuseram um escore para diagnóstico da meningite bacteriana, denominado Escore de Meningite Bacteriana (BMS - *Bacterial Meningitis Score*),⁽¹⁵⁾ que demonstrou sensibilidade e valor preditivo negativo próximos de 100%.

O BMS é um escore já utilizado no Brasil, que leva em conta um critério clínico (presença de convulsão) e quatro laboratoriais (Gram-positivo no LCR; neutrófilos absolutos no LCR $>1.000/\text{mm}^3$ neutrófilos absolutos no sangue $>10.000/\text{mm}^3$ e proteína no LCR $>80\text{mg/dL}$), sendo muito sensível para meningite bacteriana, quando presente um ou mais dos cinco critérios, e na diferenciação para meningite asséptica, porém pouco específico.

A infecção por enterovírus é a causa mais comum de meningite asséptica em crianças e adultos, e pode causar até 90% dos casos de meningite asséptica.⁽¹⁶⁾ O rápido e preciso diagnóstico de infecções por enterovírus

pode reduzir a utilização de antibióticos, a duração da hospitalização, e os custos financeiros do tratamento das crianças com meningite.⁽¹⁷⁻²⁰⁾ Tendo isto em vista, vários estudos estão sendo realizados para demonstrar a efetividade da pesquisa de enterovírus no diagnóstico da meningite asséptica.^(21,22)

Os métodos moleculares para pesquisa de vírus no liquor estão cada vez mais disponíveis. Desta forma, a hipótese formulada é de que, utilizando a pesquisa de enterovírus no liquor, associada ao BMS, poderíamos aumentar a especificidade do diagnóstico, mantendo a sensibilidade elevada e reduzindo, assim, algumas internações desnecessárias.

OBJETIVO

Avaliar o papel da pesquisa de enterovírus no líquido cefalorraquidiano em comparação com o Escore de Meningite Bacteriana em crianças com meningite.

MÉTODOS

O presente estudo analítico, do tipo coorte retrospectiva, foi realizado entre abril de 2015 e novembro de 2015, por meio da análise de prontuários, e incluiu pacientes com idade entre 1 mês e <14 anos incompletos, com diagnóstico de meningite (leucócitos no LCR >9 células/ μL , levando em consideração a taxa de correção leucócitos: eritrócitos de 1:500 nos casos de acidente de punção) e atendidas no Serviço de Emergência do Hospital Israelita Albert Einstein, localizado no Estado de São Paulo, Brasil, entre 1º de janeiro de 2011 e 31 de dezembro de 2014. Foram excluídos os pacientes com doença crítica (definida com alteração severa do estado mental, evidência de herniação cerebral, necessidade de suporte respiratório ou pressórico), púrpura, derivação ventricular ou neurocirurgia recente, imunossupressão, outra infecção bacteriana concomitante que necessitasse de antibioticoterapia parenteral e aqueles que receberam antibiótico 72 horas antes da punção lombar.

As variáveis estudadas foram idade, sexo, presença ou história de convulsão em vigência da doença atual, neutrófilos sérico (1.800-10.000/ mm^3), neutrófilos no LCR (até 9/ mm^3), proteína no LCR (até 40mg/dL), Gram do LCR (positivo/negativo), hemocultura (positivo/negativo), cultura do LCR (positivo/negativo), BMS (sendo positivo quando pelo menos um dos cinco critérios é positivo, e negativo na ausência de todos eles) e pesquisa de enterovírus no LCR (positiva/negativa). Foram consideradas como com meningite bacteriana aquelas crianças que tiveram a cultura bacteriana positiva no LCR ou pleocitose ($>9/\text{mm}^3$) associada à hemo-

cultura positiva para o patógeno bacteriano. Os dados foram coletados pelos próprios pesquisadores.

O sexo dos pacientes foi descrito por frequências absolutas e percentagens por grupo, e comparadas com o teste exato de Fisher. As variáveis numéricas foram descritas por medianas e quartis, e comparadas pelo teste de Mann-Whitney. Para avaliar o BMS na diferenciação de crianças com meningite bacteriana e asséptica, foram calculadas as medidas de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e acurácia, além do coeficiente de concordância Kappa, sendo todas as medidas acompanhadas de seus intervalos de confiança de 95% (IC95%). Os cálculos foram efetuados de acordo com recomendações de Altman⁽²³⁾ e com o auxílio dos pacotes R na versão 3.1.3 (<http://www.R-project.org>) e Microsoft Excel na versão 2010. O nível de significância adotado nas comparações foi 5%.

A estimativa do tamanho da amostra foi feita com base na especificidade observada por Mekitarian Filho et al.,⁽⁷⁾ uma vez que a sensibilidade de 100% também foi desejada para este estudo. Supondo proporção de acerto de 53% do BMS na identificação de crianças com meningite asséptica (especificidade) e precisão absoluta de 5%, foi estimada uma amostra de 383 casos de meningite.

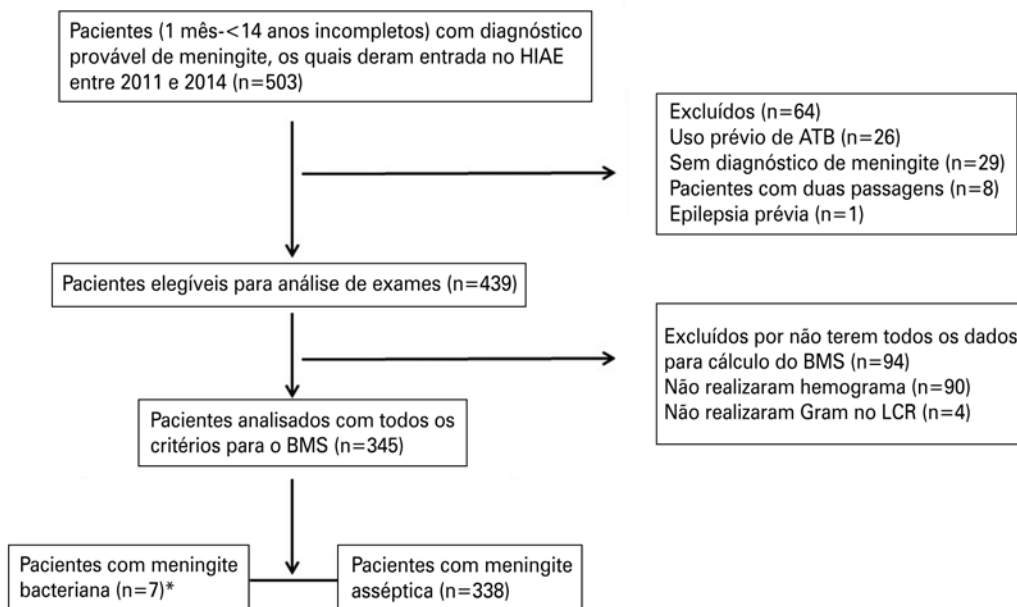
Utilizou-se a fórmula para cálculo de tamanho amostral para estimação de uma proporção com nível de significância de 5%. Assumindo que o número de casos com os critérios de inclusão no serviço somasse cerca de

100 ao ano, definimos o período de 5 anos para a coorte para garantir a inclusão do número mínimo necessário de casos.

RESULTADOS

Foram incluídos no estudo 503 pacientes, que deram entrada no Hospital Israelita Albert Einstein entre 2011 e 2014 e preencheram critérios de inclusão. Destes, 64 foram excluídos por uso prévio de antibióticos (n=26), sem diagnóstico de meningite (n=29), paciente com duas passagens no pronto-socorro (n=8) e epilepsia prévia (n=1). Restaram 439 crianças eletivas para análise dos exames. Destas, 94 não realizaram todos os exames para análise do BMS (90 não realizaram hemograma e 4 não realizaram Gram no LCR), tendo sido excluídas neste segundo momento. Desta forma, 345 pacientes preencheram todos os pré-requisitos e foram selecionados para o estudo - sete ficaram no Grupo de Meningite Bacteriana e 338 no Grupo de Meningite Asséptica (Figura 1).

Quando comparamos os dois grupos, não houve diferença estatística com relação à mediana da idade, do sexo e do número de neutrófilos no sangue (Tabela 1). O Grupo de Meningite Bacteriana apresentou, em relação ao Grupo de Meningite Asséptica, um número maior de neutrófilos no LCR (1866/mm³ versus 32,5/mm³); reação em cadeia da polimerase no sangue (23,3mg/dL versus 1,53mg/dL) e proteína no LCR (83mg/dL versus 30mg/dL) – todos com valores estatisticamente significativos e demonstrados na tabela 1.



*5 casos por *Streptococcus pneumoniae*; 1 caso por *Neisseria meningitidis*; 1 caso por *Enterococcus faecalis*.
 ATB: antibióticos; BMS: Bacterial Meningitis Score; LCR: líquido cefalorraquidiano.

Figura 1. Fluxograma

Tabela 1. Parâmetros comparativos entre os grupos

Dados comparativos	Meningite asséptica (n=338)	Meningite bacteriana (n=7)	Valor de p
Sexo (%)			
Feminino	138 (40,8)	2 (28,6)	0,705
Masculino	200 (59,2)	5 (71,4)	
Idade, mediana [IQR]	5,08 [3,58-7,08]	3,17 [0,67-6,25]	0,266
Neutrófilos no LCR*, mediana [IQR]	32,50 [10,00-94,25]	1.866,00 [939,00-2.573,00]	<0,001
Neutrófilos no sangue [†] , mediana [IQR]	8.524,00 [6.065,00-11.086,75]	18.144,00 [8.293,50-24.173,00]	0,066
Proteína no LCR, mediana [IQR] [‡]	30,00 [23,00-40,75]	83,00 [73,00-275,00]	<0,001

* Neutrófilos no LCR/mm³; [†] Neutrófilos no sangue/mm³; [‡] Proteína no LCR (mg/dL).
IQR: interquartile range; LCR: líquido cefalorraquidiano.

Na análise do BMS, 345 pacientes foram avaliados. Dos 338 pacientes com meningite asséptica (culturas negativas), 121 tiveram um ou mais pontos para o BMS (Tabela 2), com valor de sensibilidade de 100%, especificidade de 64,2%, valor preditivo negativo de 100% e coeficiente de Kappa de 0,07 (Tabela 3). Dos 121 pacientes com BMS positivo, 71% (86 pacientes) tiveram a pesquisa de enterovírus positiva no LCR (Figura 2).

Se analisarmos o BMS juntamente da pesquisa de enterovírus, considerando uma provável meningite bacteriana (BMS positivo + pesquisa de enterovírus negativa) e uma provável meningite asséptica (pesquisa de enterovírus positiva independente do resultado do BMS ou um BMS negativo + pesquisa de enterovírus negativa), desta forma temos: sensibilidade de 100%; especificidade de 89,6%; prevalência de 2%; valor preditivo negativo de 100%; Kappa de 0,26 (Tabelas 4 e 5).

Tabela 2. Correlação entre o *Bacterial Meningitis Score* com pelo menos 1 ponto e o diagnóstico de meningite bacteriana

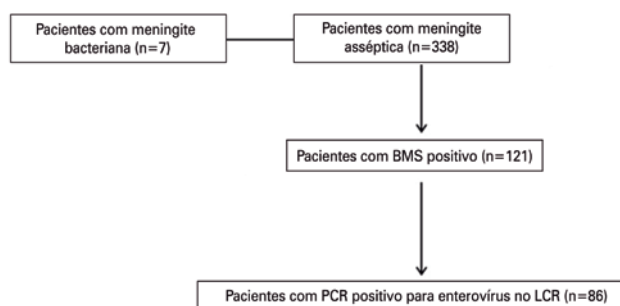
BMS presente	Meningite bacteriana		Total
	Sim	Não	
Sim	7	121	128
Não	0	217	217
Total	7	338	345

BMS: *Bacterial Meningitis Score*.

Tabela 3. Sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo do *Bacterial Meningitis Score* para o diagnóstico da meningite bacteriana

Variáveis	Valores n (%)	Intervalos de confiança	
		Limite inferior IC95%	Limite superior IC95%
Sensibilidade	100,0	100,0	100,0
Especificidade	64,2	64,1	64,3
Acurácia	64,9	64,8	65,1
Prevalência	2,0	2,0	2,0
Valor preditivo positivo	5,5	5,4	5,5
Valor preditivo negativo	100,0	100,0	100,0
Coefficiente Kappa	0,07	-0,07	0,20

IC95%: intervalo de confiança de 95%.



BMS: *Bacterial Meningitis Score*; PCR: reação em cadeia da polimerase; LCR: líquido cefalorraquidiano.

Figura 2. Impacto da pesquisa de enterovírus**Tabela 4.** Correlação entre o *Bacterial Meningitis Score* e a pesquisa de enterovírus com o diagnóstico de meningite bacteriana

BMS + enterovírus	Meningite bacteriana		Total
	Sim	Não	
BMS positivo + enterovírus negativo	7	35	42
Enterovírus positivo + BMS positivo ou negativo/ BMS negativo + enterovírus negativo	0	303	303
Total	7	338	345

BMS: *Bacterial Meningitis Score*.

Tabela 5. Sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo do *Bacterial Meningitis Score* associado à pesquisa de enterovírus para o diagnóstico da meningite bacteriana

Variáveis	Valores n (%)	Intervalos de confiança	
		Limite inferior IC95%	Limite superior IC95%
Sensibilidade	100,0	100,0	100,0
Especificidade	89,6	89,6	89,7
Acurácia	89,9	89,8	89,9
Prevalência	2,0	2,0	2,0
Valor preditivo positivo	16,7	16,0	17,3

IC95%: intervalo de confiança de 95%.

DISCUSSÃO

Vários estudos estão sendo realizados para ajudar na diferenciação da meningite asséptica da bacteriana, a fim de diminuir as taxas de internação e custos te-

rapêuticos em meningites assépticas, sem diminuir a sensibilidade para a bacteriana. O primeiro escore foi criado por meio de uma coorte retrospectiva⁽¹⁵⁾ publicada em 2002, realizada no *Boston Children's Hospital*, que avaliou 696 crianças entre 1 mês e 19 anos entre julho de 1992 e junho de 2000, sendo que 125 crianças apresentaram meningite bacteriana e 571 meningite asséptica. O escore apresentou os seguintes resultados: BMS de 1 ponto com sensibilidade de 100% (IC95%: 98 a 100%) e BMS de 2 pontos com sensibilidade de 87% (IC95%: 72 a 96%).

Ao redor do mundo, alguns estudos seguiram a mesma linha para analisar o BMS em seus países. Em 2012, uma metanálise⁽²⁾ com oito estudos incluídos da Europa Ocidental, Estados Unidos e Argentina avaliou o BMS. Os resultados demonstraram sensibilidade de 99,3% (IC95%: 98,7-99,7), especificidade de 62,1% (IC95%: 60,5-63,7), valor preditivo negativo de 99,6% (IC95%: 99,3-99,8) e valor preditivo positivo de 28,1% (IC95%: 22,6-33,9). Isso demonstra uma boa sensibilidade para meningite bacteriana, porém a baixa especificidade eleva o número de internações desnecessárias.

No Brasil, Mekitarian Filho et al.,⁽⁷⁾ também demonstraram ótima sensibilidade usando o BMS nas crianças com meningite admitidas no Hospital Universitário da Universidade de São Paulo, São Paulo (SP), observando sensibilidade e valor preditivo negativo de 100% com o referido escore. No entanto, ainda é escassa a quantidade de estudos brasileiros e internacionais realizados em hospitais privados, o que pode gerar controvérsia dos dados, pela maior quantidade de exames pedidos e precocidade com que o paciente procura o serviço de saúde.

Nesse estudo, avaliamos o BMS de 1 ponto em 345 pacientes em um hospital privado de São Paulo e obtivemos sensibilidade de 100% e especificidade de 64,2%, o que condiz com a realidade dos outros estudos apresentados, porém com um índice Kappa de baixa confiabilidade (0,07), muito provavelmente pela baixa prevalência de meningite bacteriana (2%). Esta baixa prevalência se deve à vacinação e aproxima este serviço do de países desenvolvidos, onde a vacina diminuiu drasticamente a incidência de meningite bacteriana.⁽²⁻⁸⁾

Na mesma linha de raciocínio para distinguir meningite asséptica da bacteriana, temos os estudos^(21,24-27) que avaliam a pesquisa de enterovírus no liquor, já que a infecção por enterovírus é a principal causa de meningite asséptica. A pesquisa de enterovírus normalmente é feita pela reação em cadeia da polimerase (PCR), que identifica o RNA viral ou pela cultura do vírus. Mais recentemente, é possível realizar a pesquisa através da técnica de *genexpert enterovirus assay* (GXEA), a

qual vem sendo estudada e comparada com a técnica padrão-ouro.^(1,9)

Um grande estudo multicêntrico não evidenciou a coinfeção bacteriana em 735 crianças com PCR documentada para enterovírus,⁽²⁸⁾ o que eleva a segurança de que a pesquisa para enterovírus positiva afasta o diagnóstico de meningite bacteriana. Portanto, os testes rápidos e precisos para a documentação de uma etiologia viral tem um grande potencial de impacto sobre o manejo clínico da meningite asséptica e para reduzir os custos.⁽²⁹⁾

O impacto potencial na gestão da meningite asséptica com a demonstração da PCR para enterovírus foi ilustrada em estudos pediátricos,^(21-27,30) que mostraram que a detecção do enterovírus foi associada à diminuição no tempo de internação^(21-26,30) e redução da duração da antibioticoterapia empírica.^(21,24) Alguns estudos indicaram ainda uma redução dos encargos com a hospitalização.^(24,25)

Nenhum estudo na literatura avaliou o BMS e a pesquisa de enterovírus em conjunto ou em comparação. Dos 121 pacientes com BMS de 1 ponto ou mais, 86 tiveram o enterovírus detectado, o que poderia reduzir as internações em até 71%, já que os pacientes com enterovírus não necessitariam de antibioticoterapia endovenosa.

A pesquisa de enterovírus não é muito difundida no Brasil, mesmo em serviços privados, por ser um exame com custo elevado. Porém, se avaliarmos o provável benefício em reduzir internações, provavelmente o custo com o exame seria benéfico. O uso da pesquisa com enterovírus não reduziria totalmente as internações, pois poderiam ocorrer casos de meningite por enterovírus que precisassem de internação para controlar os sintomas, como vômitos e cefaleia, porém diminuiria as internações para antibioticoterapia empírica, a qual deve durar no mínimo 48 horas para resultados de culturas.

Ao associarmos o escore com a pesquisa, temos sensibilidade de 100% e especificidade maior do que quando usamos a pesquisa isolada, com valor de 89,6%. O índice de Kappa não tem boa confiabilidade, com valor de 0,26, porém é o início para sugerir novas pesquisas com uma amostra maior de pacientes.

CONCLUSÃO

A pesquisa de enterovírus no líquido cefalorraquidiano mostrou-se eficaz em diferenciar a meningite bacteriana da viral, acarretando provável queda da taxa de internação hospitalar, uso de antibióticos desnecessários e custos. Analisada em conjunto ao *Bacterial Meningitis Score*, houve melhora da especificidade em comparação ao *Bacterial Meningitis Score* isolado.

AGRADECIMENTOS

Ao Hospital Israelita Albert Einstein, pelo apoio e incentivo dado à pesquisa.

REFERÊNCIAS

- Giulieri SG, Chapuis-Taillard C, Manuel O, Hugli O, Pinget C, Wasserfallen JB, et al. Rapid detection of enterovirus in cerebrospinal fluid by a fully-automated PCR assay is associated with improved management of aseptic meningitis in adult patients. *J Clin Virol*. 2015;62:58-62.
- Nigrovic LE, Malley R, Kuppermann N. Meta-analysis of bacterial meningitis score validation studies. *Arch Dis Child*. 2012;97(9):799-805. Review.
- Schuchat A, Robinson K, Wenger JD, Harrison LH, Farley M, Reingold AL, et al. Bacterial meningitis in the United States in 1995. Active Surveillance Team. *N Engl J Med*. 1997;337(14):970-6.
- Peltola H, Salo E, Saxén H. Incidence of Haemophilus influenzae type b meningitis during 18 years of vaccine use: observational study using routine hospital data. *BMJ*. 2005;330(7481):18-9.
- Black S, Shinefield H, Fireman B, Lewis E, Ray P, Hansen JR, et al. Efficacy, safety and immunogenicity of heptavalent pneumococcal conjugate vaccine in children. Northern California Kaiser Permanente Vaccine Study Center Group. *Pediatr Infect Dis J*. 2000;19(3):187-95.
- Black S, Shinefield H, Baxter R, Austrian R, Bracken L, Hansen J, et al. Postlicensure surveillance for pneumococcal invasive disease after use of heptavalent pneumococcal conjugate vaccine in Northern California Kaiser Permanente. *Pediatr Infect Dis J*. 2004;23(6):485-9.
- Mekitarian Filho E, Horita SM, Gilio AE, Alves AC, Nigrovic LE. The bacterial meningitis score to distinguish bacterial from aseptic meningitis in children from São Paulo, Brazil. *Pediatr Infect Dis J*. 2013;32(9):1026-9.
- Sadarangani M, Willis L, Kadambari S, Gormley S, Young Z, Beckley R, et al. Childhood meningitis in the conjugate vaccine era: a prospective cohort study. *Arch Dis Child*. 2015;100(3):292-4.
- Hong J, Kim A, Hwang S, Cheon DS, Kim JH, Lee JW, et al. Comparison of the genexpert enterovirus assay (GXEA) with real-time one step RT-PCR for the detection of enteroviral RNA in the cerebrospinal fluid of patients with meningitis. *Virol J*. 2015;12:27.
- Tunkel AR, Hartman BJ, Kaplan SL, Kaufman BA, Roos KL, Scheld WM, et al. Practice guidelines for the management of bacterial meningitis. *Clin Infect Dis*. 2004;39(9):1267-84.
- Archimbaud C, Chambon M, Bailly JL, Petit I, Henquell C, Mirand A, et al. Impact of rapid enterovirus molecular diagnosis on the management of infants, children, and adults with aseptic meningitis. *J Med Virol*. 2009;81(1):42-8.
- Alpern ER, Alessandrini EA, Bell LM, Shaw KN, McGowan KL. Occult bacteremia from a pediatric emergency department: current prevalence, time to detection, and outcome. *Pediatrics*. 2000;106(3):505-11.
- McGowan KL, Foster JA, Coffin SE. Outpatient pediatric blood cultures: time to positivity. *Pediatrics*. 2000;106(2 Pt 1):251-5.
- Neuman MI, Harper MB. Time to positivity of blood cultures for children with Streptococcus pneumoniae bacteremia. *Clin Infect Dis*. 2001;33(8):1324-8.
- Nigrovic LE, Kuppermann N, Malley R. Development and validation of a multivariable predictive model to distinguish bacterial from aseptic meningitis in children in the post-Haemophilus influenzae era. *Pediatrics*. 2002;110(4):712-9.
- Abzug MJ. Presentation, diagnosis, and management of enterovirus infections in neonates. *Paediatr Drugs*. 2004;6(1):1-10. Review.
- Ginocchio CC, Zhang F, Malhotra A, Manji R, Sillekens P, Foolen H, et al. Development, technical performance, and clinical evaluation of a NucliSens basic kit application for detection of enterovirus RNA in cerebrospinal fluid. *J Clin Microbiol*. 2005;43(6):2616-23.
- King RL, Lorch SA, Cohen DM, Hodinka RL, Cohn KA, Shah SS. Routine cerebrospinal fluid enterovirus polymerase chain reaction testing reduces hospitalization and antibiotic use for infants 90 days of age or younger. *Pediatrics*. 2007;120(3):489-96.
- Nolte FS. Case studies in cost effectiveness of molecular diagnostic for infectious diseases: pulmonary tuberculosis, enteroviral meningitis, and BK virus nephropathy. *Clin Infect Dis*. 2006;43(11):1463-7.
- Parasuraman TV, Frenia K, Romero J. Enteroviral meningitis. Cost of illness and considerations for the economic evaluation of potential therapies. *Pharmacoeconomics*. 2001;19(1):3-12. Review.
- Ramers C, Billman G, Hartin M, Ho S, Sawyer MH. Impact of a diagnostic cerebrospinal fluid enterovirus polymerase chain reaction test on patient management. *JAMA*. 2000;283(20):2680-5.
- Ninove L, Tan C, Nougairède A, Zandotti C, Richet H, Charrel R, et al. Impact of diagnostic procedures on patient management and hospitalization cost during the 2000 and 2005 enterovirus epidemics in Marseilles, France. *Clin Microbiol Infect*. 2010;16(6):651-6.
- Altman DG. *Practical Statistics for Medical Research*. United Kingdom: CRC Press; 1990.
- Robinson CC, Willis M, Meagher A, Gieseker KE, Rotbart H, Glodé MP. Impact of rapid polymerase chain reaction results on management of pediatric patients with enteroviral meningitis. *Pediatr Infect Dis J*. 2002;21(4):283-6.
- Hamilton MS, Jackson MA, Abel D. Clinical utility of polymerase chain reaction testing for enteroviral meningitis. *Pediatr Infect Dis J*. 1999;18(6):533-7.
- Marshall GS, Hauck MA, Buck G, Rabalais GP. Potential cost savings through rapid diagnosis of enteroviral meningitis. *Pediatr Infect Dis J*. 1997;16(11):1086-7.
- Spicher VM, Berclaz PY, Cheseaux JJ, Morandi PA, Suter S, Wunderli W, et al. Detection of enteroviruses in the cerebrospinal fluid by polymerase chain reaction: prospective study of impact on the management of hospitalized children. *Clin Pediatr (Phila)*. 2000;39(4):203-8.
- Nigrovic LE, Malley R, Agrawal D, Kuppermann N; Pediatric Emergency Medicine Collaborative Research Committee of the American Academy of Pediatrics. Low risk of bacterial meningitis in children with a positive enteroviral polymerase chain reaction test result. *Clin Infect Dis*. 2010;51(10):1221-2.
- Nigrovic LE, Chiang VW. Cost analysis of enteroviral polymerase chain reaction in infants with fever and cerebrospinal fluid pleocytosis. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2000;154(8):817-21.
- Carrasco Fernández JR, Gómez-Pastrana D, Alados Arboledas JC, Aragón Fernández C, Ortiz Tardío J. [Impact of introducing an enterovirus polymerase chain reaction in the management of aseptic meningitis]. *An Pediatr (Barc)*. 2015;82(1):e26-9. Spanish.