# Supplementary Appendix

This appendix has been provided by the authors to give readers additional information about their work.

Supplement to: Parra B, Lizarazo J, Jiménez-Arango JA, et al. Guillain-Barré syndrome associated with Zika virus infection in Colombia. N Engl J Med. DOI: 10.1056/NEJMoa1605564

# **Supplementary Appendix**

This appendix has been provided by the authors to give readers additional information about their work

Supplement to: Parra B, Lizarazo J, Jimenez-Arango, J, et al. Guillain-Barré Syndrome Associated with Zika Virus Infection in Colombia.

# **Supplementary Appendices**

## Table of contents

Page	Content
2-3	Table of Contents
	Table of Contonio
4-5	Participating NEAS sites and personnel
6	Supplementary Methods
7-9	Supplementary Tables
	Table S1. Clinical and Demographic Characteristics of Patients with
	Guillain-Barré Syndrome
9-13	Table S2. Clinical and laboratory findings in 68 Guillain-Barré
	Syndrome patients
14	Table S3. ELISA anti-flavivirus response in serum and CSF by ZIKV
	RT-PCR results in GBS cases
15-16	Table S4. RT-PCR result details in the 17 positive GBS cases
17	Table S5. Electromyography and nerve conduction studies
18	Supplementary Figures
	Figure S1. Sample availability for testing

19	Figure S2. PCR Amplification Plots of ZIKV RNA in CSF and Urine
20	Figure S3. ZIKV PCR testing and Cytopathic Effect (CPE) of ZIKV in cell lines cultures
21	Figure S4. Cumulative incidence of Dengue, Chikungunya and Zika viruses in Colombia from 2009 to 2016  Figure S5. Incidence of Dengue, Chikungunya and Zika viruses in
	Colombia per epidemiological week from 2015 to 2016
22-27	NEAS form 1-Clinical and testing information (Spanish version)
28-31	IGOS form A-Initial evaluation (Spanish version)
32	References

#### PARTICIPATING SITES AND PERSONNEL

**Neurovirus Emerging the Americas Study (NEAS) Sites:** 

Universidad del Valle, Cali, Colombia. Investigators: Beatriz Parra, Ph.D; Andrés F. Zea-, M.D., Ph.D; Lyda Osorio, M.D., Ph.D; Collaborators: Liliana Soto, BSc; Melissa Pelaez, BSc; Constanza Nuñez, BSc; Graciela Rengifo, BSc.

Universidad del Valle-Hospital Universitario del Valle, Cali, Colombia.

Investigador: Gonzalo Zuñiga, M.D.

Universidad de Pamplona, Cucuta, Colombia / Hospital Erasmo Meoz, Cucuta Colombia. Investigators: Jairo Lizarazo, M.D. Collaborators: Nancy Bustos.

Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia/ Neuroclínica, Medellín Colombia.

Investigators: Jorge Andrés Jiménez-Arango, M.D; Reydmar Lopez-Gonzalez, M.D.

Universidad Libre, Barranquilla, Colombia/ Clínica Internacional La Misericordia, Barranquilla, Colombia. Investigators: José Vargas, M.D; Maria T. Morales, M.D; Karen H. Rizcala, M.D.

Universidad Surcolombiana, Neiva, Colombia. Investigators Guillermo González-Manrique, M.D; Cindy L. Beltrán, M.D.

Clínica Medilaser, Neiva, Colombia. Investigators: Jorge A. Angarita, M.D;

Collaborators: Diana Patricia Murillo, M.D and Laboratorio Clínica Especializado AIDA

Ascencio SAS.

Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, USA. Investigators: Anupama Kumar, M.B.B.S; David Cornblath, M.D; Laura S. Muñoz, M.D; Paula Barreras, M.D; Carlos A. Pardo, M.D

**Universidad Industrial de Santander\***, Bucaramanga, Colombia. Investigators: Gustavo Pradilla-Ardila, MD;

Fundación Santa Fe de Bogotá\*, Bogotá, Colombia. Investigators: Angela Gomez, MD and Maria Isabel Reyes-Mantilla, MD.

### Partner Collaborator- Instituto Nacional de Salud, Bogotá, Colombia

Instituto Nacional de Salud, Colombia Zika Surveillance Information, Bogota, Colombia. Investigators: Martha Lucia Ospina, M.D. and Oscar Pacheco, M.D. Collaborators: Mauricio Beltrán, MS, Natalia Tolosa, MD, Lizeth Pardo, BS, Angélica Rico, BS, Maritza González, MD, Marcela Mercado, MS, Pablo Chaparro, MD, Mancel Martínez Duran, MD, María Mercedes Muñoz, MD, Esther Cristina Barros, MS, Hernan Quijada, Diana Walteros MD<sup>1</sup>, Javier Madero, RN<sup>1</sup> Claudia Cuéllar, MD, May Osorio, MS, Claudia Hugett, MS.

\*No cases of GBS and ZIKV infection were reported in these Centers during the period up to March 2016.

### **Supplementary Methods**

### Flaviviruses antibody testing

To determine whether GBS cases have history of a recent infection with ZIKV or DENV, the presence of IgG and IgM antibodies (Abs) was examined by ELISA DENV capture assays (Panbio Diagnostics, Australia). The specificity of ZIKV and DENV Abs are indistinguishable with the current ELISA tests due to cross reactivity between flavivirus serocomplexes <sup>1,2</sup>. A definition of recent flavivirus infection (sometime in the past two months) was attained when being IgM or IgG positive in any of the examined fluids. A positive IgG test result is indicative of a recent flavivirus secondary infection, because the assay cut-off in this particular ELISA capture kit is set to detect the increased IgG titers characteristic of an anamnestic antibody response in dengue secondary infections, which are of short duration in serum (< 60 days)<sup>3</sup>.

### Viral cultures

Culture supernatants from C6/36 and VERO cell lines were tested throughout the culture period by ZIKV Real Time RT-PCR and DENV 1-4 nested RT-PCR assays and when exhibiting flavivirus-like cytopathic effects (CPE)<sup>4</sup>. ZIKV positive cultures were harvested and cryopreserved at -80° C once CPE had spread to 90% of the cell monolayers. ZIKV isolates were passaged twice in the same cell lines.

# **Supplementary Tables**

Table S1. Clinical and Demographic Characteristics of Patients with							
Guillain-Barré Syndrome							
Characteristic	n (%) or Median [IQR]						
	22 (122)						
Total patients	68 (100)						
Age (years)	47 [35 - 57]						
Sex (Male)	38 (56)						
Race							
Mestizo	61 (90)						
Afro-Colombian	3 (4)						
Unknown	4 (6)						
City of Report							
Cucuta	28 (41)						
Medellin	15 (22)						
Neiva	11 (16)						

Cali	9 (13)
Barranquilla	5 (7)
General symptoms prior to the onset of GBS	66 (97)
Fever	47 (69)
Rash	40 (59)
Headache	23 (34)
Asthenia	23 (34)
Myalgia	23 (34)
Conjunctivitis	17 (25)
Joint pain	15 (22)
Joint swelling/erythema	11 (16)
Diarrhea	6 (9)
Mean duration of symptoms prior to the onset of	4 [3 - 5]
GBS (days)	
Mean period from onset of prior symptoms to onset of GBS (days)	7 [3 - 10]

Zika Infection Diagnostic Category					
Definite Diagnosis	17 (25)				
Probable Diagnosis	18 (26)				
Suspected Diagnosis	33 (49)				
Neurological Diagnosis					
GBS Brighton criteria Level 1	30 (44)				
GBS Brighton criteria Level 2	26 (38)				
GBS Brighton criteria Level 3	6 (9)				
Miller Fisher Syndrome	4 (6)				
Other GBS variant	2 (3)				

Table S2. Clinical and laboratory findings in 68 Guillain-Barré Syndrome patients					
Variable	n (%) or Median [IQR]				
Neurological Symptoms on admission	n = 68				

Limb weakness	66 (97)
Ascending paralysis	56 (82)
Paresthesias	52 (76)
Facial palsy	22 (32)
Hypoesthesia	13 (19)
Neuropathic pain	8 (12)
Ataxia	3 (4)
Vertigo	3 (4)
Double vision	1 (1)
Neurological Exam	n = 68
Altered mental status*	4 (6)
Respiratory failure	18 (26)
Dysarthria	13 (19)

Cranial Neuropathies (any)	43 (63)
Bilateral Facial Nerve	34 (50)
Bulbar Cranial Nerves	15 (22)
Abducens	4 (6)
Oculomotor	2 (3)
Trochlear	1 (1)
MRC Sum score at admission	40 [26 - 47]
Areflexia/Hyporeflexia	64 (94)
Sensory deficit	17 (25)
Autonomic Dysfunction (any)	21 (31)
Blood Pressure variability	14 (21)
Cardiac arrhythmia	11 (16)
Bladder dysfunction	5 (7)

Gastroparesis	1 (1)
Severity	n = 68
Patients admitted to the ICU	40 (59)
Required mechanical ventilation	21 (31)
Mean modified Rankin Score at nadir	4 [3 - 5]
Fatalities	3 (4)
Treatment	n = 68
Treatment given (any)	46 (68)
• IV Ig	42 (62)
Plasma Exchange	7 (10)
IV Steroids	1 (1)
Laboratories on admission	n = 68
Leukocytes x 10³/μL	10.4 [7.7 - 12.5]
Lymphocytes x 10 <sup>3</sup> /μL	1.9 [1.4 - 2.9]

Monocytes x 10 <sup>3</sup> /μL	0.7 [0.6 - 1]
Platelets x 10 <sup>3</sup> /μL	306 [240 - 358]
Cerebrospinal fluid analysis	n = 55
White Blood Cells (cells/μL)	0 [0 - 2.7]
Protein (mg/dL)	116 [67 -171]
Albumino-cytological dissociation	45 (82)
Nerve conduction studies/ EMG	n = 46
AIDP (Acute Inflammatory Demyelinating Polyradiculoneuropathy)	36 (78)
Equivocal	4 (9)
Inexcitable	3 (7)
Normal	2 (4)
Acute Motor Axonal Neuropathy (AMAN)	1 (2)
* Altered mental status was due to respiratory failure in al	l cases

# Table S3. Anti-flavivirus Antibody Response in Serum and CSF

(Panbio Dengue IgG and IgM capture ELISA tests)

			Serum IgG			Serum IgG Serum IgM			
Zika		Pos	OD index*	Neg	OD index	Pos	OD index	Neg	OD index
RT-PCR	N	n	Median	n	Median	n	Median	n	Median
			(Range)		(Range)		(Range)		(Range)
Positive	14	13	4.8 [4.5-5.0]	1	0.6	8	4.1 [1.2-4.9]	6	0.6 [0.2-1.0]
Negative	14	10	3.3 [1.1-4.8]	4	0.2 [0-0.5]	1	2.5	13	0.3 [0.1-0.6]
Negative	17	10	0.0 [1.1 4.0]		0.2 [0 0.0]	'	2.0	10	0.0 [0.1 0.0]
		CSF IgG CSF IgM							
			CSF	IgG			CSF	- IgM	
								- IgM	
Zika		Pos	OD index	IgG Neg	OD index	Pos	OD index	Neg	OD index
Zika RT-PCR		<b>Pos</b>			OD index  Median	<b>Pos</b>		_	OD index  Median
			OD index  Median	Neg	Median		OD index Median	Neg	Median
			OD index	Neg			OD index	Neg	
	14		OD index  Median	Neg	Median		OD index Median	Neg	Median
RT-PCR Positive		n 13	OD index  Median (Range)  4.8 [4.7-5.0]	Neg n	Median (Range) 0.9	n 5	OD index  Median  (Range)	<b>Neg</b> n	Median (Range) 0.2 [0.1-0.5]
RT-PCR	14	n	OD index  Median  (Range)	<b>Neg</b>	Median (Range)	n	OD index  Median  (Range)	<b>Neg</b>	Median (Range)

<sup>\*</sup>OD index= OD sample/OD cutoff value

Table S4. RT-PCR result details in the 17 positive GBS cases						
		TaqM	an RT-PCR Z	ika		
		(Lanciotti-CDC) <sup>1</sup>				
GBS Case	Clinical Specimen	Ct va				
		Zika1108	Zika4507	ZIKV		
		(All	(Asian	RESULT		
		genotypes)	genotype)			
6	CSF	34	31	Positive		
	Urine	36	35	Positive		
7	CSF	36	Und*	Equivocal		
	Urine	29	30	Positive		
8	Urine	37	32	Positive		
12	Urine	38	34	Positive		
14	Urine	32	29	Positive		
16	CSF	36	32	Positive		
19	Urine	35	31	Positive		
20	Urine	36	32	Positive		
26	Urine	33	34	Positive		
27	Urine	34	32	Positive		
28	Urine	34	31	Positive		
29	Serum	34	30	Positive		
	Urine	28	24	Positive		
31	Urine	34	34	Positive		

32	Urine	27	27	Positive
35	Urine	38	34	Positive
36	Urine	32	27	Positive
39	Urine	33	32	Positive

<sup>\*</sup>Undetectable

		D	emograph	ics				W11-1-1								Moto	or Nerv			1						0.11								Nerve					
N Se			Days to	EMG/NC	Side	DL	dCMAP	Tibial pCMAP	CV	F-wave	DL		Peroneal pCMAP	CV	F-wave	DL	dCMAP	Median pCMAP		F-wave	DL	dCMAP	Ulnar pCMAP	CV	F-wave			ductions dCAMP		Sur Amp	CV	Sup. Pe	CV	Med Amp	dian CV	Amp	CV		CV
N Se	+0	Years)	EMG/NC	Pattern	Side	ms 13.6	mV 2.28	mV 0.77	m/s 36.6	ms	ms 18	mV 1.55	mV NR	m/s	ms	ms 9.45	mV 2.92	mV 1.83	m/s 34.3	ms	ms 7.11	mV 3.81	mV 1.87	m/s 33	ms 30.64	Nerve	ms	mV	mV	uV 30.75	m/s 34.2	uV	m/s	uV NR	m/s	uV NR	m/s		m/s
1 M	1	17	12	AIDP	L		4.22	1.07	43.4		22.2	1.82	NR			14.6	2.52	2.35	34		6.95	3.81	1.88	33	29					13.07	33.4			NR		NR	$\sqcup$	$\rightarrow$	
2 N	4	51	18	AIDP	R L											8.67	2.38	2.33	55.6	NR 35.33	5.94 9.77	1.5 2.62								1.23 NR	37.9			NR NR		NR NR	Ш		
3 N	и	36	16	AIDP	R L	7.1	1	0.9	49		11.7 12.5	1.3 0.1	1.2	44							4	3.4	2.9	54						23.4	32	16.6	31	NR NR		NR	П		
4 F	:	58	15	AIDP	R	NR	Ė	0.0	10		12.0	0.1				NR					NR					Musculoc		0.7		NR		10.0	- 01	NR		NR	$\Box$	$\neg$	
5 N	,	70	14	AIDP	R	NR 9.7	0.2	0.1	29		$\vdash$					NR 21.9	0.7	0.3	36		NR 7	0.6	0.5	22		utaneous Femoral	7.7	0.7		NR		NR		NR NR	-	NR	$\vdash$	$\rightarrow$	_
1	+				L R	$\vdash$					6	3.5	2.2	48		$\vdash$					3.4	3.1	2.3	50	24.85	remoral	7.8	3.5		7.1	27	3.6	26	$\vdash\vdash$	-	13.4	42	NR 8.7	36
6 N	4	54	8	AIDP	L	6	4.3	3.3	44	34.49	Ľ	0.0		70							0.4	0.1	2.0	50	24.00					18.8	32			$\square$		NR	$\sqcup$		
7 N	4	62	11	Equivocal	R L	NR NR										NR					NR					Femoral	9.7	0.9	0.8	NR NR		NR NR		NR		NR	Ш		
8 N	и	44	5	Normal	R L	3.9 4.1	13.2 9.7	10.8 8	49 52		3.8 3.8	5 5.4	4.7 4.6	48		3.4 3.4	13.6 11	12.4 10.2	61 60													11.6	44	23.4 44.9	36 36	18.6 19.1	50		
9 N	и	34	16	AIDP	R	7.3	0.5	0.6	17	62.76				40	ND	40.0			58	95.13										11	38			NR NR		NR NR			
10 F	: †	49	11	AIDP	R						10.6	0.4	0.9 0.67	48 37	NR	18.2	1.8	1.4	36	95.13										14.9 16.23	39					NR	$\Box$	18.9	-
$\vdash$	+				R	7.27	1.24	0.86	35	73.8						$\vdash$				NR	8.52	1.89	1.41	48	48.64		Н			15.21 NR				NR NR	-	NR	$\vdash$	$\rightarrow$	$\dashv$
11 F	+	69	28	Inexcitable	L	_										10.3	2.08			NR 37.22	5.08	3.24	1.71	37.3						NR NR				NR NR		NR NR	$\vdash \vdash$	$\rightarrow$	
12 N	4	70	23	AIDP	R L															31.93	5	3.73	2.66	35.4						NR				NR		NR	Ш		
13 F	=	25	2	AIDP	R L	3.98 4.92	13.66 11.94	2.97 8.33	39.2 47.4		9.3 7.27	2.45 1.99	2.01 1.61	50.1 41.6		3.67 3.2	2.41 6.69	1.55 6.42	65.4 54.8	NR 24.05	2.5 2.34	5.33 7.66	4.29 5.26	39.4 53.6						25.23 30.62	49.3 46.7			37.5 55.5	47.3 49.1	20.6 37.5	52.3 49.1		
14 M	1	57	5	AIDP	R	9.2	2.9	2.8 0.7	35.6 44.6	63.3	6.8	4	3.5	37.5		16.6 15.2	1.4	1.2	36.4 44.9		5.9	3.3 4.1	2.6 2.5	27.4						3.9	32.5 38.2			NR NR		NR NR		$\neg$	
15 F	+	88	11	AIDP	R	8.05	0.6	0.8	51.5	03.3		, ,															$\Box$				30.2			14/4			$\sqcap$	NR	_
$\vdash$	+				R	7.58	1.37	0.85	39.4		5 9.84	1.4	1.55 1.33	45.7 49.7		14.5	1.89	1.82	44		4.45 6.84	1.54 0.79	1.35 3.91	60.7 44.9	NR	_	$\vdash$			NR		19.29		11.6	-	11.4 10.9	$\vdash$	$\rightarrow$	_
	+	49	13	AIDP	L	6.25 4.14	5.28 1.05	4.6 0.39	38.4	43.13 60.06						7.66	5.15	5.32	46		4.14 3.98	6.48 1.45	6.47 0.8	48 25.6	31.15		$\vdash$			45.59		24.49		21.3		58.9	$\vdash \vdash$	$\rightarrow$	
17 F		52	15	AMAN	L						5.31	0.52	0.2	33		3.59	1.01	0.98	42.7								Ш			46.44				79.5		30.8	$\sqcup$	50.5	
18 N	4	28	7	AIDP	R	4.77 3.67	6.01 4.26	4.7 3.14	37.4 35.3	48	4.3	1.09	0.69	44.6							2.03	9.79	2.99	42.7	25.88							NR NR					iΙ	NR	
19 N	и	45	13	AIDP	R L	8.91 7.5	1.59 2.24	0.31 0.12	28.7 28.5												3.2 4.22	1.5 2.72	0.76 1.51	40.9 45.7								20.24 10.44		$\Box$			П		
20 N	4	55	2	AIDP	R	7.34	4.89	3.73	41.6	NR	7.5	6.9	4.91	42.7							4.3	4.23	3.63	50.7								8.17				$\Box$	$\Box$	27.5	$\neg$
					R	6.64 5.31	4.68 0.97	3.51	42.6		5.39	0.95	0.79	54.9													Н					11.85 4.02		$\vdash$	-		$\vdash$	4.63	-
21 N	+	43	7	Equivocal	L R	NR 4.2	6.2	5.2			NR 9.2	1.6	1.5			12.6	3.8	3.3			4.53 5.9	0.28 4.2					Н					9 NR		8.52	0.03	$\vdash$	$\vdash \vdash$	$\rightarrow$	$\dashv$
22 F		47	24	AIDP	L	4.6	3.9	3.8			9.3	1.6	1.4			5.9	2.4	2.5			4.1	6.5										NR		36.6			Ш		
23 N	4	72	19	Equivocal	R	4.4 5.6	2.6 1.7	3.1 2.4	40 45	34.33 35.5																				6.2 NR	50						iΙ		
24 F	=	49	15	AIDP	R L	9.5 9.6	0.5 0.5	0.3 0.5	41 52		9.5 10.5	0.5 0.1	0.4 NR	45 30		18 15.3	0.7 0.8	0.7 0.8	53 45		4.1 4.7	3.4 3.1	3 2.8	49 55						22.7 26	58 61			NR NR		NR NR	П		$\neg$
25 N	4	78	5	AIDP	R	12.5	0.08	0.06	52		37.9	0.06	0.06	30		11.7	0.06	0.09	10		4.7	5.1	2.0	- 55			П			20	- 01			INIX		, NIX	$\Box$		$\neg$
26 N	+	47	19	AIDP	R	8.2	0.06	0.57		NR	14.1	0.22	0.15			6.17 NR	0.95	0.07			7.11	2.32	1.71	37.7	NR		Н			_				NR	-	NR	$\vdash$	$\rightarrow$	$\dashv$
$\vdash$	+				L R	3.4	2.8	2.7	43	NR 47.97	3.9	5.4	5.2	60		2.8	5.8	5.6	77	28.31	1.3	5.4	3.6	49			Н			6.5	31	18.3	37	NR 37.2	52	NR 26	61	$\rightarrow$	_
<b>27</b> F	1	37	5	Normal	L	3.8	7	6.3	51	40	2.9	6.8	6.4	54		2.8	4.9	4.7	64	23.57	2.1	8.5	8.3	58						14.7	35	18	38	77.8	54	25.4	58	$\rightarrow$	_
28 N	4	60	19	Inexcitable	R	NR NR					NR NR					NR NR					NR NR													NR NR		NR NR	Ш		
29 N	и	48	10	AIDP	R L	9.6	2.4			NR	8.8	1	0.5	29		10.6	1	1	79		7.6	1.4	0.4	34	NR					NR				NR			П		
30 N	и	52	16	Equivocal	R	5.1	10.7	8	74	43.59	3.6	6.5	6.1	51		3.3	10.5	9.8	59		2.7	6.9	7.4	58	24.17	Facial	3.4	1.7		4.3	52			16.2	38	6.9	37	$\neg$	$\neg$
31 F	+	57	1	AIDP	R	4.5 7.1	14.7 2.7	1.4	43	43.59	3.8 4.9	5.6 2.5	5.5 1.5	52 39		3.8 6.1	7.9 3.2	7.3	58 41		2.6	9	8.1	57 47	24.17		3.2	1		NR 27	50			24.1 NR	37	9.9 7.6	45 34	$\dashv$	-
$\vdash$	+				R	6 8.3	1.5	0.9	46 44		5.2	1	0.5	43		5.9 15.6	2.8 1.3	1.4 0.9	28 39		4	2.9	1.9	45			$\vdash$			17	44			NR NR	-	$\vdash$	$\vdash$	$\rightarrow$	-
32 N	+	26	5	AIDP	L	7.2	1.8	0.7	62	70.96	5.3	2.3	1.9	43							5.3	1.6	1.5	15			Ш			23.5		5.4	41	NR NR		NR	$\vdash \vdash$		
33 F		38	14	AIDP	R L	3.6 3.8	5.2 6	4.8 4.8	52 45		6 6.4	4 3.6	3.5 2.9	42 45		10.3	1.5	1.1	24		4.8	1.9	1.2	41						23.5	52					NR	Ш		
34 N	И	52	10	AIDP	R L	6.6 6.3	0.3 1	0.4	17	NR NR	8 12.1	0.3 0.2	0.1	40		9.8	0.7	0.2	36															NR		NR	ıΙ		
35 F	=	68	5	AIDP	R	6.3	2.2	1.3 0.9	36 34	NR 65.25	6.3 6.3	3.8	1.5 1.7	34 31		6.7 5.5	3.9 3.7	3.7 4.1	48 51	33.12 32.71	3.8 4.1	5.8 7.3	5.8 6.5	52 60								6	40	8.3 12.5	22 27	8.6 18.5	33 33	$\neg$	
36 F	:	35	28	AIDP	R	7.34	2.35	0.68	41.5	46.94	12.9	0.6	0.6	66.4		6.88	1.99	1.6	64.1	32.71	4.45	3.67	2.24	43.3			Н			31.6	35.5	0	40	8.53	30.2	6.88	36.5	+	$\neg$
$\vdash$	+				R	8.13 6.9	2.74	2.28	42.3 41	47.68	11.1 16.1	0.74	0.66	53.3 36		5.39 7.4	4.48 1.6	4.04 1.6	60.5 44		5.39	4.48	4.04	58.7	25.11		$\vdash$							12.3 NR	38.6	13.1 NR	38.3	$\rightarrow$	_
37 N	+	29	72	AIDP	L R	7.3 7.1	1.1	1.1	36 47		17.3 NR	0.7	0.9	52		NR					4	0.2	0.2	43			$\vdash$							NR	-	NR	$\vdash \vdash$	$\rightarrow$	
38 F		83	36	AIDP	L	4.3		1.5	38							NR											Ш							NR					
<b>39</b> F	=	32	10	AIDP	R L	9.45 8.67	0.89 1.36	0.2 0.57	43.9 41.9		7.19 7.42	1.5 1.48	1.43 1.26			5.78 5.86	4.13 3.22	3.85 3.09	56.6 50.1		4.38 5.23	4.45 3.44	3.96 2.65		28.33 26.38					18.45 11.08				63.4 30.5		33.6 25	37.6 36.8	_	
<b>40</b> F	=	37	17	AIDP	R L	NR NR					NR NR					22.7 NR	0.4	0.1	49		5.5 6.6	1.4	1.3	90 60						NR 8.8	64			NR NR		NR NR	$\Box$	$\Box$	
41 F	=	27	45	Inexcitable	R	NR					NR					NR					NR			30			П			NR				NR			$\Box$	$\neg$	$\overline{}$
42 N	+	40	6	AIDP	R	NR 19.9	1.21	1.78	31.2		NR					NR					NR						$\vdash$			NR				NR	$\dashv$	$\vdash$	$\vdash$	$\dashv$	_
$\vdash$	+				L R	19.2 8.6		0.9 1.5	30.6 46		12.8	3	3	46		14.7 17.4	5.17 1.6	3.41 1.2	34.6 29		_						NR			20.8	32			$\vdash$		$\vdash$	$\vdash \vdash$	$\rightarrow$	
43 F		42	18	AIDP	L				70					70							4	3	2.1	40		Facial	NR				J2		igsquare	NR		NR	$\sqcup$		
44 N	4	24	13	AIDP	R L	12.7 12.9		NR 0.1	31		16.6 NR	0.7	NR			11.4 10.2	3.2 1.8	2.5 1.4	35 53		5.1 4.8	6 4.6	3.5 1.8	41 38						NR NR				NR NR		NR NR			
<b>45</b> F	-	81	2	AIDP	R L	6.6 8.8	3.8 3.2	2.8 2.6	32 33		4.5 4.1	3.8 1.1	3.1 0.8	37 34		5.2 4.5	6.4 5.4	6.3 5.5	48 44		4.3 4.5	2.4 3.2	1.5 2.8							NR NR				19.8 21.4	35 33	20.9 21.3			
46 M	1	53	7	AIDP	R	9.1	1.6				NR		5.0			NR		5.0			NR	5.2					П							NR	-50	NR	<u> </u>	$\neg$	
					L	9.7 elinatin	1.5 g polyne	uropathy	, AMAN	l l: acute r	NR notor ax	onal neu	ropathy.	Amp: a	mplitude	25.6 , CV: co	1 induction	velocity	, Days t	to EMG/I	NR NC: day:	s from th	e onset	of neuro	ological s	ymptoms to	EMG/I	NC, dCM	AP: dista	l compo	und m	uscle act	ion pote	NR ential, DL	L: distal	NR latency	y, EMG/	NC:	_
electro	my	ography	y and nerv	e conduction	, F: fe	male, L:	left, M:	male, NF	R: no res	sponse, p	CMAP:	proximal	compou	nd mus	cle action	n potent	tial, R: ri	ght.	-							-													

# **Supplementary Figures**

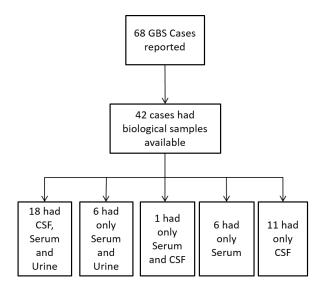


Figure S1. Sample availability for testing

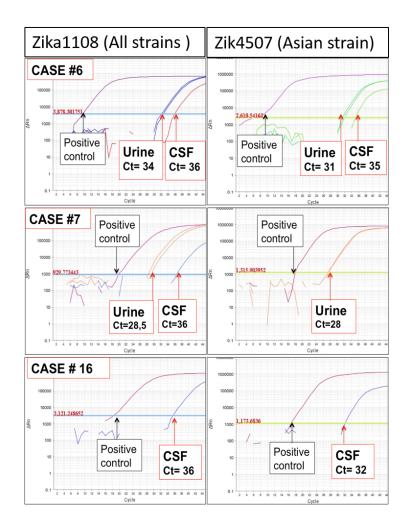


Figure S2. PCR Amplification Plots of ZIKV RNA in CSF and Urine. Typical amplification curves and Ct values of TaqMan RT-PCR assays for ZIKV in three GBS cases. Positive controls were ZIKV RNA isolated from serum of ZIKV acutely infected subjects.

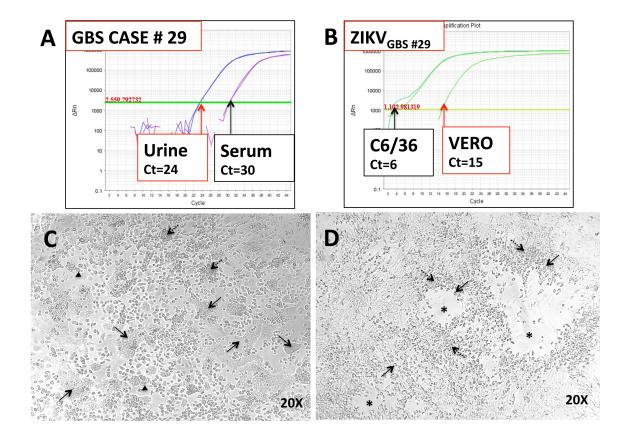
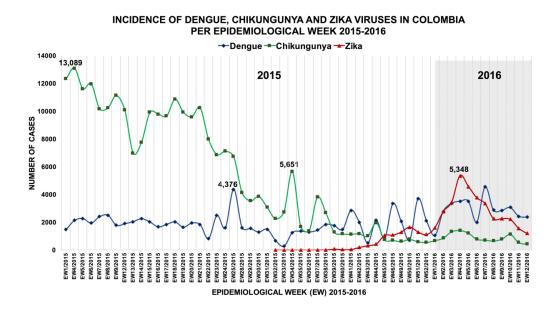


Figure S3. ZIKV PCR testing and Cytopathic Effect (CPE) of ZIKV in cell lines cultures. (A) Amplification plot of TaqMan RT-PCR assay for ZIKV (Asian strain) showing positivity in both urine and serum in a representative case 29. (B) PCR amplification curves and cycle thresholds (Ct) of ZIKV (Asian strain) in supernatant fluids of *A. albopictus* C6/36-HT cells (C6/36) and Green Monkey Kidney Epithelial cells (VERO) at 10 days post inoculation (p.i.) with urine from case 29. (C) CPE of ZIKV in C6/36 cell line inoculated with urine of case 29 at 10 days p.i showing enlarged in size cells (arrowhead), syncytia formation (arrow) and clumping in "grape-like" clusters (dashed arrow). (D) VERO cells 8 days p.i. also showed generalized cellular detachment (\*), shrinking (arrow) and clumping (dashed arrow).

#### CUMULATIVE INCIDENCE OF DENGUE, CHIKUNGUNYA AND ZIKA VIRUSES IN **COLOMBIA 2009-2016** 450,000 2010 2011 2012 2013 2014 2016 2015 400.000 350,000 OF CASES 200,000 CASES 250,000 200,000 150,000 157,152 126,553 110,473 93,242 100,000 53,532 32,755 EN5120 N. ENJE EW28 EW521 EWAO EWA ENVE EPIDEMIOLOGICAL WEEK (EW) 2009-2016

**Figure S4.** Cumulative incidence of Dengue, Chikungunya and Zika viruses in Colombia from 2009 to 2016 (Based on survelliance data from the Colombian National Institute of Health, Boletin Epidemiologico Semanal)



**Figure S5.** Incidence of Dengue, Chikungunya and Zika viruses in Colombia per epidemiological week from 2015 to 2016(Based on survelliance data from the Colombian National Institute of Health, Boletin Epidemiologico Semanal).

### **NEAS FORMS**



### Forma 1: Información Clínica, Paraclínica y de Imagen Evaluación Inicial

	PARTE A: Informaci	ón Demográfica
Código del paciente  Fecha de inclusión a la base de datos  Fecha de evaluación inicial  Edad (en años cumplidos)  Raza  Ciudad de residencia (últimos 3 meses)  Estrato socioeconómico (según DANE)  Ciudad de reporte  Género		(DD-MM-AAAA) (DD-MM-AAAA) (años)
PA	RTE B: Datos Clínicos	– Enfermedad Actual
Fecha de inicio de los síntomas generales  Duración de los síntomas generales (en dí  Síntomas generales (puede escoger más c	as)	(DD-MM-AAAA) (días)
Fiebre Temperatura más Duración de la fieb Cefalea Astenia Conjuntivitis Exantema		Náuseas     Vómito     Diarrea     Artralgias     Edema/Eritema articular     Mialgias     Otro, ¿Cuál?     Ninguno
Tiene síntomas neurológicos de nueva apa Fecha de inicio de los síntomas neurológio Síntomas neurológicos (puede escoger ma	cos	(DD-MM-AAAA)
Alteración de conciencia Parálisis facial Visión doble Pérdida de la visión Debilidad muscular Parálisis de extremidades s Parálisis de extremidades i Rigidez muscular Pérdida de la sensibilidad ( Parestesias ("Hormigueo")	nferiores	Alodinia Dolor neuropático Disautonomía Ataxia Vértigo Convulsiones Deterioro cognitivo Neuropsiquiátricos (alucinaciones, delirium)
En caso de presentar parálisis, especifiqu En caso de parálisis facial, especifique el tipo		

PARTE C: Antecedentes						
Ha visitado algún país endémico de arbovirus en las últimas 4 semanas?						
Si, especifique el país y la fecha (DD-MM-AAAA)						
¿Tiene antecedente de alguna de las siguientes enfermedades? (puede escoger más de una opción)						
□ Diabetes □ Enfermedad autoinmune, especifique cuál □ Cáncer (en el último año), ¿Localización? □ Tabaquismo (en el último año) □ ¿Cuál? □ Inmunosupresión □ Ninguna						
¿Tiene historia de síntomas neurológicos no relacionados con el episodio actual? (en caso de presentarlos)						
¿Tiene antecedente de alguna(s) de las siguientes infecciones? (puede escoger más de una opción)						
□ Dengue, fecha de diagnóstico       □ Malaria, fecha de diagnóstico         □ Chikungunya, fecha de diagnóstico       □ Herpes Zoster, fecha de diagnóstico         □ VIH, fecha de diagnóstico       □ Tuberculosis, fecha de diagnóstico         □ Hepatítis C, fecha de diagnóstico       □ Ninguna						
Tiene historia de alguna de las siguientes enfermedades neurológicas? (puede escoger más de una opción)						
□ Epilepsia       □ Síndrome de Guillain-Barré         □ Meningitis       □ Neuritis óptica         □ Accidente cerebrovascular       □ Parálisis facial         □ Encefalitis       □ Tumor cerebral         □ Esclerosis múltiple       □ Trauma raquimedular         □ Mielitis/Mielopatía       □ Otra, ¿Cuál?         □ Neuropatía periférica       □ Ninguna						
¿Tiene antecedente familiar (primer grado de consanguinidad) de alguna de las siguientes enfermedades? (puede escoger más de una opción)  Accidente cerebrovascular Enfermedad autoinmune Epilepsia Otra, ¿Cuál?						
│						
□ Infección respiratoria alta □ Gripe común/Influenza □ Gastroenteritis o diarrea □ Infección urinaria □ Infección por organismo confirmado, especifique cuál □ Ninguno □ Vacunación, especifique tipo y fecha □ Cirugía, especifique cuál y fecha □ Trauma craneoencefálico □ Caída de altura □ Otro, especifique cuál y fecha □ Ninguno						

	PARTE D: Examen Físico
Fecha del examen físico	(DD-MM-AAAA)
Estado de conciencia	
Orientado en las 3 esferas	
Disartria	
Déficit en atención	
Compromiso de los pares craneales (	puede escoger más de una opción)
Óptico (II) Nervio oculomotor (III) Nervio troclear (IV) Nervio abducens (VI) Nervio trigémino (V)	Nervio facial (VII) Pares craneales bajos No compromiso No es posible evaluar
Neuritis óptica	
Debilidad Muscular	
Fuerza muscular (Escala de 0 a 5)	<b>—</b>
	Derecha Izquierda
Abducción del hombro Flexión del codo Extensión de la muñeca Flexión de la cadera Extensión de la rodilla Dorsiflexión del tobillo	
MRC Sum-Score	0
Reflejos (0: ausente; 1:hiporreflexia; ;	2:normal; 3:hiperreflexia; 4: clonus)
	Derecha Izquierda
Reflejo bicipital Reflejo tricipital Reflejo patelar Reflejo aquiliano Respuesta plantar	
Déficit Sensitivo	Si, especifique el nivel (Ej: T1, L2)  No No es posible evaluar
Si hay déficit sensitivo, indique el tipo	o de sensibilidad afectada (puede escoger más de una opción)
☐ Tacto superficial☐ Dolor / Temperatura☐ Vibración☐ Propiocepción☐ Ninguno☐ No evaluado	

1/ <u>-</u>							
Signo de Romberg							
Ataxia							
Tono muscular							
a contract southern properties							
Retención Urinaria							
Tono Rectal disminuido [							
Movimientos anormales	Si, especifique cuáles No						
Falla Ventilatoria							
Disfunción autonómica							
	a, especifique el tipo (puede escoger más de una opción)						
or distulicion autonomica	i, especifique el tipo (puede escogei mas de una opción)						
	Cardiaco (arritmia, taquicardia, bradicardia) Presión arterial (fluctuación, hipertensión e hipotensión) Gastroentérico Disfunción vesical Disfunción pupilar						
	PARTE E: Laboratorio e Imágenes						
¿Electromiografía realiza Fecha de la electromiogra Clasificación por electrof ¿Electroencefalograma re Fecha de electroencefalo Electroencefalograma	afía (DD-MM-AAAA) isiología  Neuropatía axonal motora aguda Neuropatía desmielinizante inflamatoria aguda No respuesta nerviosa Respuesta nerviosa no clasificable Normal						
	Ritmo de fondo lento						
	Otro, ¿Cuál?						
B							
¿RNM Cerebral realizada <sup>.</sup> Fecha de RNM Cerebral							
recha de Kivivi Celebiai	(DD-MM-AAAA)  Hallazgos Resultado						
	¿Lesiones hiperintensas en T2?						
	¿Lesiones que realcen con el contraste?						
	¿Realce meníngeo con el contraste?						
	¿Lesiones periventriculares?						
	¿Lesiones subcorticales?						
	¿Lesiones en fosa posterior?						
	¿Lesiones corticales?						
	¿Lesiones en ganglios basales?						
	P (positivo); N (Negativo); D (Desconoce)						

¿RNM de Médula espinal re Fecha de RNM – Médula es		
	Hallazgos	Resultado
	¿Lesiones hiperintensas en T2?	
	¿Lesiones que realcen con el contraste?	
	¿Realce meníngeo con el contraste?	
	¿Realce de raíces nerviosas?	
	¿Lesiones torácicas?	
	¿Lesiones cervicales?	
	¿Lesiones lumbares?	
	¿Lesiones de más de 3 niveles de longitud?	
P ¿TAC Cerebral realizado? Fecha de TAC Cerebral	(positivo); N (Negativo); D (Desconoce)  (DD-MM-AAAA)	
	Hallazgos	Resultado
	¿Lesiones hipodensas en distribución vascular?	
	¿Lesiones hiperdensas?	

# ¿Realce meningeo con el contraste? P (positivo); N (Negativo); D (Desconoce)

¿Lesiones que realcen con el contraste?

### Laboratorios

Laboratorio (Sangre)	Fecha (DD-MM-AAA)	Valor	Laboratorio (Sangre)	Fecha (DD-MM-AAA)	Valor
Leucocitos totales			AST		
Plaquetas totales			ALT		
Linfocitos (valor absoluto)			Creatinina/BUN		
Monocitos (valor absoluto)			Glucosa		
Hematocrito			Sodio		

Laboratorio	Fecha	Sangre	LCR	Saliva	Orina
Dengue IgG					
Dengue IgM					
Dengue NS1					
Dengue PCR					
Chikungunya IgM					
Chikungunya IgG					
Chikungunya PCR					
Zika IgM					
Zika IgG					
Zika PCR					

P (positivo); N (Negativo); D (Desconoce)

¿Punción lumbar re Fecha de punción l		(DD-MM-AAAA)					
	Parámetros  Células blancas  Línea celular predominante  Glóbulos rojos  Glucosa  Proteina  Bandas oligoclonales en LCR  Bandas oligoclonales en se  Indice de Ig  Cultivos positivos  Herpes virus PCR	Resultados  angre					
	PARTE F: Escalas de discapacidad						
0: No síntor 1: No discapac 2: Discapac 3: Discapac 4: Discapac 5: Discapac	O: No síntomas  1: No discapacidad significativa a pesar de los síntomas. Capaz de llevar a cabo sus actividades diarias.  2: Discapacidad leve. Incapaz de llevar a cabo todas las actividades diarias, pero capaz de hacer autocuidado.  3: Discapacidad moderada: Requiere ayuda, pero capaz de caminar sin asistencia.  4: Discapacidad moderadamente severa. Incapacidad para el cuidado propio. Asistencia requerida para caminar.  5: Discapacidad severa. Requiere cuidado permanente. Postrado en cama. Incontinente.  6: Muerto  No evaluado						
	PARTE G: Di	agnóstico					
	e Guillain-Barré (ascendente) e Miller Fisher	☐ Parálisis facial ☐ Meningoencefalitis ☐ Encefalomielitis ☐ Encefalopatía metabólica ☐ No diagnóstico neurológico ☐ Otro ¿Cuál?					



## Forma A - IGOS: Evaluación Inicial

PARTE A: Información General							
Código del paciente							
Persona que ingresa los datos							
Fecha de inclusión a la base de datos		(DD-MM-AAAA)					
Fecha de admisión al hospital		(DD-MM-AAAA)					
Episodios previos de SGB	Si, fecha del episodio No		(DD-MM-AAAA)				
Comorbilidad que afecte la movilidad	Si, ¿Cuál? No						
Comorbilidad afectando la respiración	Si, ¿Cuál? No						
Miembros de la familia con SGB (en primer ç	rado de consanguinid	ad) 🗌 Si, quién _ No					
¿Paciente transferido de otro hospital?	Si, cuál y fecha (DD-M No	M-AAA)					
Eventos 4 semanas previas a la hospitalizac	ión						
☐ Gr ☐ Gi ☐ Int ☐ Va ☐ Ci ☐ Ot	ección respiratoria alta ipe común/Influenza astroenteritis o diarrea ección urinaria ecunación, especifique tipo de ra, ¿Cuál?	•					
Fecha de inicio de los síntomas							
Fecha de inicio de la debilidad							
¿El paciente presenta dolor?	Si No						
Si el paciente presenta dolor, especifique el tipo de dolor							
Dolor muscular Dolor articular Dolor radicular Meningismo Parestesias dolorosas Dolor neuropático Otro							

Si el paciente presenta dolor, especifique la localización						
Cara Cuello Brazo(s) Frente Pierna(s) Otro						
Si presenta dolor, especifiqu	ue la intensidad (1 a 10)					
Dolor tipo 1 Dolor tipo 2 Dolor tipo 3						

Fecha del examen físico	(DD-MM-AAA	4)
Compromiso de los pares craneales (puede escoger  Nervio oculomotor Nervio facial Pares craneales bajos Otro No compromiso No es posible evaluar	más de una opción	1)
Debilidad para la flexión del cuello (puntaje MRC)		
Fuerza en las extremidades (puntaje MRC)		
Abducción del hombro Flexión del codo Extensión de la muñeca Flexión de la cadera Extensión de la rodilla Dorsiflexión del tobillo	Derecha	Izquierda
Debilidad para la flexión del cuello (puntaje Rasch MF	(C)	
Fuerza en las extremidades (puntaje MRC)		
Abducción del hombro Flexión del codo Extensión de la muñeca Flexión de la cadera Extensión de la rodilla Dorsiflexión del tobillo	Derecha	Izquierda
Reflejos (0: ausente; 1:hiporreflexia; 2:normal; 3:hip		
Reflejo bicipital Reflejo tricipital Reflejo patelar Reflejo aquiliano	Derecha	Izquierda
Déficit Sensitivo	que el nivel (Ej: T1, l ble evaluar	L2)
Si hay déficit sensitivo, indique el tipo de sensibilida	d afectada (puede	escoger más de una opción)
☐ Tacto superficial ☐ Dolor / Temperatura ☐ Vibración ☐ Propiocepción Ninguno		

Si hay déficit sensitivo, especifique la localización (puede escoger más de una opción)				
☐ Cara Brazos Piernas				
Ataxia				
Disfunción autonómica				
Si disfunción autonómica, especifique el tipo (puede escoger más de una opción	ì			
Cardiaco (arritmia, taquicardia, bradicardia) Presión arterial (fluctuación, hipertensión e hipotensión) Gastroentérico Disfunción vesical Disfunción pupilar Escala de discapacidad SGB				
Síndrome de Miller-Fisher Otro No				
NO Capacidad vital forzada (si está disponible)				
Fecha de la electromiografía (DD-MM-AAAA)				
Clasificaciónpor electrofisiología				
□ Neuropatía axonal motora aguda □ Neuropatía desmielinizante inflamatoria a □ No respuesta nerviosa □ Respuesta nerviosa no clasificable Normal No realizada	guda			

#### **REFERENCES**

- 1. Lanciotti RS, Kosoy OL, Laven JJ, et al. Genetic and serologic properties of Zika virus associated with an epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. Emerg Inf Dis 2008;14:1232-9.
- 2. WHO. Evaluation of commercially available anti-dengue virus immunoglobulin M tests. Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases 2009.
- 3. Vaughn DW, Nisalak A, Solomon T, et al. Rapid serologic diagnosis of dengue virus infection using a commercial capture ELISA that distinguishes primary and secondary infections. Am J Trop Med Hyg 1999;60:693-8.
- 4. Gubler DJ, Kuno G, Sather GE, Velez M, Oliver A. Mosquito cell cultures and specific monoclonal antibodies in surveillance for dengue viruses. Am J Trop Med Hyg 1984;33:158-65.