

SÍNDROME DE MENINGITE ASSÉPTICA. ESCLARECIMENTO ETIOLÓGICO DE ALGUNS CASOS NA CIDADE DE SÃO PAULO. CONSIDERAÇÕES CLÍNICO-LABORATORIAIS

Cid Vieira Franco de GODOY⁽⁴⁻²⁾, Renato Piza de Souza CARVALHO⁽³⁾, Elfried KIRCHNER⁽¹⁾, Octávio Augusto de Carvalho PEREIRA⁽⁴⁾ e Armando de AGUIAR PUPO⁽²⁻⁵⁾

RESUMO

Descrevem os Autores, tentativas de isolamento de vírus em 40 casos clínicos de meningite asséptica internados no Hospital de Isolamento Emílio Ribas (São Paulo) durante o primeiro semestre de 1964. Em 10 dos casos (25% dos estudados) foi positivo o isolamento de poliovírus, sendo que em um caso foram isolados, associados, dois vírus: Pólio 2 e Coxsackie A13. Não se isolaram outros vírus tidos como agentes freqüentes de meningite asséptica. Estes resultados tornam-se bastante significativos em face da ocorrência de maior incidência de casos de poliomielite paralítica na Cidade de São Paulo, durante o período de colheita do material para o presente estudo. Em três dos 10 casos citados, registraram-se títulos sorológicos sugestivos para o agente isolado; em 4 casos verificou-se, durante a evolução clínica, presença de paresias e paralisias, quadro neurológico este compatível com a fase de comprometimento de neurônio motor periférico de poliomielite anterior aguda, sem comprovação sorológica significativa e, em dois casos, não foi possível a confirmação da etiologia pelos poliovírus isolados, quer por dosagens de anticorpos séricos, quer pela correlação com quadro clínico sugestivo. Em um caso foi o quadro clínico compatível com o vírus isolado, porém não se coletou material para dosagem de anticorpos. Descrevem os Autores sucintamente, fazendo a correlação clínico-laboratorial, os casos estudados.

INTRODUÇÃO

A síndrome de meningite asséptica (SMA), descrita como ocorrência freqüente por RHODES & VAN ROOYEN²⁵, DAVIS & MELNICK¹⁰ e muitos outros, é conceituada por êsses Autores como sendo meningite de evolução benigna, com predominância de célu-

las linfocitárias no líquido e de etiologia presumivelmente a vírus.

DAVIS & MELNICK¹⁰ definem a SMA como "moléstia aguda febril, com sinais clínicos de irritação meníngeana, acompanhados de pleiocitose do líquido cefalorraqui-

- (1) Instrutor da Cadeira de Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (Prof. Carlos da Silva Lacaz) e do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo (Prof. Antônio Dácio Franco do Amaral), São Paulo, Brasil
- (2) Médico do Corpo Clínico do Hospital de Isolamento Emílio Ribas, São Paulo, Brasil
- (3) Livre-Docente de Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, Brasil
- (4) Professor-Assistente da Cadeira de Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, Brasil
- (5) Médico-Assistente da 1ª Clínica Médica (Prof. Antônio Barros de Ulhôa Cintra) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Brasil

diano, apresentando-se normais as taxas de glicose e negativos os exames bacteriológicos”.

A etiologia da SMA tem sido estudada por numerosos Autores, seja através do isolamento de vírus, seja através de provas sorológicas. Com a finalidade de situar a referida questão, citaremos a seguir, alguns trabalhos.

DAVIS & MELNICK¹⁰, GARD¹⁴, NAKAO²³ e outros apontam os enterovírus, e em particular os poliovírus, como principais agentes etiológicos da SMA. Tais quadros clínicos são conhecidos na literatura médica como “poliomielite não paralítica”.

Os vírus Coxsackie descritos inicialmente por DALDORF & SICKLES⁸, foram em várias ocasiões responsabilizados por pequenos surtos e por casos isolados de meningites assépticas^{5, 7, 11, 15, 16, 17, 18, 19, 24, 26}.

Vírus ECHO de vários tipos sorológicos foram também encontrados associados a quadros clínicos de meningite asséptica por diversos Autores^{2, 5, 9, 12, 13, 17, 18, 19, 20, 24, 27}.

MEYER & col.²⁰, num estudo que envolveu 231 casos clínicos de SMA, com esclarecimento etiológico de 131 casos (55%), apontam os seguintes vírus, além dos já citados, como agentes etiológicos da síndrome em causa: caxumba, coriomeningite linfocitária, herpes simples e arbovírus.

No estudo de 330 casos de afecções neurológicas supostamente a vírus, a equipe do Colindale Diagnostic Laboratory⁶ estabeleceu a etiologia em 64 casos (20%) através de isolamento e comprovação sorológica, como segue: poliovírus tipo I, 60 casos; Coxsackie B, 3 casos; herpes simples, 1 caso.

Entre nós GOES¹⁵, CARVALHO³ e SILVA²⁶ estabeleceram a relação entre enterovírus e casos clínicos de meningite asséptica, o primeiro com relação aos vírus Coxsackie e os dois últimos com relação ao poliovírus.

A ocorrência da SMA em nosso meio é bastante freqüente, como se pode verificar pelo levantamento do material clínico da enfermaria de meningites do Hospital de Isolamento Emílio Ribas (H.I.E.R.) em São Paulo: em 1964 foram internados 776 casos de meningite, sendo 523 (67,5%) purulentas bacterianas e 253 (32,5%) meningites linfocitárias. Destas, 110 (14,0%) foram

diagnosticadas como neurotuberculose e 143 (18,5%) consideradas meningites linfocitárias benignas de etiologia provavelmente a vírus (Tabela I).

O presente trabalho, que envolve o estudo de 40 destes 143 casos, tem por objetivo, através do isolamento de vírus e comprovação sorológica, a verificação do papel de alguns vírus como agentes de SMA em nosso meio.

MATERIAL E MÉTODOS

Casos clínicos — Dos 143 casos internados no H.I.E.R. durante o ano de 1964, rotulados clínica e líquoricamente como SMA, foram estudados 40, ocorridos no 1.º semestre.

Material para isolamento — De cada paciente foi colhida uma amostra de fezes e uma de líquor, o mais precocemente possível após a consulta de internação. Suspensões de fezes a 20% foram centrifugadas e tratadas por antibióticos (CARVALHO³) e a seguir congeladas a -50°C até o momento do uso.

As amostras de líquor, colhidas com cuidados de assepsia, foram estocadas nas mesmas condições, sem qualquer tratamento prévio.

TABELA I

Meningites internadas no H.I.E.R. em 1964 *

Etiologia	Nº de casos
Bacterianas	523 (67,5%)
Linfocitárias por bacilo da tuberculose	110 (14,0%)
Linfocitárias benignas (provável origem a vírus)	143 (18,5%)
Total geral	776 (100,0%)

* Levantamento feito por PUPO, A. A.; BALLAR, N.; GODOY, C. V. F.; RIBEIRO, A. J. & CASTELLÕES, M., do Grupo de Meningites do H.I.E.R.

Soros — Foram colhidas, sempre que possível, duas amostras de soro, nas fases aguda e de convalescença. Em alguns casos os pacientes tiveram alta sem que houvesse sido colhida a segunda amostra e em outros, essa segunda amostra foi colhida à consulta de retorno, cerca de 30 dias após a alta.

Os soros colhidos e separados assépticamente foram congelados a -20°C até o momento do uso.

Linhagens de células — Foram utilizadas as células de linhagem contínua HeLa, âmion humano AV-3, BS-C-1 e BHK_{C13}.

Vírus padrões — Enterovírus: vírus de poliomielite tipos 1, 2 (título 10^{-4}) e tipo 3 (título 10^{-5}), cultivados em células HeLa, recebidos dos Connaught Medical Research Laboratories, University of Toronto, Canadá. Vírus Cocksackie A-13 (título 10^{-7}), cultivado em células A.H. AV-3, recebido do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil.

O vírus da encefalite eqüina oeste foi cedido pelo Instituto de Microbiologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Além destes, foram empregadas no trabalho amostras-protótipos do Belém-Virus Laboratory, da Rockefeller Foundation, dos vírus da encefalite eqüina leste e mucambo (Grupo A); febre amarela e encefalite de St. Louis (Grupo B); Murutucu (Grupo C).

Soros-padrões — Preparados no Departamento de Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo:

soro antivírus da pólio tipo 1 — n.º 22, 9/6/1960 — 1/32

soro antivírus da pólio tipo 2 — n.º 24, 9/6/1960 — 1/25

soro antivírus da pólio tipo 3 — n.º 25, 9/6/1960 — 1/4.

Camundongos recém-nascidos — Do Biotério da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Isolamento — Cada amostra de líquido e fezes foi inoculada em células das linhagens HeLa, BS-C-1 e BHK_{C13} e em camundon-

gos recém-nascidos, por via intracerebral; algumas o foram também por via intraperitoneal. Tanto as culturas celulares como os camundongos inoculados, foram observados durante 15 dias e se fizeram três passagens "cegas" antes que o material fosse dado como negativo.

Sorologia — Em relação aos enterovírus foi realizada apenas a sorologia correspondente aos vírus isolados, tendo sido empregada a técnica de neutralização em cultura de células (CARVALHO¹³).

A sorologia para arbovírus foi realizada em todos os casos em que haviam sido colhidas duas amostras de soro. Foi empregada a técnica de inibição da hemaglutinação descrita por CLARKE & CASALS⁴ modificada, em placas especiais segundo MONTEIRO & PEREIRA²².

RESULTADOS

Isolamento — Foram isolados vírus de 10 pacientes entre os 40 estudados:

de 4 pacientes foi isolado o vírus da pólio tipo 1;

de 4 pacientes foi isolado o vírus da pólio tipo 2;

de 1 paciente foi isolado o vírus da pólio tipo 3;

de 1 paciente foram isolados dois vírus: da pólio tipo 2 e Cocksackie A-13.

Todos os isolamentos foram conseguidos em cultura de tecido em linhagem HeLa e, algumas vezes, também em linhagem BHK_{C13}. Em geral foram necessárias várias passagens (três ou quatro) para que se manifestasse o efeito citopático característico. A linhagem HeLa mostrou-se superior à célula diplóide de rim de "hamster" BHK_{C13} e à de rim de macaco BS-C-1, para o isolamento de vírus. Todos os isolamentos com exceção de um caso, foram feitos a partir de fezes. Apenas em um dos 40 casos estudados foi positivo o achado de vírus no líquido.

Sorologia — A dosagem de anticorpos por reação de neutralização em cultura de tecido permitiu, em alguns casos, confirmar a etiologia do processo pelo agente isolado.

GODOY, C. V. F. de; CARVALHO, R. P. de S.; KIRCHNER, E.; PEREIRA, O. A. de C. & PUPO, A. de A. — Síndrome de meningite asséptica. Esclarecimento etiológico de alguns casos na cidade de São Paulo. Considerações clínico-laboratoriais. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 9:213-221, 1967.

TABELA II Correlação clínico-laboratorial dos casos com isolamento de vírus

Nome	Sexo	Idade	Cór	Dias *	QUADRO CLÍNICO				
					Rigidez de nuca	Convulsões	Coma	Complicação neurológica durante a internação	Medicação
1. OELG	♂	9 m	b	8	Discreta	Presentes	—	—	Penicilina Cloranfenicol Sulfadiazina
2. CAL	♂	15 m	pd	3	Nítida	—	Leve ou superficial	Paralisia MSD e estrabismo	Penicilina Cloranfenicol Rovamicina Corticóide
3. LRSM	♂	13 a	b	1	Discreta	—	—	—	Corticóide
4. SLC	♀	11 m	b	3	Discreta	—	—	Paralisia flácida	Rovamicina
5. WRSO	♂	13 m	b	4	Discreta	—	—	Paralisia flácida MID	Rovamicina
6. JCS	♂	6 m	b	5	Acentuada	Presentes	Leve ou superficial	Hipotonia, arreflexia e estrabismo	Penicilina Cloranfenicol Sulfadiazina Corticóide
7. AC	♂	20 m	b	8	Nítida	Presentes	Superficial	Sonolência acentuada; hiporreflexia; hipertonia MSE	Estreptomicona + Hidrazida Corticóide
8. FEF	♀	17 m	b	8	Discreta	—	—	Paralisia flácida MID	Rovamicina
9. AMC	♀	6 a	b	1	Nítida	—	—	—	Penicilina Cloranfenicol Sulfa
10. VO	♂	12 a	b	4	Nítida	—	—	—	Penicilina Cloranfenicol Sulfadiazina

m — meses b — branco * — dias decorridos do início dos sintomas até
a — anos pd — pardo internação

GODOY, C. V. F. de; CARVALHO, R. P. de S.; KIRCHNER, E.; PEREIRA, O. A. de C. & PUPO, A. de A. — Síndrome de meningite asséptica. Esclarecimento etiológico de alguns casos na cidade de São Paulo. Considerações clínico-laboratoriais. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 9:213-221, 1967.

Permanência (dias)	Retôrno (seqüelas)	EXAMES DO LÍQUOR				PESQUISA DE VÍRUS			
		Químico (mg %)		Citológico		Isolamento		Sorologia (testes de neutralização)	
		Glicose	Proteínas	Células/mm ³	% Mono-nucleares	Líquor	Fezes	1ª amostra	2ª amostra
6	69º dia sem seqüelas	33	28	400	96	—	Pólio II Coxsackie A13 (19º dia)	1/4 1/4 (19º dia)	1/256 1/4 (69º dia)
17	20º dia sem seqüelas	58	31	110	100	—	Pólio I (5º dia)	1/256 (5º dia)	1/512 (17º dia)
3	Sem seqüelas à alta	35	40	320	95	Pólio I	Não se fez	1/32 (2º dia)	1/64 (16º dia)
8	Paralisia MID e MIE, 10º dia	22	37	185	98	—	Pólio II (1º dia)	1/2048 (1º dia)	Não foi colhida
8	Paralisia MID, 12º dia	37	37	70	100	—	Pólio I (1º dia)	1/64 (2º dia)	Não foi colhida
16	Tetraplegia, 24º dia	28	96	165	100	—	Pólio III (6º dia)	Não foram colhidas devido ao estado grave do paciente	
14	A alta, hipertonia generalizada, estrabismo	38	28	15	100	—	Pólio II (14º dia)	—	Negativo (24º dia)
8	Paralisia MID, 16º dia	29	39	80	100	Não se fez	Pólio II (1º dia)	1/2048 (1º dia)	Não foi colhida
9	Sem seqüelas 32º dia	29	96	248	97	—	Pólio II (8º dia)	1/4 (7º dia)	1/4 (32º dia)
12	Sem seqüelas 20º dia	38	33	140	100	—	Pólio II	1/16 (11º dia)	Não se fez

MID, MIE — membro inferior direito e esquerdo
MSD, MSE — membro superior direito e esquerdo

Assim, dos quatro pacientes dos quais se isolaram vírus da pólio tipo 1, em dois houve título elevado nas primeiras e segundas amostras (1/256 e 1/512; 1/32 e 1/64). Nos dois outros casos, dosadas apenas as primeiras amostras (fase aguda), obtiveram-se títulos de 1/16 e 1/64. Dos quatro casos de isolamento de pólio do tipo 2, um apresentou em amostra única colhida, título superior a 1/2048; um caso apresentou título 1/16 na única amostra colhida no período agudo; um caso apresentou títulos 1/4 nas duas amostras e, finalmente, no último caso foram negativas as duas amostras.

No caso de isolamento por pólio 3 não foi realizada dosagem de anticorpos por não ter sido colhido material.

No caso em que houve isolamento de dois agentes, tipados como pólio 2 e coxsackie A-13, a prova de neutralização revelou, para as duas amostras com vírus coxsackie A-13 título 1/4, ao passo que para o vírus da pólio 2 os títulos foram de 1/4 e 1/256 para a 1ª e 2ª amostras, respectivamente.

A pesquisa de anticorpos inibidores da hemaglutinação para arbovírus dos grupos A, B e C não revelou qualquer aumento significativo nas amostras de sangue colhidas durante o decorrer da infecção.

DISCUSSÃO

Do total de 143 casos de SMA internados no H.I.E.R. em 1964, foram estudados 40 casos, todos ocorridos no 1.º semestre.

Dos 40 pacientes com estudo clínico e pesquisa de vírus, foram isolados vírus de 10 casos, ou seja, 25%. Esta percentagem de isolamento corresponde àquela conseguida por outros pesquisadores como MEYER & col.²⁰ e o grupo do COLINDALE DIAGNOSTIC LABORATORY⁹.

Dos 10 pacientes em que foi positivo o isolamento, todos os agentes foram identificados como pólio vírus, apresentando um dos casos concomitância de vírus pólio 2 e coxsackie A-13. Não foram isolados outros vírus descritos como produtores do quadro de meningite asséptica como: ECHO, Herpes e C.M.L. e outros, embora se tenha utilizado, além de culturas celulares de três

linhagens diferentes, a inoculação em lotes de camundongos recém-nascidos.

O isolamento praticamente exclusivo de pólio vírus pode ser justificado, a nosso ver, pelos fatores seguintes: (1) grande prevalência deste vírus em nosso meio, sendo possivelmente responsável por grande número de casos de síndrome de meningite asséptica; (2) aumento pronunciado da incidência de casos clínicos de poliomielite parálitica na Cidade de São Paulo no 1.º semestre de 1964 (Tabela III), o que justificaria a maior incidência de quadros meníngeanos produzidos por poliovírus; (3) maior resistência e período de eliminação mais prolongado do vírus de pólio pelo paciente, facilitando o isolamento deste agente e tornando menos provável o isolamento de outros vírus, já que em numerosas ocasiões o material foi colhido vários dias após o desencadeamento do quadro clínico.

TABELA III

Casos de pólio aguda ocorridos na cidade de São Paulo *

Mes	ANO	
	1963	1964
Janeiro	43	78
Fevereiro	43	58
Março	47	49
Abril	33	43
Maió	30	38
Junho	18	21
Julho	25	17
Agosto	33	17
Setembro	34	6
Outubro	67	11
Novembro	60	7
Dezembro	84	9
Total	517	354

* Dados da Seção de Epidemiologia e Profilaxia Gerais do Departamento de Saúde da Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo, por gentileza do Dr. JOSÉ ANTONIO ALVES DOS SANTOS.

Nos pacientes em que o isolamento de vírus foi conseguido, estabelecemos relação entre os casos clínicos que julgamos mais

importantes e os resultados da sorologia (Tabela II).

Os isolamentos de vírus foram obtidos a partir de fezes, com uma única exceção, em que um poliovírus foi isolado do líquor. Como a eliminação de vírus pelas fezes pode se prolongar por períodos longos, independentemente do quadro clínico, procuramos estabelecer comprovação sorológica, em cada caso.

Em três dos casos com isolamento de poliovírus (pacientes O.E.L.G., C.A.L. e L.R.S.M.) houve comprovação sorológica sugestiva, sendo que num destes casos (L.R.S.M.) o isolamento do vírus foi feito a partir do líquor e em outro paciente (O.E.L.G.), houve isolamento concomitante de dois agentes (coxsackie A-13 e pólio 2), porém, com comprovação sorológica apenas para um deles (pólio 2).

Quatro pacientes (W.R.S.O., F.E.F., J.C.S. e S.L.C.) apresentaram paralisias na evolução clínica, compatível com a etiologia pelos vírus isolados. Em três casos a sorologia foi positiva na única amostra de soro colhida, com títulos 1/2048, 1/64 e 1/16, respectivamente. No 4.º caso (S.L.C.) não foi colhido soro para dosagem de anticorpos.

No caso A.C., a única amostra de soro colhida não demonstrou anticorpos antivírus da pólio 2, isolado, tendo o quadro clínico evoluído para meningoencefalite, após início de SMA.

Este caso nos parece inconclusivo, embora não haja incompatibilidade entre os dados clínicos e o vírus isolado, uma vez que poliovírus já foram relacionados a quadros de meningoencefalite (BERGAMINI & col.¹).

Finalmente, em dois casos (pacientes A.M.C. e V.O.) não houve evidência sorológica ou dados clínicos que permitissem atribuir a etiologia do processo aos poliovírus isolados.

O estudo das observações clínicas mostrou que cinco dos pacientes em que houve isolamento do poliovírus, apresentaram quadros de paresias e diminuição dos reflexos osteotendinosos, sendo que em quatro destes persistiram seqüelas.

Nos demais cinco casos com isolamento de enterovírus, não houve qualquer comprometimento da motilidade, sendo a evolução benigna, sem seqüelas.

Os casos em que houve demonstração da presença de vírus apresentaram, ao exame líquórico, características, já descritas, compatíveis com processo de meningite a vírus: pleiocitose moderada, não ultrapassando 400 células por mm³, à custa principalmente de mononucleares, com taxas de glicose normais ou discretamente diminuídas e proteínas normais ou com discreta elevação.

O quadro clínico inicial nos 10 pacientes em que houve isolamento, foi idêntico aos apresentados pelos demais 30 casos estudados, sem isolamento de vírus, traduzido por início abrupto com febre, vômitos e presença freqüente de convulsões, principalmente tratando-se de crianças. Dêstes 30 casos, a maioria apresentou quadro clínico benigno, com evolução de poucos dias, sem seqüelas. O líquor, compatível com a SMA, caracterizou-se por pleiocitose moderada, com predominância de mononucleares e taxas normais ou praticamente normais de glicose e proteínas. Apenas em quatro casos houve complicações neurológicas com seqüelas.

O estudo sorológico através de reação de inibição de hemaglutinação para arbovírus, não demonstrou aumento significativo de anticorpos nas amostras colhidas dos 40 pacientes do presente estudo.

SUMMARY

Aseptic meningitis. Etiological study, with clinical correlation of cases in the State of São Paulo

Tentatives of isolating viruses in 40 clinical cases of "aseptic meningitis", treated at an infectious diseases hospital in São Paulo — Hospital de Isolamento Emílio Ribas — within the first semester of 1964, are described.

Poliovirus was isolated in 10 of the 40 cases studied (25 per cent), and from one patient, the Authors obtained a mixture of two agents: Polio 2 and Coxsackie A13. During this period, an increase in the incidence of clinical cases of poliomyelitis was observed in the city of São Paulo. Among the 10 cases with successful isolation of virus, 3 had suggestive titers of serum antibodies, 4 with positive titers in the only

serum sample collected, presented clinical features of neurological poliovirus affections, and in 2 cases the confirmation of the etiological relation of the poliovirus isolated to the clinical picture could not be obtained either by serology or suggestive clinical features. In one case, serum was not collected for antibody titration.

A succinct correlative clinical-laboratorial study of the cases is presented.

A G R A D E C I M E N T O S

Os Autores agradecem aos médicos do corpo clínico do Hospital de Isolamento Emílio Ribas (Diretor: Dr. Octavio Martins de Toledo) a colaboração na obtenção do material para este estudo e ao Instituto Adolfo Lutz (Diretor: Dr. Ariosto Büller Souto) pela realização dos exames bacteriológicos, químicos e citológicos das amostras de líquido.

R E F E R Ê N C I A S B I B L I O G R Á F I C A S

1. BERGAMINI, F.; GIANELLI, F. & PROFETA, M. L. — Contributo allo studio della eziologia delle encefalite de enterovirus: dati virologici e clinici intorno a 120 casi studiati tra il 1959 e il 1963. *Boll. Ist. Sieroter. Milan.* 44:387-397, 1965.
2. BOISSARD, G. P. B.; NACRAE, A. D.; STOKES, J. L. & McCOLLUM, F. O. — Isolation of viruses related to ECHO virus type 9 from outbreaks of aseptic meningitis. *Lancet* 1:500-502, 1957.
3. CARVALHO, R. P. de S. — Contribuição para o estudo dos enterovirus. Tese de docência apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 1965. *Folia Clin. Biol. (São Paulo)* 35:1-47, 1966.
4. CLARKE, D. H. & CASALS, J. — Techniques for hemagglutination and hemagglutination-inhibition with arthropod-borne viruses. *Amer. J. Trop. Med. & Hyg.* 7:561-573, 1958.
5. CLARKE, M.; HUNTER, M.; McNAUGHTON, G. A.; von LEYDLITZ, D. & RHODES, A. J. — Seasonal aseptic meningitis caused by Coxsackie and ECHO viruses, Toronto, 1957. *Canad. Med. Ass. J.* 81:5-8, 1959.
6. COLINDALE DIAGNOSTIC LABORATORY — Investigations of suspected infections of the central nervous system over a period of six months in the Diagnostic Laboratory,

- Colindale (May-October, 1959). In Ciba Foundation Study Group on "Virus meningoencephalitis". New York, Churchill, p. 12, 1961.
7. DALDORF, G. — The Coxsackie viruses. *Bull. N.Y. Acad. Med.* 26:329-335, 1950.
 8. DALDORF, G. & SICKLES, G. M. — An unidentified filtrable agent isolated from the feces of children with paralysis. *Science* 108:61-62, 1948.
 9. DAVIS, D. C. & MELNICK, J. L. — Association of ECHO virus type 6 with aseptic meningitis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 92:839-843, 1956.
 10. DAVIS, D. C. & MELNICK, J. L. — Poliomyelitis and aseptic meningitis. A two year field and laboratory study in Connecticut. *J. Lab. Clin. Med.* 51:97-117, 1958.
 11. DUNCAN, D. A.; RHODES, A. J.; McNAUGHTON, G. A.; JOHNSON, C. C. R. & WOOD, W. — Aseptic meningitis: isolation of coxsackie and unidentified cytopathogenic viruses from cerebrospinal fluid by tissue culture methods. *Canad. J. Public Health* 46:1-8, 1955.
 12. ELVIN-LEWIS, M. & MELNICK, J. L. — ECHO 11 virus associated with aseptic meningitis. *Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.)* 102/103:647-649, 1959.
 13. FAULKNER, R. S. & OZERE, R. L. — Aseptic meningitis due to type 19 ECHO virus infection. *New Eng. J. Med.* 263:551-552, 1960.
 14. GARD, S. — The etiology of acute aseptic meningitis (Wallgren). *Acta Paediat.* 43:54-64, 1954.
 15. GOES, P.; VASCONCELLOS, J. V.; SCHWARTZ, N. M.; GOLDGHEID, R. & TRAVASSOS, J. — Ocorrência de virus coxsackie no Rio de Janeiro. VI — Isolamento do virus em síndromes neurológicas. *An. Microbiol. (Rio)* 3:125-137, 1954-1955.
 16. HABEL, K.; SILVERBERY, R. J. & SHELOKOV, A. — Isolation of enteric viruses from cases of aseptic meningitis. *Ann. New York Acad. Sc.* 67:223-229, 1957.
 17. HUMMLER, K.; KIRK, D. & OSTAPINK, M. — Aseptic meningitis caused by Coxsackie virus with isolation of virus from cerebrospinal fluid. *J. Amer. Med. Ass.* 156:676-679, 1954.
 18. KIRBY, W. M. M. & EVANS, C. A. — Tissue culture isolation of coxsackie group B viruses in aseptic meningitis. *J.A.M.A.* 159:743-746, 1955.

GODOY, C. V. F. de; CARVALHO, R. P. de S.; KIRCHNER, E.; PEREIRA, O. A. de C. & PUPO, A. de A. — Síndrome de meningite asséptica. Esclarecimento etiológico de alguns casos na cidade de São Paulo. Considerações clínico-laboratoriais. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 9:213-221, 1967.

19. McLEOD, D. L.; BEALE, A. G.; McNAUGHTON, G. A. & RHODES, A. J. — Clinical features of aseptic meningitis caused by Coxsackie B virus. *Lancet* 2:701-703, 1956.
20. MEYER Jr., H. M.; JOHNSON, R. T.; CRAWFORD, F. P.; DASCOMB, H. E. & ROGERS, N. G. — Central nervous system syndroms of viral etiology. A study of 713 cases. *Amer. J. Med.* 29:334-347, 1960.
21. MEYER Jr., H. M.; ROGERS, N. G.; MIESSE, M. L. & CRAWFORD, I. P. — Aseptic meningitis caused by orphan viruses and other agents. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 67:331-337, 1957.
22. MONTEIRO, E. V. L. & PEREIRA, O. A. de C. — "Batoques" de polietileno no preparo de placas para hemaglutinação e fixação do complemento. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 3:209-212, 1961.
23. NAKAO, T. — Clinological study of intestinal virus in acute paralytic polio and aseptic meningitis. *Jap. J. Paediat.* 15:25-30, 1962.
24. PAPPENHEIMER, A. M.; DANIEL, J. B.; CHEEVER, F. S. & WELLER, T. H. — Lesion caused in suckling mice by certain viruses isolated from cases of so called non-paralytic poliomyelitis and pleurodinia. *J. Exp. Med.* 92:169-190, 1950.
25. RHODES, A. J. & van ROOYEN, C. E. — *The etiology of virus (aseptic) meningitis.* In Rhodes & van Rooyen "Textbook of Virology". 4th. edition. Baltimore, Williams & Wilkins, pp. 410-412, 1962.
26. SILVA, N. N.; FERLIN, D.; SANTOS, W. R. & HAAS, I. — Isolamento e tipagem de enterovírus de 72 casos de poliomielite paralítica e 12 casos de meningite asséptica. *Hospital (Rio)* 68:7-11, 1965.
27. STANLEY, N. F.; DORMAN, D. C. & PONSFORD, J. — A hitherto undescribed group of coxsackie viruses associated with an outbreak of encephalitis. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sc.* 31:31-40, 1953.

Recebido para publicação em 30/12/1966.