



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS –UFAM
PRO-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU
EM CIÊNCIAS DA SAÚDE - PPGCIS



VALDERJANE APRIGIO DA SILVA

**MONITORAMENTO DAS NEUROINFECÇÕES DURANTE A PANDEMIA DE
COVID-19 EM UMA UNIDADE TERCIÁRIA DE SAÚDE EM MANAUS**

MANAUS-AM

2024

VALDERJANE APRIGIO DA SILVA

**MONITORAMENTO DAS NEUROINFECÇÕES DURANTE A PANDEMIA DE
COVID-19 EM UMA UNIDADE TERCIÁRIA DE SAÚDE EM MANAUS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Amazonas como requisito final para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde. Linha de Pesquisa: Pesquisa Clínica e Saúde Pública.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Michele de Souza Bastos Barrionuevo

Coorientador: Prof. Dr. Robson Luís Oliveira de Amorim

MANAUS-AM

2024

Ficha Catalográfica

Elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

S588m Silva, Valderjane Aprigio da
Monitoramento das neuroinfecções durante a pandemia de
COVID-19 em uma unidade de terciária de saúde em Manaus /
Valderjane Aprigio da Silva. - 2024.
123 f. : il., color. ; 31 cm.

Orientador(a): Michele de Souza Bastos Barrionuevo.
Coorientador(a): Robson Luis Oliveira de Amorim.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Amazonas,
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Manaus,
2024.

1. Sistema nervoso. 2. Líquido cefalorraquidiano. 3. Infecção viral.
4. Painel viral. 5. Diagnóstico molecular. I. Barrionuevo, Michele de
Souza Bastos. II. Amorim, Robson Luis Oliveira de. III.
Universidade Federal do Amazonas. Programa de Pós-Graduação
em Ciências da Saúde. IV. Título

VALDERJANE APRIGIO DA SILVA

**MONITORAMENTO DAS NEUROINFECÇÕES DURANTE A PANDEMIA DE
COVID-19 EM UMA UNIDADE TERCIÁRIA DE SAÚDE EM MANAUS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Amazonas como requisito final para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde. Linha de Pesquisa: Pesquisa Clínica e Saúde Pública.

Aprovada em: 19 de Novembro de 2024

Banca Examinadora

Prof.^a Dr.^a Michele de Souza Bastos Barrionuevo – Presidente Membro Interno
Universidade Federal do Amazonas – UFAM

Prof. Dr. Daniel Barros de Castro – Membro Interno
Universidade Federal do Amazonas – UFAM

Prof.^a Dr.^a Maria Paula Gomes Mourão – Membro Externo
Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado – FMT-HVD

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à memória das vítimas da pandemia da Covid-19 no Amazonas e a cada familiar que sofre com a ausência de seus entes queridos.
Dedico aos profissionais de saúde que arriscaram suas vidas na linha de frente contra a doença.

AGRADECIMENTO

A Deus,

Que, de maneira especial, me protege e cuida, iluminando meus caminhos e dando sustento diário para que eu nunca desista.

À minha orientadora, Profa. Dra. Michele de Souza Bastos, pela oportunidade concedida, por seu papel fundamental no meu crescimento pessoal e profissional, por acreditar na minha capacidade, pelo tempo dedicado, paciência e compreensão, pelo estímulo diário ao meu desenvolvimento e por ser um modelo de profissional. Por ser esta pesquisadora apaixonada pelo conhecimento e pela ciência, o exemplo vale mais que qualquer palavra. Muito obrigada também pelas oportunidades proporcionadas; cada uma delas contribui significativamente para a formação da minha vida acadêmica e pessoal.

Aos mestres do PPGCIS, pelos conhecimentos compartilhados, em especial ao Prof. Dr. Daniel Barros, pelas orientações nas análises estatísticas desta dissertação, parte fundamental para a finalização do estudo, pela paciência e acolhimento. Aos docentes que fizeram parte da banca de qualificação, pois muito contribuíram para meu trabalho com suas orientações.

Ao Prof. Dr. Olindo Assis, da Fiocruz de Minas Gerais, pelas análises dos biomarcadores e pelo conhecimento compartilhado.

Ao LENRESB - colegas, amigos e exemplos. A todos que tive o prazer de conviver durante esta jornada. Aos que já saíram e espero que retornem (Ewerton e Sabrina) a Dra. Samantha Tufic, com seu conhecimento em resistência bacteriana e aos que ainda permanecem no grupo, pelos momentos de descontração; com vocês, fez toda diferença. Agradeço em especial à Eveny Perlize, pelo apoio incondicional, por estar ao meu lado desde o início do mestrado.

Ao laboratório de Bacteriologia, à Dra. Rossicléia Lins Monte, pelos conselhos e incentivos. As meninas que realizaram as análises citológicas e bacteriológicas, em especial a Catarina Rocha, Alanna Falcão, Kattyane Mendonça, Gabrielle Lima e Simony Campos.

A minha família. Meu alicerce e porto seguro! Ao meu amado esposo, William Borges, meu esteio, meu refúgio, obrigada pelo apoio incondicional, pela paciência, por suportar minha pior versão. Aos meus diamantes, Luiz Henrique e Jorge Miguel, que entenderam minha necessidade, suportaram minha ausência e me apoiaram nessa jornada. Os meus pais, Antônio Santos e Angelita Aprigio pelos ensinamentos de vida.

À Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado, onde foi realizado o estudo. À Fundação de Amparo à Pesquisa do Amazonas (FAPEAM), pela bolsa e recurso disponibilizado para a realização desse estudo.

EPÍGRAFE

"O real não está na saída nem na chegada,
Ele se dispõe para gente é no meio da
TRAVESSIA...

e quem elegeu a busca não pode recusar a
TRAVESSIA...

Todo o caminho é resvaloso...

A gente cai, a gente levanta, a gente sobe,
a gente volta...

O correr da vida embrulha tudo, a vida é
assim: Esquenta e esfria, aperta e daí afrouxa,
sossega e depois desinquieta...

O que ela que da gente é CORAGEM".

(Guimarães Rosa)

RESUMO

As doenças infecciosas, causadas por patógenos como bactérias, vírus, parasitas e fungos, representam um desafio para a saúde global em termos de morbidade e mortalidade. Neste contexto, os vírus se destacam por sua contribuição para o surgimento e ressurgimento de doenças infecciosas, desencadeando manifestações clínicas importantes que variam desde síndromes febris e respiratórias até, de maneira preocupante, afecções do sistema nervoso. Estas últimas podem levar a uma série de sintomas, incluindo cefaleia, febre, rigidez na nuca, alterações sensoriais, fraqueza muscular e disfunções cognitivas. Portanto, o objetivo foi examinar o líquido cefalorraquidiano (LCR) de pacientes com manifestação neurológica durante a pandemia de COVID-19 em uma unidade de saúde terciária de saúde em Manaus. Este estudo observacional descritivo utilizou a reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR) para analisar amostras de LCR de pacientes apresentando manifestação neurológica durante a pandemia de COVID-19, no período de março de 2020 e julho de 2022. Além de pesquisar o RNA do SARS-CoV-2 no LCR, foi conduzida a adaptação de um painel de diagnóstico para investigar outros vírus com capacidade de causar infecções no sistema nervoso, incluindo dengue, Zika, Chikungunya, Vírus Oeste do Nilo, Enterovírus, Herpesvírus, SARS-CoV-2 e JCV. Os resultados revelaram evidências de infecção viral em 35 pacientes (16,9%) com manifestação neurológica, destacando os vírus da família *herpesviridae* em 28 casos (80%) e os poliomavírus em 5 casos (14,2%), além de 5 coinfeções (14,2%). A análise de biomarcadores como neoptertina, neurofilamento de cadeia leve e proteína tau total, forneceu insights sobre as neuroinfecções. Esse estudo ressalta a importância da vigilância neurológica laboratorial para identificar e tratar precocemente infecções virais que afetam o sistema nervoso, incluindo aquelas que podem ocorrer em meio a uma pandemia como a da COVID-19. Os achados têm implicações significativas para o diagnóstico diferencial, manejo clínico e desenvolvimento de estratégias terapêuticas para pacientes com manifestações neurológicas de origem infecciosa.

Palavras-Chave: Sistema Nervoso, Líquido cefalorraquidiano, infecção viral, painel viral, diagnóstico molecular

ABSTRACT

Infectious diseases, caused by pathogens such as bacteria, viruses, parasites, and fungi, represent a significant challenge to global health in terms of morbidity and mortality. In this context, viruses stand out for their contribution to the emergence and resurgence of infectious diseases, triggering important clinical manifestations ranging from febrile and respiratory syndromes to, more concerningly, nervous system disorders. The latter can lead to a series of symptoms, including headache, fever, neck stiffness, sensory alterations, muscle weakness, and cognitive dysfunctions. Therefore, the objective was to examine the cerebrospinal fluid (CSF) of patients with neurological manifestations during the COVID-19 pandemic in a tertiary healthcare unit in Manaus. This descriptive observational study employed real-time polymerase chain reaction (qPCR) to analyze cerebrospinal fluid (CSF) samples from patients who presented neurological manifestations during the COVID-19 pandemic, from March 2020 to July 2022. In addition to screening for SARS-CoV-2 RNA in the CSF, a diagnostic panel was adapted to investigate other viruses capable of causing nervous system infections, including dengue, Zika, Chikungunya, West Nile virus, Enterovirus, Herpesvirus, SARS-CoV-2 and JCV. The results revealed evidence of viral infection in 35 patients (16.9%) with neurological manifestations, with viruses of the Herpesviridae family predominating in 28 cases (80%), polyomaviruses in 5 cases (14.2%), and 5 coinfections (14.2%). Analysis of biomarkers such as neopterin, light chain neurofilament and total tau protein, provided insights into neuroinfections. This work underscores the importance of laboratory neurological surveillance in identifying and treating viral infections affecting the nervous system early, including those that may occur during a pandemic such as COVID-19. The findings have significant implications for differential diagnosis, clinical management, and the development of therapeutic strategies for patients with neurological manifestations of infectious origin.

Keywords: Nervous system, Cerebrospinal fluid, viral infection, viral panel, molecular diagnosis

LISTA DE FIGURAS e GRÁFICOS

Figura 1. Líquido cefalorraquidiano: localização e produção.....	21
Figura 2. Barreiras neurais	23
Figura 3. Rotas de invasão ao SNC	41
Gráfico 1. Sintomas Clínicos dos Pacientes com Manifestação neurológicas durante a pandemia de COVID-19, Manaus, Amazonas, Brasil, 2020-2022.....	51
Gráfico 2. Manifestações Neurológicas Geral dos Pacientes atendidos durante a pandemia de COVID-19, Manaus, Amazonas, Brasil, 2020-2022.....	51
Gráfico 3. Distribuição das Neuroinfecções Gerais dos Pacientes atendidos durante a pandemia de COVID-19, Manaus, Amazonas, Brasil, 2020-2022.....	52
Gráfico 4- A. Comparação do número de células entre os pacientes com herpesvírus e poliomavírus	58
Gráfico 4- B. Comparação dos níveis de glicorraquia entre os pacientes com herpesvírus e poliomavírus	59
Gráfico 4- A. Comparação dos níveis de proteinorraquia entre os pacientes com herpesvírus e poliomavírus	59
Gráfico 5. Distribuição das Neuroinfecções dos Pacientes com COVID-19, Manaus, Amazonas, Brasil, 2020-2022.....	63
Gráfico 6- A. Comparação dos números de células entre os grupos COVID-19, HHV e controle.....	65
Gráfico 6-B. Comparação dos níveis de glicorraquia entre os grupos COVID-19, HHV e controle.....	66
Gráfico 6-C. Comparação dos níveis de proteinorraquia entre os grupos COVID-19, HHV e controle.....	66
Gráfico 7-A. Comparação da celularidade entre os grupos COVID-19 grave, COVID-19 moderado.....	67
Gráfico 7-B. Comparação dos níveis de glicorraquia entre os grupos COVID-19 grave, COVID-19 moderado.....	67
Gráfico 7-C. Comparação dos níveis de proteinorraquia entre os grupos COVID-19 grave, COVID-19 moderado.....	68

Gráfico 8. Análise comparativa do perfil de biomarcadores inflamatório entre os grupos Covid-19, grupo HHV e grupo controle.....69

Gráfico 9: Análises comparativa do perfil de biomarcadores inflamatórios no grupo COVID-19 grave, COVID-19 moderado e grupo controle não inflamatório.....71

LISTA DE TABELA

Tabela 1: Característica do Liquor em determinadas patologias.....	36
Tabela 2. Dados demográficos, faixa-etária, zona de residência, unidade de atendimento dos pacientes com manifestações neurológicas durante a pandemia de COVID-19, Manaus, Amazonas, Brasil, 2020-2022.....	50
Tabela 3. Agentes detectados em pacientes com manifestação neurológica, atendidos durante a pandemia de COVID-19, Manaus, Amazonas, Brasil, 2020-2022.....	53
Tabela 4. Características demográficas, comorbidades e desfechos dos pacientes com herpesvírus e poliomavírus detectados, Manaus, Amazonas, Brasil, 2020-2022.....	55
Tabela 5. Frequência absoluta e relativa dos sintomas clínicos e neurológicos dos pacientes com herpesvírus e poliomavírus, detectados durante a pandemia de COVID-19, Manaus, Amazonas, Brasil, 2020-2022.....	57
Tabela 6. Frequência absoluta e relativa das características demográficas, comorbidades e desfechos de 46 pacientes com COVID-19, Manaus, Amazonas, Brasil, 2020-2022.....	61
Tabela 7. Frequência absoluta e relativa dos sintomas clínicos e neurológicos de 46 pacientes com COVID-19, detectados pela secreção da nasofaringe, durante a pandemia de COVID-19, Manaus, Amazonas, Brasil, 2020-2022.....	61
Tabela 8. Frequência absoluta e relativa das características demográficos, faixa-etária, zona de residência, unidade de atendimento dos pacientes com COVID-19 Grave e COVID-19 Moderado, detectados pela secreção da nasofaringe, durante a pandemia de COVID-19, Manaus, Amazonas, Brasil, 2020-2022.....	64

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

BHE – Barreira Hematoencefálica

BHL – Barreira Hematolíquorica

CDC – *Center for Disease Control and Prevention* (Centro de Controle e Prevenção de Doenças)

Cell/mm - Células por milímetros

COVID-19 - Doença do Coronavírus -2019

CMV - Citomegalovírus humano

DALY – *Disability Adjusted Life Years* (Anos de Vida Ajustado por Incapacidade)

DNA - Ácido Desoxirribonucleico

DENV - Vírus da Dengue

ELISA – *Ensaio Imunoenzimático*

EBV – Esptein Barr Vírus

FVS-AM - Fundação de Vigilância Sanitária do Amazonas

Fa – Frequência absoluta

GBD – *Global Burden of Diseases* (Estudo de Carga Global de Doenças, Lesões e Fatores de Risco)

HAS - Hipertensão Arterial

HIV - Vírus da Imunodeficiência Humana

HSV-1 – Herpes Vírus Simplex –1

HSV-2 – Herpes Vírus Simplex –2

IgG – Imunoglobulina G

IgM – Imunoglobulina M

IQR – Intervalo Entre quartil

JCV – John Cunningham Vírus

LCR – Líquido Cefalorraquidiano

Md – Mediana

MI – Mililitros

MS - Ministério da Saúde

Na⁺K⁺ATpase – Bomba Sódio e Potássio

nmol/L - nanomoles por litros

Neop – Neopterina

NfL – Neurofilamento de Cadeia Leve

NS - Não Significativo

PDGF- Fator de Crescimento Derivado de Plaqueta

OMS - Organização Mundial de Saúde

OPAS - Organização Pan-Americana de Saúde

RT - *Reverse Transcription Reaction* (Reação em Cadeia da Polimerase)

pg/ml - Picograma por mililitros

qPCR – *Polymerase Chain Reaction Time* (Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real Quantitativa)

RM – Ressonância Magnética

RNA - Ácido Ribonucleico

RBD – *Receptor Binding Domain* (Receptor de Domínio de Ligação)

RedCap - *Research Electronic Data Capture*

RT-PCR – *Reverse Transcription Reaction* (Reação de Transcriptase Reversa)

SGB – Síndrome de Guillain Barré

SARS-CoV-2 - Coronavírus -2 da Síndrome Respiratória Aguda Grave

SN – Sistema Nervoso

SNC – Sistema Nervoso Central

SNP – Sistema Nervoso Periférico

TC – Tomografia Computadorizada

VZV – Varicela Zoster Vírus

WHO – *World Health Organization* (Organização Mundial de Saúde)

Sumário

1 INTRODUÇÃO.....	18
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	19
2.1. Sistema Nervoso.....	20
2.1.2 Sistema Nervoso Central.....	20
2.1.3 Sistema Nervoso Periférico.....	20
2.2 Líquido Cefalorraquidiano.....	21
2.3 Barreiras Neurais.....	23
2.3.1 Barreiras Hematoencefálica (BHE).....	24
2.3.2 Barreira Hematoliquórica (BHH).....	24
3. Neuroinfecções.....	25
Meningite.....	25
Encefalite.....	25
Mielite.....	26
Meningoencefalite.....	27
Encefalomielite.....	27
Síndrome de Guillan Barré.....	27
4. Vírus Neurotrópicos.....	28
4.1 Herpesvírus.....	28
4.2 Enterovírus.....	28
4.3 Arbovírus.....	29
4.4 Erytroviridae.....	30
4.5 Vírus Jhon Cunningham (JCV).....	30
5. Rotas de Neuroinvasão	31
6. Epidemiologia das Neuroinfecções.....	32
7. Diagnóstico das Neuroinfecções.....	34
Rotina de Análise do Liquor.....	35
Análise físico, citológico e bioquímico do liquor.....	35
7.2 Diagnóstico Molecular.....	36

7.3 Biomarcadores.....	37
7.4 Exames de Imagem.....	39
8 JUSTIFICATIVA.....	40
9 OBJETIVOS.....	42
9.1 Objetivo Geral	42
Objetivos Específico.....	42
10 METODOLOGIA.....	43
11 RESULTADOS.....	48
12 DISCUSSÃO.....	72
13 CONCLUSÃO.....	80
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	81
ANEXOS.....	93
APÊNDICES.....	95

1. INTRODUÇÃO

As doenças infecciosas representam uma das principais causas de morbidade e mortalidade global, sendo desencadeadas por microrganismos patogênicos, como bactérias, vírus, parasitas e fungos (MS, 2019). Entre esses, os vírus emergem como um desafio crescente para a saúde pública mundial, responsáveis por diversas doenças infecciosas emergentes e reemergentes (CARMO, 2020).

As infecções por esses patógenos podem variar de síndromes febris a doenças respiratórias agudas. No entanto, as neuroinfecções, que afetam o sistema nervoso central (SNC), podem resultar em uma gama de sintomas neurológicos, como cefaleia, febre, rigidez na nuca, alterações sensoriais, fraqueza muscular e disfunções autonômicas e cognitivas (DONG et al., 2017). Destacam-se como agentes neurotrópicos os arbovírus, HIV, herpesvírus e enterovírus (CARNEIRO et al., 2022; NUNES, 2018).

Recentemente, o mundo enfrentou a pandemia do novo coronavírus, pertencente à família *Coronaviridae* e denominado SARS-CoV-2, causador da síndrome respiratória aguda grave 2 (COVID-19). Essa pandemia teve diversos impactos políticos, sociais, econômicos e afetou os sistemas de saúde globalmente (HELBOK et al., 2020). Até primeiro de setembro de 2023, foram registrados mais de 770.437.327 milhões de casos confirmados e aproximadamente 6.956.900 mil mortes, conforme dados do ministério da saúde. No Amazonas, a COVID-19 resultou em mais de 14.477 óbitos (FVS-AM, 2023).

A literatura atual destaca evidências de que o SARS-CoV-2 pode afetar o SNC e o sistema nervoso periférico (SNP), provocando uma variedade de sintomas neuropsiquiátricos, e/ou neurológicos (CAROD ARTAL, 2021; CRUNFLI et al., 2022). As manifestações neurológicas em pandemias têm consequências a curto e longo prazo frequentemente subestimadas. Apesar dos avanços no tratamento de doenças infecciosas, o envolvimento do SNC continua sendo desafiador, com até 30% dos pacientes em centros terciários de países desenvolvidos sem diagnóstico etiológico para infecções do SNC (LAHIRI; ARDILA, 2020; TSIVGOULIS et al., 2020).

Durante a epidemia de 2015-2017 no Brasil, a infecção pelo zika vírus relacionou-se a casos de microcefalia durante a gestação, resultando em anomalias congênitas e alterações neuropsicomotoras. Além disso, identificou-se uma associação temporal entre a infecção prévia pelo zika vírus e a Síndrome de Guillain-Barré (LIMA; BACHUR; ARAGÃO, 2019; MALTA *et al.*, 2017; MEHTA *et al.*, 2018).

Populações em áreas endêmicas desses vírus enfrentam riscos constantes de infecção, acarretando prejuízos socioeconômicos associados à morbidade. O envolvimento neurológico com risco de vida requer avaliação com base em características clínicas/neurorradiológicas, tipo e gravidade do envolvimento neurológico, dados laboratoriais, imagens e confirmação por testes moleculares (LUNA, 2002; ROMÁN *et al.*, 2020).

Devido à diversidade de vírus que podem causar doenças no SNC, o diagnóstico diferencial é crucial, sendo o líquido cefalorraquidiano (LCR) um indicador vital das condições do SNC (MAWUNTU *et al.*, 2018). Ensaios laboratoriais rápidos, sensíveis e específicos desempenham papel fundamental no diagnóstico e manejo de infecções no SNC, contribuindo para a identificação e desenvolvimento de métodos adaptados a cada região geográfica (ABU-RUMEILEH; LUO, 2023; GARCÍA-MONCÓ, 2014; HE *et al.*, 2016).

Este estudo visa abordar uma estratégia de vigilância laboratorial baseada na observação de manifestações clínicas neurológicas comuns a diversas doenças, visando identificar precocemente o SARS-CoV-2 e/ou outros agentes, auxiliando na detecção de possíveis surtos ou riscos à população vindo desta forma contribuir para a adoção precoce de medidas de controle. Além de identificar doenças já conhecidas, a vigilância das síndromes neurológicas febris pode facilitar a identificação de novos agentes relacionados às meningites, encefalites e síndrome de Guillain-Barré.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

As neuroinfecções são infecções que afetam o sistema nervoso central (SNC) ou sistema nervoso periférico (SNP) que são classificadas de acordo com

sua localização anatômica. As infecções do sistema nervoso central são condições inflamatórias do cérebro e da medula espinhal, incluindo meningite, encefalite, mielite e abscessos(JORGAČEVSKI; POTOKAR, 2023; VENKATESAN; MURPHY, 2018).

Não há restrições de hospedeiros das neuroinfecções virais, entretanto, crianças até 5 anos de idade e imunocomprometidos compõem o grupo de risco mais propenso a desenvolver doenças no SNC. Em recém-nascidos e crianças os sintomas são inespecíficos e iniciam com febre e, não indicam de imediato, se tratar de uma infecção viral no sistema nervoso central (MARINHO, P. E. S. *et al.*, 2021).

2.1 Sistema Nervoso

O sistema nervoso é composto por 100 bilhões de neurônios agrupados em estruturas especializadas que podem ser classificadas em sistema nervoso central e sistema nervoso periférico constituído por nervos e gânglios (HALL; HALL, 2021).

2.2 Sistema Nervoso Central (SNC)

O SNC está localizado no interior do crânio (encéfalo) e no canal vertebral (medula espinhal). O encéfalo é protegido pela caixa craniana e medula espinhal, pela coluna vertebral. Logo abaixo da proteção óssea, existe uma segunda linha de defesa composta por três membranas, denominadas meninges: a dura-máter, localizada mais externamente, a aracnoide e a pia-máter, posicionada mais internamente. Entre a aracnoide e a pia-máter, encontra-se o líquido cefalorraquidiano (LCR) ou liquor (GARCÍA-MONCÓ, 2014).

2.3 Sistema Nervoso Periférico (SNP)

O SNP é constituído de nervos cranianos que estão ligados ao encéfalo, e nervos espinhais, enquanto os espinhais estão ligados à medula espinal, fibras nervosas e gânglios que conectam o SNC aos tecidos periféricos. Como esses

nervos periféricos se estendem para fora das barreiras protetoras do SNC, eles representam uma fenda potencial na armadura protetora do SNC que pode ser explorada por infecções oportunistas. No entanto, esses nervos são protegidos da infecção por células imunes inatas periféricas e adaptativas. (MCGAVERN; KANG, 2011).

2.4 Líquido Cefalorraquidiano

O Líquido cefalorraquidiano (LCR) ou liquor é um líquido incolor, límpido e aquoso, que circula o cérebro e a medula espinhal através do espaço subaracnóide, ventrículos cerebrais e o canal central da medula, apresenta peso molecular baixo e está em equilíbrio osmótico com o sangue, sendo constituído de pequenas concentrações de proteína, glicose, lactato, enzimas, potássio, magnésio e concentrações relativamente elevadas de cloreto de sódio como demonstrado na **figura 1** (GARCÍA-MONCÓ, 2014).

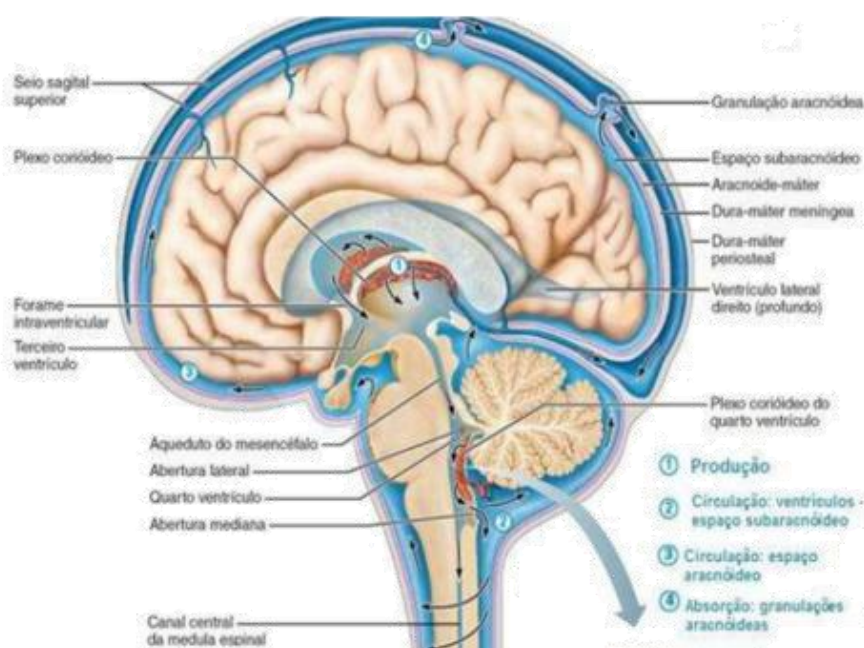


Figura 1. Líquido cefalorraquidiano, localização e produção.

Fonte: Adaptado de Boron, 2015

É produzido nos plexos coroides dos ventrículos cerebrais e no epitélio endotelial, sendo que 70% do líquor é derivado de filtração passiva do sangue e secreção através do plexo coroide. Em adultos, cerca de 500ml de LCR são produzidos por dia. O tempo médio para renovação total do LCR é de quatro em quatro horas. O volume total em adultos varia de 90 ml a 150 ml e, em recém-nascidos (RN), varia de 10 ml a 60 ml (HALL; HALL, 2021).

O líquor possui diversas funções, duas principais funções do LCR são relacionadas à homeostase: proteção e circulação. Ele constitui um eficiente amortecedor de choques para proteger o cérebro e a medula espinhal de impactos, (GIOVANE; LAVENDER, 2018; SHAHAN; CHOI; NIEVES, 2021). Em sua função circulatória, o líquido distribui substâncias nutritivas filtradas do sangue e remove as impurezas e substâncias tóxicas produzidas pela célula do cérebro e da medula.

A coleta da amostra de LCR pode ser realizada por três vias clássicas, sendo a lombar a mais utilizada na rotina, seguida pela suboccipital e a via ventricular. As indicações para a punção podem ser divididas em quatro categorias das principais doenças: Infecção das meninges, hemorragia subaracnóidea, malignidade primária ou metastática, e doenças desmielinizantes (COSTA NETO, 2015; SHAHAN; CHOI; NIEVES, 2021)

A análise do LCR é uma importante ferramenta diagnóstica para muitas condições que afetam o SNC, especialmente as doenças infecciosas. Apesar da baixa especificidade, a contagem de leucócitos no LCR, a determinação dos níveis de proteína, glicose e lactato podem ser úteis na diferenciação de infecções causadas por diferentes grupos de patógenos ou malignidade (COSTA NETO, 2015). O exame direto e as culturas podem identificar organismos causadores de infecções bem como suas sensibilidades a antibióticos. Testes adjuvantes como aglutinação em látex, diferentes ensaios imunológicos e reações moleculares têm taxas de sensibilidades e especificidades crescentes (ABU-RUMEILEH; LUO, 2023; HE *et al.*, 2016).

2.5 Barreiras Neurais

O sistema nervoso está protegido por barreiras, das quais podemos destacar a barreira hematoencefálica, que restringe a permeabilidade de substâncias do sangue para o tecido nervoso; a barreira hematoliquórica, limita a passagem do sangue para o LCR, e também a barreira encéfalo-liquórica que restringe a circulação do líquido para o tecido nervoso, e a barreira hematorretiniana que atua contra macromoléculas e proporciona um mecanismo de controle do fluxo de fluidos e metabólitos; e barreira hematoneural existente no SNP, que também limita a interação entre os nervos periféricos e o sangue circulante como demonstrado na figura 2 (SCHMITT *et al.*, 2017).

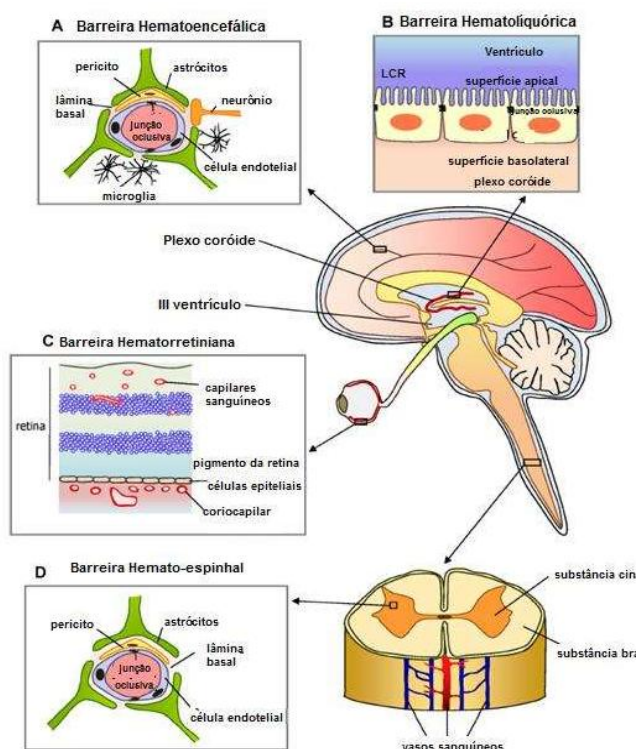


Figura 2: Barreiras Neurais
Fonte: Adaptado de SCHMIT, 2017

2.6 Barreira Hematoencefálica (BHE)

Essa barreira é composta por vasos sanguíneos que regulam estritamente o movimento de íons, moléculas e células entre o sangue e o cérebro. Essa regulação precisa permitir uma função neuronal adequada e protege o tecido neural de toxinas e patógenos (SMITH *et al.*, 2022). É constituída por células endoteliais que ficam alinhadas com os capilares. Quanto à sua localização, pode-se encontrá-la no capilar cerebral, que é formado pelo endotélio e por uma fina lâmina basal, possui junções oclusivas que conferem uma barreira com baixa permeabilidade, tendo importância fisiológica e clínica, pois regula a passagem para o tecido nervoso não só de substâncias a serem utilizadas pelos neurônios, mas também de medicamentos e partículas tóxicas (GARCÍA-MONCÓ, 2014).

2.7 Barreira Hematoliquórica (BHL)

A barreira hematoliquórica é formada pelo epitélio ependimário, que reveste os plexos coróides localizado nos ventrículos cerebrais, pelas células imunes e capilares fenestrados e pela presença das junções de oclusão que unem as células próximas à superfície ventricular. As células epiteliais do plexo coróide apresentam moléculas transportadoras como as Na⁺/K⁺ATPase, transportador Na⁺/NaHCO₃⁻ (co-transportador eletrogenico) e co-transportador de potássio e cloreto (KCC4). A BHL exerce uma função de manter a homeostase do cérebro, pois permite a passagem direta de água, íons, nutrientes para o interior do LCR (SCHMITT *et al.*, 2017).

Embora o sistema nervoso esteja protegido pelas barreiras fisiológicas que separam a corrente sanguínea e o cérebro, há vários patógenos que são capazes de invadir o cérebro, ocasionando uma disfunção da BHL, com a perda da homeostase, sendo considerado o mecanismo de progressão de várias doenças no SNC (BENZ AND LIEBNER, 2020).

3. Neuroinfecções

As infecções do SN são classificadas de acordo com sua localização anatômica. A infecção das meninges, cérebro e medula espinhal resulta em meningite, encefalite, abscesso cerebral e mielite, respectivamente. A infecção pode ser limitada a um único compartimento anatômico ou pode envolver vários locais (por exemplo, meningoencefalite e encefalomielite). Com base na duração, a infecção pode ser classificada em aguda, subaguda, crônica ou recorrente (SWANSON and, MCGAVERN, 2015).

➤ Meningite

A meningite é uma inflamação das membranas que recobrem o sistema nervoso central. Essa inflamação pode ser originada por vários agentes sendo os bacterianos mais prevalentes. A meningite apresenta alta taxa de letalidade e deixa muitas sequelas nos pacientes que sobrevivem à doença. Ela se manifesta genericamente com febre, cefaleia intensa, náuseas e vômitos, rigidez na nuca e sinais de kerning e Brudzinski (irritação meníngea) positivos (FILHO; MOREIRA, 2019).

As características epidemiológicas de cada tipo de meningite, e seus quadros clínicos laboratoriais, variam conforme o agente etiológico. Sobre esta doença deve-se ter em mente que ela apresenta alta letalidade e alto potencial para lesar os nervos periféricos, assim, a meningite pode deixar sequelas graves se não tratada/monitorada de modo eficaz. Para evitar surtos de meningite é importante manter uma alta cobertura de vacinação e um sistema de vigilância epidemiológica efetivo (ATTAR *et al.*, 2024; SARAIVA *et al.*, 2015; WHO, 2021).

➤ Encefalite

A encefalite, um processo inflamatório que afeta o parênquima encefálico (cérebro, tronco cerebral e cerebelo), representa a manifestação mais grave no

sistema nervoso central. Em grande parte dos casos, a suspeita de encefalite surge quando sintomas ou sinais de disfunção neurológica, como cefaleia, diminuição do nível de consciência, convulsões, déficits focais, papiledema e alterações comportamentais, surgem abruptamente (24-72 horas). Esses sintomas costumam se manifestar juntamente com sintomas sistêmicos, tais como febre, linfadenopatia, erupção cutânea, artralgia, mialgia, sintomas respiratórios, sintomas gastrointestinais ou história de exposição a fatores de risco conhecidos, como viagens para áreas endêmicas, mordidas de animais, exposição a insetos ou carrapatos (FILHO; MOREIRA, 2019; VENKATESAN; MURPHY, 2018).

Geralmente, o diagnóstico de encefalite é confirmado quando manifestam apresentação clínica e marcadores substitutos de inflamação cerebral, como a presença pleocitose no LCR ou inflamação evidente em exames de imagem, especialmente se o patógeno for detectado (DAGRA; LYERLY; LUCKE-WOLD, 2023; SOLOMON; HART; BEECHING, 2007).

➤ **Mielite**

A mielite caracteriza-se por infecções espinhais e paraespinhais são um grupo de doenças que podem afetar a medula espinhal, corpos vertebrais, discos intervertebrais e/ou tecidos paraespinhais adjacentes levando ao comprometimento de tratos longitudinais motores, sensoriais e autonômicos da medula espinhal, manifesto clinicamente por paraparesia ou tetraparesia (com flacidez e areflexia nas fases iniciais), disfunção esfinteriana e perda sensorial em nível sensitivo. Existem formas parciais com diferentes combinações sintomáticas em distintas gravidades (MIYOSHI, 2023).

O diagnóstico clínico da afecção sedimenta-se através da verificação de alteração de sinal da medula espinhal acompanhada por realce pelo gadolínio ao exame de ressonância magnética e pela presença de pleocitose liquórica. Infecções por herpes vírus, enterovírus e flavivírus são consideradas as principais causas infecciosas das mielites (BRASIL, 2017).

➤ **Meningoencefalite**

O que difere as encefalites das meningites é o comprometimento sensorial em curto prazo, os quadros variam de breves confusões mentais ao delírio, torpor e coma. Quando as infecções virais afetam tanto as meninges quanto o cérebro, nestes casos o quadro é chamado de meningoencefalite (SEJVAR, 2014).

➤ **Encefalomielite**

O termo encefalomielite refere-se à inflamação no cérebro e na medula espinhal que resulta da resposta imune à infecção pelos vírus. Em humanos, os vírus mais comumente identificados como causas de encefalomielite viral são herpesvírus e enterovírus (GRIFFIN, 2011).

➤ **Síndrome de Guillain Barré**

A Síndrome de Guillain Barré (SGB), conhecida como polirradiculoneurite aguda, é a principal causa global de paralisia flácida generalizada, afetando principalmente pessoas entre 20 e 40 anos (MANFROI; DALARI, 2022). Geralmente, os casos são esporádicos e caracterizados por uma condição autoimune que atinge a mielina dos nervos periféricos de forma aguda ou subaguda. Cerca de 60% a 70% dos pacientes desenvolvem a SGB após uma doença aguda ocorrida 1 a 3 semanas antes dos sintomas. Infecções como *Campylobacter jejuni*, citomegalovírus, vírus Epstein Barr e zika são comuns desencadeadores, assim como hepatite A, B e C, influenza e HIV (LIMA; BACHUR; ARAGÃO, 2019).

4. Vírus Neurotrópicos

4.1 Herpesvírus

A família *Orthoherpesviridae* (antiga *Herpesviridae*) compreende vírus de DNA dupla fita revestido por um envelope lipídico. Possui importantes agentes que pertencem a subfamília *Alphaherpesvirinae* composta pelos: herpes simplex vírus – 1 (HSV-1/HHV-1) herpes simplex vírus – 2 (HSV-2/HHV-2); varicela-zoster (VZV/HHV-3), *Gamaherpesvirinae* com o epstein barr (EBV/HHV-4), *Betaherpesvirinae* com citomegalovírus (CMV/HHV-5), dentre outros (ICTV, 2023).

Os herpesvírus humanos (HHVs) são responsáveis por diversas doenças neurológicas graves que afetam tanto indivíduos imunocompetentes quanto imunocomprometidos. Esses vírus podem causar disfunção e danos aos tecidos neurais, nervos periféricos e gânglios espinhais, seja por meio de infecção direta ou através de mecanismos imunológicos, são reconhecidos como causadores de encefalite, sendo que VZV e HSV-2 também podem causar meningite aguda (MEYDING-LAMADÉ; STRANK, 2012). O vírus Epstein-Barr (EBV) está associado à meningoencefalite e mielite/radiculite, enquanto VZV, CMV, EBV e HSV-2 podem causar mielite. Além disso, a concomitância de ventriculite e encefalite é causada por VZV e CMV, vale ressaltar que indivíduos imunocomprometidos apresentam diferentes incidências e padrões de infecções no sistema nervoso central periférico, como linfomas ou leucoencefalite mediada por VZV e EBV (CARNEIRO et al, 2022).

4.2 Enterovírus

O gênero enterovírus (EV) da família *Picornaviridae* apresenta 69 sorotipos que infectam humanos como: poliovírus; coxsackievírus (A1-A24 e B1-B6); echovírus (1-33); enterovirus (EV68-EV73). Os EVs são um dos menores vírus conhecidos, sendo composto por uma fita simples de ácido ribonucleico (RNA) envelopado. A transmissão ocorre por via oral-fecal devida às condições precárias de higiene. Os EVs são os principais agentes causadores da encefalite viral aguda quanto da meningite viral em crianças. A incidência de sequelas e a letalidade da

encefalite viral com etiologia confirmada foram de 7,5% e 0,8%, respectivamente respondendo por aproximadamente a 80% dos casos (JUNHONG Ai et al, 2017).

4.3 Arbovírus

Em regiões endêmicas como é o caso do Amazonas, os arbovírus (vírus transmitidos por mosquitos e carrapatos) representam uma ameaça a população, as infecções por arbovírus podem resultar em um amplo espectro de síndromes clínicas, desde doença febril branda até febres hemorrágicas e formas neuroinvasivas. Tendo como principais vírus, os vírus das famílias *Flaviviridae* e *Togaviridae*, que são vírus do tipo RNA fita simples, de polaridade positiva. São transmitidos pelo mosquito vetor *Aedes aegypti* e o *A. albopictus* (SANTOS et al, 2015).

➤ **Flavivírus**

Os vírus da família *Flaviviridae*, gênero *Orthoflavivirus* compreendem 53 espécies, dentre estas destacam-se as espécies relacionadas a casos de encefalites, meningoencefalite como o vírus da Encefalite de Saint-Louis (SLEV), Vírus Oeste do Nilo ou *Orthoflavivirus nilense* (WNV), Rocio (ROCV), Orthoflavivirus denguei (DENV 1, 2, 3 e 4) e Orthoflavivirus zikaense (ZIKV) (ICTV, 2023).

➤ **Alphavírus**

A família *Togaviridae*, composta por 40 membros, inclui o gênero *Alphavirus*. Nesse gênero, destacam-se os vírus da Encefalite Equina Venezuelana (VEEV), Encefalite Equina do Leste (EEEV), Encefalite Equina do Oeste (WEEV), Chikungunya (CHIKV) e Mayaro (MAY) (ICTV, 2023).

➤ **Bunyaviridae**

É uma família composta por cinco gêneros, dentre estes destaca - se o *Orthobunyavirus*, que possuem 48 espécies e destas, duas estão relacionadas com infecção no sistema nervoso central: o Vírus da Encefalite da Califórnia e o *Orthobunyavirus* Oropouche (OROV) envolvidos em complicações neurológicas em

pacientes com meningite asséptica e meningoencefalite (BASTOS, M. S. *et al.*, 2014; NAVECA *et al.*, 2017).

4.4 Erythroviridae

O parvovírus B-19 humano (Erythrovírus) é um vírus de DNA fita simples não envelopado da antiga família (*Parvoviridae*), é responsável por um pool de doença, desde condições benignas da infância até a morte fetal, este vírus está associado a 26 manifestações neurológicas variadas, tais como encefalite, meningite, acidente vascular e neuropatia periférica, tanto em pacientes imunodeficientes quanto em indivíduos imunocompetentes (FIGUEIREDO *et al.*, 2019; JUN *et al.*, 2017).

4.5 Poliomavírus

À família *Polyomaviridae* humano e o gênero *Betapoliomavírus* possuem duas espécies de vírus. O JC vírus que pertence a espécie *Betapoliomavírus secu hominis* e foi identificado pela primeira vez em 1965. Este vírus foi batizado com dois primeiros nomes do paciente diagnosticado com uma doença desmielinizante fatal do sistema nervoso central, conhecida como leucoencefalopatia multifocal progressiva (LEMP) (ICTV, 2021).

O vírus BK, por outro lado, geralmente não está associado com doença neurológica, mas com cistite hemorrágica e estenose ureteral em pacientes imunocomprometidos e pertence a espécie *Betapoliomavírus hominis* (ICTV, 2021).

A detecção de DNA de BKV e JCV foi relatada em tecido cerebral de pacientes imunocompetentes sem doença neurológica, como doença maligna ou sistêmica e no tecido cerebral de pacientes idosos. A detecção de DNA de JCV e especialmente DNA de BKV no LCR desses pacientes adultos imunocompetentes (idade 28–42 anos) com meningite apoia uma nova associação desses vírus com doença neurológica diferente de PML. A presença de DNA de poliomavírus no LCR de pacientes, que pode ser a consequência de infecção primária ou da idade dos

pacientes, é mais provavelmente devido à reativação de um vírus latente após infecção prévia do SNC.

Estima-se que cerca de 80% da população tenha esses vírus, geralmente sendo infectado na infância de forma assintomática. Em um sistema imunológico sadio os poliomavírus não oferecem riscos maiores. Contudo, indivíduos com o sistema imunológico comprometido como pessoas convivendo com HIV, transplantados e imunossuprimidos há chance de reativação do vírus (AHYE et al, 2020).

5. Rotas de neuroinvasão

Embora a maioria dos vírus se replique em tecidos periféricos, alguns desenvolveram estratégias únicas para se mover para o sistema nervoso, as principais estratégia usada pelos vírus, são pelas vias:

Hematogênica: Patógenos presentes na corrente sanguínea podem atravessar a barreira hematoencefálica e infectar o cérebro ou a medula espinhal através do mecanismo cavalo de tróia.

Migração direta: Alguns patógenos podem se mover diretamente dos tecidos circundantes, como o ouvido médio ou os seios paranasais, para o SNC.

Disseminação neural: Alguns vírus, como o herpesvírus, podem se espalhar ao longo dos nervos periféricos e invadem através das fibras axônicas o SNC.

Trauma ou cirurgia: Lesões na cabeça ou procedimentos cirúrgicos podem fornecer uma rota de entrada para patógenos (DANDO *et al.*, 2014; VAN RIEL; VERDIJK; KUIKEN, 2015; ZHANG *et al.*, 2021).

6. Epidemiologia das Neuroinfecções

O estudo *Global Burden of Diseases Injuries and Risk Factors* (GBD) revela o impacto significativo de diferentes doenças neurológicas na saúde das pessoas. Entre 1990 e 2016, observou-se um aumento absoluto de 39% no número de óbitos e de 15% no número de anos de vida perdidos por incapacidade decorrente dessas condições. As doenças neurológicas foram identificadas como a principal causa de tais desfechos em 2016. Dentre as 15 principais condições neurológicas analisadas, apenas quatro apresentaram redução nas taxas de mortalidade e incapacidade. Essas condições compreendem as doenças infecciosas, tais como meningite, tétano e encefalite (FEIGIN *et al.*, 2019).

De acordo com o *Disability Adjusted Life Years* (DALY) a taxa global para meningite por idade, apresentou uma redução importante de -57,23 (II 95% -64,36, - 48,55), no período de 1990 a 2019. Em 21 países do GBD, o peso da meningite também apresentou diferenças importantes. No entanto, na África Subssariana a meningite classificou-se como a terceira doença entre as 18 doenças neurológicas mais importantes. Em termos de idade, a meningite impactou principalmente o grupo pós-neonatal e de 1 a 4 anos de idade, ressaltando que ela é uma doença de importância mundial especialmente em crianças menores de cinco anos. Apesar dos avanços, ainda há milhões de casos e mortes por meningite em todo o mundo (DING *et al.*, 2022). A encefalite, em 2019 resultou em 4.797,41 DALY (taxas de anos de vida ajustados por incapacidades), compreendendo uma redução de 54,28%, passando do 9º para 12º lugar, com maior impacto em neonatos e crianças de 1 a 9 anos.

No Brasil, de 2007 a 2020, foram registrados 393.941 casos suspeitos de meningite, com 265.644 casos confirmados, sendo a meningite viral a mais comum (121.955 casos), seguida pela bacteriana (87.993 casos). As meningites bacterianas mais frequentes foram por outras bactérias (40.801 casos), doença meningocócica (26.436 casos), meningite pneumocócica (14.132 casos), meningite tuberculosa (4.916 casos) e por *H.influenzae* (1.708 casos). Houve também 43.061 casos não especificados, 10.464 por outras causas e 2.171 com etiologia desconhecida. A

introdução da vacina meningocócica C levou a uma redução no coeficiente de incidência, caindo de 1,5 caso para 0,4 caso por 100 mil habitantes nos últimos quatro anos (2017-2020). Foram registrados 5.581 óbitos, com uma taxa de letalidade total de 21%, variando entre 20% e 24% durante o período analisado (AGUIAR *et al.*, 2022).

Os registros da doença no estado do Amazonas reduziram em 16,12% no primeiro quadrimestre deste ano em comparação com o mesmo período de 2021, de acordo com dados da Fundação de Vigilância em Saúde do Amazonas (FVS, 2021). Em 2021, foram registrados 31 casos, enquanto 2022, foram registrados 26 casos de meningite e 1 caso confirmado de etiologia viral (AGUIAR *et al.*, 2022).

Em relação às doenças neuroinvasivas por arbovírus a SGB (n=269; 37,6%) e a encefalite viral aguda (n=171; 23,9%) foram os agravos mais notificados no período de 2017 a 2019. A mielite transversa e a encefalite disseminada aguda foram notificadas em menor número, representados por 44 (6,2%) e 11 (1,5%) casos, respectivamente. Vale ressaltar que categoria “outras” apresentou 220 (30,8%) registros no período analisado e o aumento significativo dessas doenças nos respectivos anos citados (MS, 2022).

Devido a situação da COVID-19, para avaliar os tipos e as frequências das manifestações neurológicas relatadas associadas à COVID-19, a OMS auxiliou com uma revisão sistemática e uma meta-análise envolvendo dados de 145.721 pacientes com infecções agudas por COVID-19 derivados de 350 séries de casos. A maioria dos pacientes (n = 129.786, 89%) incluídos na revisão foram hospitalizados. Um total de 23 sintomas neurológicos agudos e 14 diagnósticos neurológicos foram relatados na literatura. Até $\frac{1}{3}$ (n = 48.059) dos pacientes com COVID-19 tiveram algum tipo de manifestação neurológica, e 1 em 50 desenvolveu um acidente vascular cerebral. Em pacientes com COVID-19 com idade superior a 60 anos, a manifestação neurológica mais frequente foi confusão aguda/delírio (prevalência combinada: 34%; IC 95%: 23%-46%) (OPAS/MS, 2021).

7. Diagnóstico das Neuroinfecções

Heinrich Quincke realizou a primeira punção lombar in vivo em 1891, marcando um avanço significativo na busca por um método seguro de remover o excesso de fluido em uma criança com hidrocefalia. Utilizando agulha e bisturi, Quincke conduziu estudos abrangentes, medindo a pressão intracraniana, os níveis de glicose e proteína, além de realizar análises bacteriológicas e citológicas (AMARO, 2022). Esse marco impulsionou a análise do líquido cefalorraquidiano (LCR), tornando-se uma prática rotineira para diagnósticos de doenças neurológicas.

Avanços subsequentes nas técnicas microbiológicas aprimoraram a análise do LCR. A descoberta da xantocromia em hemorragias, a identificação de células neoplásicas, o teste de Wasserman para sífilis e a eletroforese para gamaglobulinas em doenças como neurosífilis e esclerose múltipla foram fundamentais (QUEIROZ et al, 2003; AZEVEDO, 2012).

O liquor devido à sua proximidade com as estruturas cerebrais e medulares, possui um alto potencial diagnóstico, sendo um reservatório de biomarcadores para doenças neurológicas. Ele desempenha papel crucial no diagnóstico etiológico e no acompanhamento de processos inflamatórios infecciosos ou neoplásicos nos órgãos relacionados (SBPC/ML, 2020).

Os métodos de teste do LCR não específicos, como química, contagem de células, coloração de Gram e cultura, coexistem com técnicas patogênico-específicas, incluindo reações de anticorpos e detecção direta de antígenos ou ácidos nucleicos por PCR. Essas técnicas, embora tradicionais, apresentam vantagens e limitações (KANJILAL et al, 2019; VETTER et al, 2020).

Apesar do isolamento e a cultura de microrganismos indicarem a presença de microrganismos viáveis, eles são menos sensíveis e demorados. Surge, portanto, a necessidade urgente de explorar abordagens diagnósticas mais abrangentes, rápidas e precisas para aprimorar a eficiência do diagnóstico de infecções do sistema nervoso.

7.1 Rotina de Análise do Liquor

O processo de análise do liquor passa por setores como bioquímica/imunológica; microbiologia e biologia molecular e segue se um fluxo para devida investigação.

A rotina em investigação dos processos inflamatórios agudos, crônicos e infecciosos do SN, são divididos em várias categorias que, em geral, podem ser prontamente distinguidas entre si através do liquor, como primeiro passo ao diagnóstico etiológico. O exame compreende várias etapas:

Aspectos físicos: cor, turbidez antes e após centrifugação.

Análises bioquímicas: ácido láctico, glicose, proteínas, cloretos.

Citologia: leucócitos, hemácias e diferencial de leucócitos.

Microbiologia: bacterioscopia por Gram, Ziehl, cultura.

Micologia: pesquisa de fungos, tinta da china.

Imunologia: Pesquisa de anticorpos, biomarcadores, citocinas, quimiocinas.

Biologia molecular: Pesquisa de antígenos, detecção de ácidos nucleicos, sequenciamento genético.

Análise física, Citológica e Bioquímica do Liquor

Nas infecções virais do SNC o liquor apresenta, geralmente, aspecto límpido. Na maioria das vezes a contagem celular é inferior a 500 células/mm³, com predomínio linfócitos, embora os polimorfonucleares (neutrófilos) possam predominar nas primeiras horas da infecção. (ERRANTE *et al.*, 2016). Os níveis de proteínas apresentam-se normais ou ligeiramente aumentados, enquanto a glicose mantém-se inalterada. Algumas exceções são observadas em casos de infecção pelos herpesvírus 1 e 2, nas quais pode ser verificada a presença de 50 a 800 células/mm³, podendo chegar a 2.500 células/mm³, além de elevação nos níveis proteicos, podendo atingir 100mg/dL, e possível diminuição da glicose no decorrer da infecção (COSTA NETO, 2015).

O quadro a seguir resume as características normais do líquor e as alterações observadas em determinados estados patológicos de origem infecciosa, com relação aos parâmetros: aspecto do LCR, cor, análise citológica e bioquímica.

Tabela 1. Característica do Líquor em determinadas patologias

Exames laboratoriais	Bacteriana	Meningites Tuberculosa	Viral	Encefalites	Neurocisticercose	Meningoencefalia por fungos	Normal
Aspecto	Turvo	Límpido ou ligeiramente turvo(opalescente)	Límpido	Límpido	Límpido ou ligeiramente turvo	Límpido 2	Límpido 3
Cor	Branca-leitosa ou ligeiramente xantocrômica	Incolor ou xantocrômica	Incolor ou opalescente	Incolor ou opalescente	Incolor	Incolor ou opalescente	Incolor, cristalino "água de rocha"
Coágulo	Presença ou ausência	Presença(fibrina delicada)ou ausência	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	
Cloretos	Diminuídos	Diminuídos	Normal	Normal	Normal	Normal	45 a 100mg/dl
Glicose	Diminuída	Diminuída	Normal	Normal	Normal	Normal	15 a 50mg/dl
Proteínas totais	Aumentadas	Aumentadas	aumentadas	Discretamente aumentadas	Discretamente aumentadas	Discretamente aumentadas	
Globulinas	Positiva(Gama-globulinas)	Positiva(alta e gama globulina)	Negativas ou Positiva	Aumento discreto(Gama-globulinas)	Normal	Aumento(Gama- globulina)	0 a 5mm
Leucócitos VDRL	200 a milhares (neutrófilos)	25 a 500 (linfócitos)	5 a 500 (linfócitos)	1 a 100 (linfócitos)	1 a 100 (linfócitos)	1 a 100 (linfócitos ou cosinófilos)	
Imunoelektroforese (CIE)	Reagente	-	-	-	-	-	
Latex	Reagente	-	-	-	-	-	
Microscopia	Positiva para DGN, BGN,CGP,BGP OU não	Negativa Gram	Negativa (Gram)	Negativa (Gram)	Positiva(tinta nanquim para a C neoformans ou para Candida sp)	Negativa (Gram)	
Cultura	Crescimento em agar chocolate	Crescimento em meio de lowestein-jansen		-	Crescimento em meio Sabouraud e Agar sangue		

Fonte: Adaptado de MS, 2010.

7.2 Diagnóstico Molecular

Com advento da biologia molecular, a descoberta da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) trouxe enormes benefícios e desenvolvimento científicos como o sequenciamento de genomas; expressão de genes em sistemas recombinantes; o estudo da genética molecular; a determinação rápida de paternidade; e o diagnóstico rápido de doenças infecciosas, uma das técnicas de escolha para diagnóstico de infecções do SN, alternativa importante devido a sua sensibilidade, especificidade e rapidez, além do processamento da reação em sistema fechado, sem a necessidade do manuseio de produtos pós-amplificação (ARCHANJO et al, 2021).

Além disso, a possibilidade de monitorar a PCR em tempo real revolucionou o processo de quantificação de fragmentos dos ácidos nucleicos de maneira precisa e com maior reprodutividade, porque determina valores durante a fase exponencial da reação, permitindo uma leitura automatizada dos dados obtidos tornando os resultados mais confiáveis. A PCR em tempo real quantitativa possibilita estimar o número de cópias do alvo de interesse, que pode ser um gene ou um fragmento do genoma viral, por exemplo (NOVAIS e ALVES, 2004). A maioria dos laboratórios clínicos ainda não disponibilizam dessa técnica na rotina de análise clínica por necessitar de treinamento técnico e de instrumentos sofisticados (OLIVEIRA et al, 2020).

7.3 Biomarcadores

Na prática clínica hospitalar, os biomarcadores desempenham um papel crucial no diagnóstico, prognóstico e estratificação de risco para pacientes com condições de origem infecciosa (HWANG; HWANG; BUENO, 2018; KERMALI *et al.*, 2020).

Os biomarcadores são ferramentas usadas para identificar a presença ou ausência de doenças, monitorar alterações no curso clínico de uma patologia, interpretar a resposta a uma intervenção ou ambiente, prever a resposta ao tratamento, identificar populações com alto risco de progressão, recorrência ou eventos clínicos, detectar suscetibilidade ou risco aumentado e determinar a probabilidade de eventos adversos (CALIFF, 2018).

Os biomarcadores do liquor são úteis para determinar as respostas inflamatórias do SN à infecção, seja pela detecção direta de patógenos invasores ou pelas respostas inflamatórias do hospedeiro. Entre eles, a neopterinina (um marcador de ativação celular, incluindo macrófagos/micróglia e astrócitos); proteína de cadeia leve (NfL), um componente estrutural dos axônios mielinizados; e a proteína tau total (T-tau), uma molécula intracelular localizada nos axônios (DI STEFANO et al, 2020, CHAUMONT et al, 2022).

A neopterinina (TNP) é derivada do trifosfato de guanosina, é uma citocina biologicamente estável liberada por monócitos/macrófagos após ativação pelo interferon – gama (INF- γ), sendo considerada um indicador sensível da ativação imune mediada por células, resposta imune antiviral e está fortemente ligada à hiperinflamação (REIBNNEGER et al, 1989, OZGER et al, 2021). Foi demonstrado que a neopterinina no cérebro é produzida de forma independente, pois não há correlação entre as concentrações de neopterinina no plasma e no LCR de pacientes com doenças imuno-inflamatórias (FREDRIKSON et al, 1987).

Os neurofilamentos são compostos por cinco filamentos intermediários que diferem em suas bases e massas moleculares, sendo o maior deles o neurofilamento de cadeia pesada, seguido em ordem decrescente por peso molecular, cadeia média, cadeia leve, a-internexina e periferina (ELMERS et al, 2023). Eles contribuem para o crescimento e estabilidade dos axônios nos nervos centrais e periféricos, sendo os principais componentes do citoesqueleto em neurônios maduros. Encontrados no citoplasma de neurônios no SNP/SNC, são mais abundantes em axônios, e em corpos celulares, dendritos e sinapses, podendo ser liberados de neurônios secundários a dano axonal ou neurodegeneração (GAFSON et al, 2020; FREEDMAN et al, 2024).

A proteína tau é uma molécula intracelular localizada nos axônios e possui vários sítios de fosforilação. Responsável por estabilizar os microtúbulos neuronais, sua regulação é feita por meio de fosforilação. Indivíduos normais apresentam baixos níveis de proteína Tau no líquido, e a quantificação concomitante da proteína Tau total do LCR e do NfL pode ser utilizada para determinar a extensão neuronal de pacientes com encefalopatias (ABU-RUMEILEH et al., 2023; MATTSSON et al., 2016).

É crucial implementar a análise dessas substâncias em amostras de LCR, uma vez que a neopterinina, neurofilamento e proteína tau são marcadores inflamatórios expressos em várias células nervosas (células gliais, astrócitos, micróglia). Ambos os marcadores são relevantes para expressar a evolução e/ou intensidade de uma doença neuroinflamatória de origem infecciosa. Juntos, esses

biomarcadores ajudam a caracterizar a magnitude, a qualidade e o efeito das infecções virais do sistema nervoso.

7.4 Exames de Imagem

A ressonância magnética (RM) e a tomografia computadorizada (TC), são importantes para avaliar as alterações estruturais do sistema nervoso causadas pelas doenças neuroinfecciosas. Esses exames podem identificar lesões, inflamações, abscessos, edema cerebral e outras anormalidades que auxiliam no diagnóstico diferencial e na avaliação da gravidade da infecção. A ressonância magnética, em particular, oferece imagens mais detalhadas e precisas, permitindo uma melhor visualização das estruturas do sistema nervoso central (CBR, 2017).

8. JUSTIFICATIVA

As infecções agudas que afetam o Sistema Nervoso Central (SNC) representam um desafio significativo para a saúde pública global, devido aos altos índices de morbidade, sequelas neurológicas e mortalidade. O *estudo Global Burden of Diseases Injuries and Risk Factors* (GBD) revelou um aumento alarmante de 39% no número de óbitos e 15% nos anos de vida perdidos por incapacidade decorrente de condições neurológicas entre 1990 e 2016. Diante desse cenário, o diagnóstico diferencial torna-se crucial, considerando o número expressivo de vírus com potencial neurotrópico, incluindo arbovírus, herpesvírus e enterovírus.

Nossa abordagem abrangente, investigando múltiplos agentes virais no liquor, é fundamental para uma compreensão mais completa das neuroinfecções. A inclusão de pacientes com infecção confirmada por SARS-CoV-2 (22,2% da amostra) permite uma análise única das manifestações neurológicas associadas à COVID-19, contribuindo significativamente para o entendimento das complicações neurológicas da doença.

A estratégia de vigilância laboratorial adotada, baseada na observação de manifestações clínicas neurológicas comuns a diversas doenças, visa identificar precocemente o SARS-CoV-2 e outros agentes. Esta abordagem pode auxiliar na detecção de possíveis surtos ou riscos à população, contribuindo para a adoção precoce de medidas de controle.

Nosso estudo combina análises clínicas e laboratoriais, oferecendo uma visão abrangente das neuroinfecções. A inclusão de biomarcadores como neopterin, proteína de cadeia leve (NfL) e proteína tau total (T-tau) fornece dados valiosos sobre os mecanismos patogênicos e prognósticos. Esses resultados têm o potencial de contribuir significativamente para o manejo adequado, prognóstico e tratamento dos pacientes com manifestações neurológicas, especialmente no contexto da pandemia de COVID-19.

Sendo realizado na Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado, instituição de referência no Amazonas, o estudo oferece dados

importantes sobre o perfil epidemiológico das neuroinfecções na região amazônica. Esses resultados podem auxiliar na formulação de políticas de saúde pública mais eficazes para o manejo e prevenção de neuroinfecções, especialmente em cenários de emergência sanitária como a pandemia de COVID-19.

Em suma, este estudo se justifica pela sua abordagem abrangente e multidisciplinar das neuroinfecções no contexto da pandemia de COVID-19. Seu potencial para gerar conhecimentos valiosos pode impactar diretamente a prática clínica, a vigilância epidemiológica e as políticas de saúde pública, contribuindo para uma melhor compreensão e manejo dessas condições complexas.

9. OBJETIVOS

9.1 Objetivo Geral

Monitorar as neuroinfecções durante a pandemia de COVID-19 em uma unidade terciária de saúde em Manaus.

Objetivos Específicos:

- 1- Investigar no líquido cefalorraquidiano os vírus SARS-CoV-2, dengue, Zika, Chikungunya, vírus Oeste do Nilo, JCV, enterovírus, Herpesvírus.
- 2- Descrever os sintomas clínicos e as manifestações neurológicas associados aos agentes detectados.
- 3- Analisar os casos de COVID-19 com manifestação neurológica grave versus moderado.
- 3- Estudar os biomarcadores, neopterinina, neurofilamento e proteína Tau total e sua relação com agentes causadores de manifestação neurológicas.

10. METODOLOGIA

Desenho do Estudo

Estudo observacional de coorte retrospectiva para estimar a prevalência das neuroinfecções virais em pacientes com manifestações neurológicas durante a pandemia de Covid-19.

Local do Estudo

Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD), instituição de saúde referência no diagnóstico e tratamento de doenças infecciosas no Amazonas e importante centro de cuidados e tratamento para PVHA, incluindo a TARV. Um hospital que oferece serviços de internação e ambulatório, e possui um centro cirúrgico com ambulatório de LCR sob coordenação de neurologistas.

População e período do estudo:

A população foi constituída de paciente em qualquer idade de ambos os sexos, com manifestação neurológica do sistema nervoso central ou periférico, suspeitos ou não de Covid-19, apresentando sintomas neurológicos como rigidez de nuca, febre, exantema e alteração do nível de consciência, fraqueza muscular, atendidos na demanda espontânea da FMT-HVD e outros hospitais da rede do SUS e que tiverem sido submetidos à punção lombar no período de março de 2020 a julho de 2022, conforme os protocolos clínicos já estabelecidos nas Unidades Hospitalares, e tiveram as respectivas amostras de LCR encaminhadas para as análises microbiológicas e virológicas no Laboratório de Bacteriologia da FMT-HVD. O presente estudo incluiu uma amostragem não probabilística de conveniência, composta por 207 pacientes com síndrome neurológica aguda de suspeita viral, (107 homens e 99 mulheres), com idades entre (2 meses e 91 anos).

Critério de Inclusão:

- Apresentação de sintomas neurológicos (cefaleia, crise convulsiva, rebaixamento do nível de consciência, entre outros) de suspeita viral;
- Ter ou não diagnóstico confirmado para SARS-COV-2 por RT-qPCR na secreção de nasofaringe.
- Amostra de LCR com volume superior a 500ul

Critério de Exclusão:

Amostras de LCR de pacientes com trauma, DVE, DVP;

Infecções neurológicas confirmadas para outros agentes infecciosos como bactérias, fungos e parasitas.

Coleta dos dados

As informações relevantes ao estudo, como as variáveis sociodemográficas, (idade, sexo, gênero, data de nascimento, local de residência, procedência hospitalar). Informações clínicas (febre, tosse, vômito, diarreia, odinofagia, anosmia, disgeusia, astenia, mialgia). Manifestações neurológicas (cefaleia, rigidez de nuca, estado alterado de consciência, crise convulsiva, paresia, distúrbio do movimento, e neuropatia periférica), foram obtidas a partir do prontuário eletrônico (Sistema *iDoctor*) e requisições internas. Todas as informações foram gerenciadas em banco de dados no *Software Ressorce Electronic Data Capture* (RedCap) versão 12.2.10 – © 2022 Vanderbilt University.

Coleta e processamento das amostras

As amostras de LCR para análise diagnóstica foram coletadas de pacientes que apresentaram algum tipo de manifestação neurológica conforme suspeita clínica e pelo médico responsável. Após coleta, foram encaminhadas para o

laboratório de bacteriologia da FMT-HVD, onde os testes de rotinas bacteriológica e diagnóstico molecular foram realizados.

Foram avaliados parâmetros como: Aspecto e/ou cor; Citometria, contagem de células por mm³; Citologia: observação do perfil celular (linfócitos e monócitos) e polimorfonucleares (neutrófilos segmentados); Coloração de Gram, Ziehl-Neelsen e tinta da China (Nankin).

10.1 Diagnóstico Molecular

Extração de ácidos nucleicos:

O Ácido Nucléico (RNA/ DNA) das amostras de LCR foi extraído utilizando-se 200µl de amostra com o Kit (Promega *ReliaPrep*™ *Viral*) seguindo o protocolo estabelecido pelo fabricante.

Reação em Cadeira da Polimerase Quantitativa (qPCR)

Primers e sondas foram utilizados para amplificação dos genes específicos para os alvos Herpes simplex tipo 1 e 2 (HSV-1/2), Epstein-Barr vírus (EBV), Varicela zoster vírus (VZV), Citomegalovírus (CMV), John cunningham vírus (JCV), de acordo com os protocolos descrito por WEIDMANN; ARMBRUSTER; HUFERT (2008); SIDDIQI et. al., (2014); FIGUEIREDO et al., 2017; LIN et. al 2000 E para amplificação dos genes específicos para detecção dos arbovírus, Dengue vírus (DENV 1-4), chikungunya vírus (CHIKV), Zika Vírus (ZIKV), West Nile vírus (WNV) e Enterovirus humanos (EV), Parvovírus B19 (PVB19) de acordo com os protocolos descritos por Johnson et al. (2005); Lanciotti et al. (2007); Lanciotti et al. (2008); Lanciotti et al. (2000); Oberst et al. (2010).

Para controle interno utilizamos o gene da β -actina e RNase P. Controle positivo foi utilizado o gblock 1 (fragmentos de iniciadores sintetizados, para os alvos em questão). Para controle negativo foi utilizado água livre de Dnase e Rnase.

Para a investigação do SARS-CoV-2 foi utilizado o ensaio de PCR em tempo real (qPCR) em amostras de swab nasofaringe e líquido cefalorraquidiano. Utilizando

o Allplex™ SARS-CoV-2 Assay com detecção para os alvos gene E, N, S e RdRP (SEEGENE, Brazil, MG) seguindo-se as instruções do fabricante.

Biomarcadores

Para análise de biomarcadores de inflamação e lesão neuronal, no líquido cefalorraquidiano foram medidos usando imunoensaio comercial, Human NEFL (Neurofilament, Light Polypeptide) ELISA kit da Elabscience (USA), resultados expressos em pg/mL, Neopterin (NRF1) ELISA (IBL International GMBH, Hamburgo, Alemanha), resultados expressos em nmol/L, Tau (Total) Human ELISA Kit (Invitrogen, MA, USA), resultados expressos em pg/mL, seguindo as recomendações do fabricante.

Os biomarcadores foram analisados em quatro grupos de pacientes: COVID-19 grave (n=17), COVID-19 moderado (n=19), controle inflamatório casos de herpesvirus (n=14) e um grupo controle não inflamatório (n=19).

Triagem dos Pacientes para Análises dos Biomarcadores

Os pacientes foram separados de acordo com a Escala de Progressão Clínica da Organização Mundial de Saúde (WHO.2020).

Covid grave: os que apresentaram febre alta e persistente, dificuldade ao respirar, saturação de oxigênio <90%, diminuição da força física, hipotensão, letargia ou redução do nível de consciência, que precisaram de algum tipo de suporte de oxigênio e UTI.

Covid moderado: os que apresentaram febre leve ou moderada, tosse seca, coriza, fadiga, dor de garganta, cefaleia, dor muscular e desconforto respiratório.

Grupo Controle Inflamatório: foi composto pelos casos com herpesvírus detectado no LCR.

Grupo controle não inflamatório: composto pelos casos com parâmetros bioquímicos do liquor dentro dos valores normais e presença de < 5 cels/mm³, sem agente etiológico detectado.

Processamento dos Dados

As variáveis quantitativas e qualitativas foram tabuladas e analisadas pelo software R (v.2022.07.2). Os dados foram testados quanto a sua normalidade pelo teste de Shapiro Wilk. O teste exato de Fisher foi aplicado para avaliar se existia associação entre as variáveis categóricas das características gerais dos pacientes incluídos no estudo, com $p < 0,05$, seguido do teste de Wilcoxon com correção de continuidade, determinando se as diferenças, entre as medianas das variáveis são verdadeiras, com diferenças estatísticas significativas, com valor de $p < 0,05$.

Os níveis de biomarcadores mediadores de processo inflamatório no liquor foram analisados através de métodos estatísticos convencionais, utilizando o software GraphPad Prism (V9.0.1). A normalidade dos dados foi verificada por meio do teste de Shapiro-Wilk para cada variável, revelando uma distribuição não-paramétrica. A comparação dos valores entre dois grupos foi conduzida pelo teste de Mann-Whitney, enquanto para a comparação das variáveis com três ou mais grupos, empregou-se o teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de Dunn para comparações múltiplas entre os grupos. Em ambos os casos, os níveis de significância estatísticos foram definidos como $p < 0,05$.

Aspectos Éticos

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado sob o número (CAAE 50417521.8.0000.0005) e parecer 5.529.728, seguindo o que está disposto na Resolução 466/2012 (Anexo 1).

11. RESULTADOS

Durante o período do estudo de março de 2020 a julho de 2022, foram analisadas 346 amostras de LCR de pacientes com suspeita de infecção viral no SNC. Destas, 139 amostras foram excluídas: 62 por falta de dados neurológicos, 62 por amostra insuficiente para análises bioquímicas do liquor e 15 por ausência de dados clínico. Assim, 207 amostras foram incluídas nas análises do estudo (Figura 3).

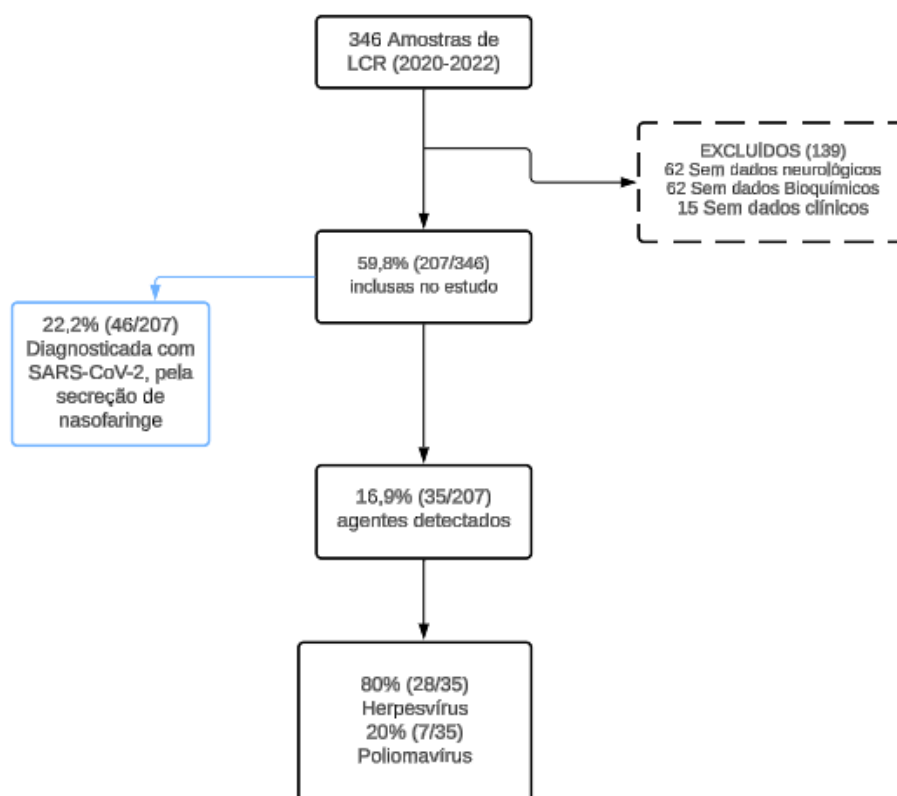


Figura 3. Fluxograma de Inclusão das Amostras

11.1 Características demográficas e clínicas gerais

A idade média dos pacientes foi de 31 anos, variando de 2 meses a 77 anos. Houve um predomínio do sexo feminino, representando 51,7% (107/207) dos casos, seguido pelo sexo masculino com 47,8% (99/207). A faixa etária predominante foi de 26 a 46 anos 37,2% (77/207), seguida de 47 a 65 anos 21,3% (44/207). Quanto à distribuição por zona de residência em Manaus (n=132), prevaleceram as zonas Norte 28% (37/132) e Oeste 21,9% (29/132), seguidas das zonas Sul 18,2% (24/132) e Leste 15,2% (20/132). Um total de 16,7% das amostras (22/132) eram de pacientes residentes em outros municípios do Estado do Amazonas, (Tabela 2).

Em relação aos sinais e sintomas clínicos, os mais proeminentes foram febre em 52,9% (109/207) dos casos, seguido por vômito em 24,2% (50/204), dispneia em 14,5% (30/207) e diarreia em 13,0% (27/207). Outros sintomas observados incluem: coriza, tosse, náuseas, astenia, cervicalgia, exantema e fadiga, (Gráfico 1).

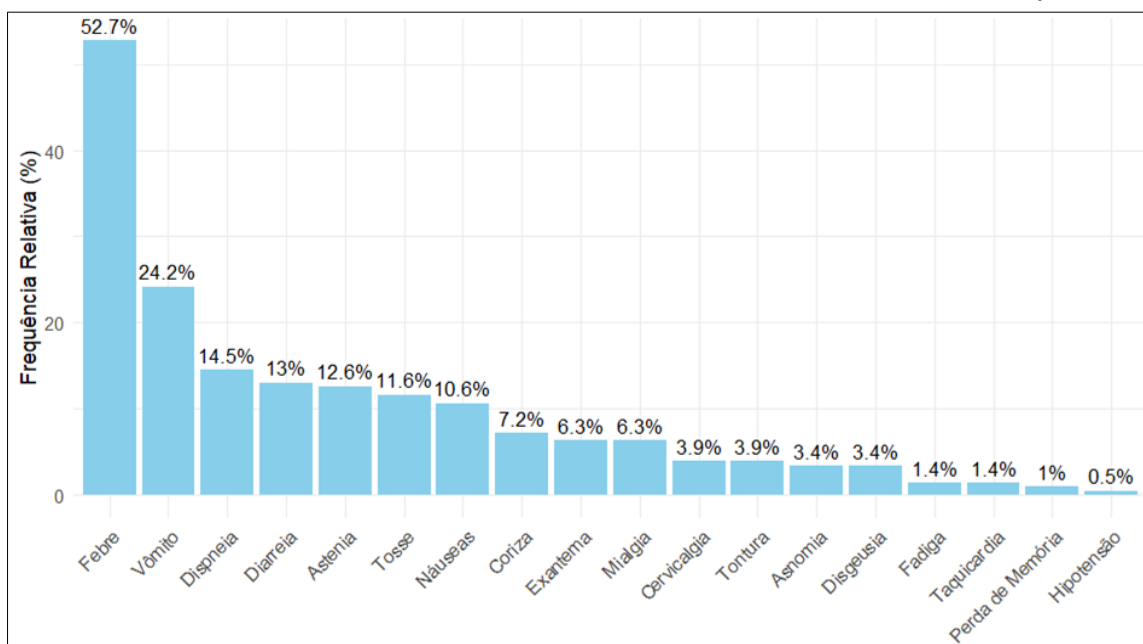
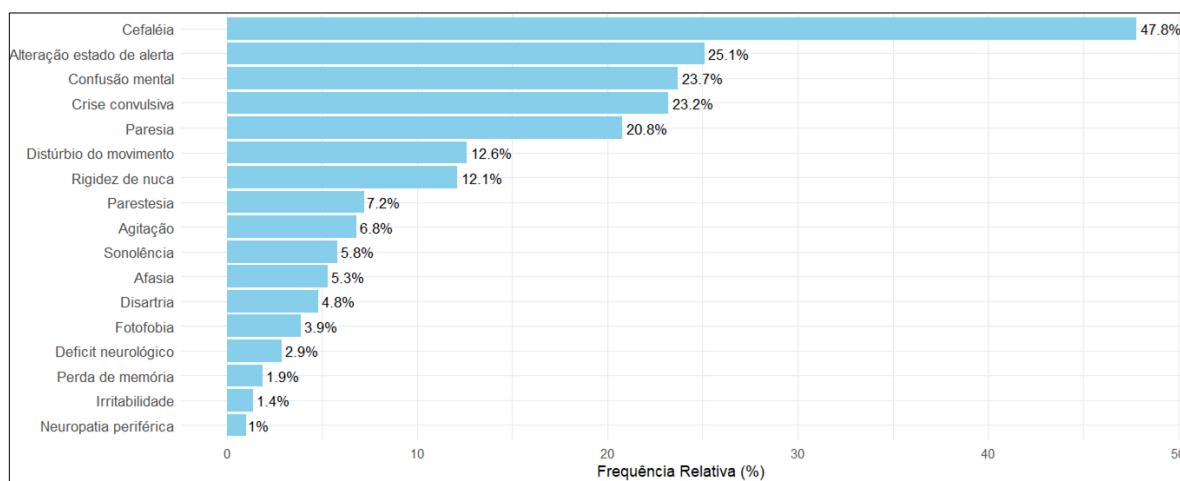
11.2 Características gerais das Manifestações Neurológicas

Com relação as características gerais das manifestações neurológicas, as principais observadas foram: cefaleia em 47,8% (99/207) dos casos, seguida de alteração do estado de alerta em 25,1% (52/207), confusão mental em 23,7% (50/207), parestesia em 20,8% (43/207), distúrbio do movimento em 12,6% (26/207) e rigidez de nuca em 12,1% (25/207). Adicionalmente, o gráfico 2 revela outras manifestações neurológicas menos frequentes, como: crise convulsiva, paresia, sonolência, agitação, déficit neurológico, disartria, fotofobia, afasia.

Tabela 2. Dados demográficos, faixa-etária, zona de residência, unidade de atendimento dos pacientes com manifestações neurológicas durante a pandemia de COVID-19, Manaus, Amazonas, Brasil, 2020-2022

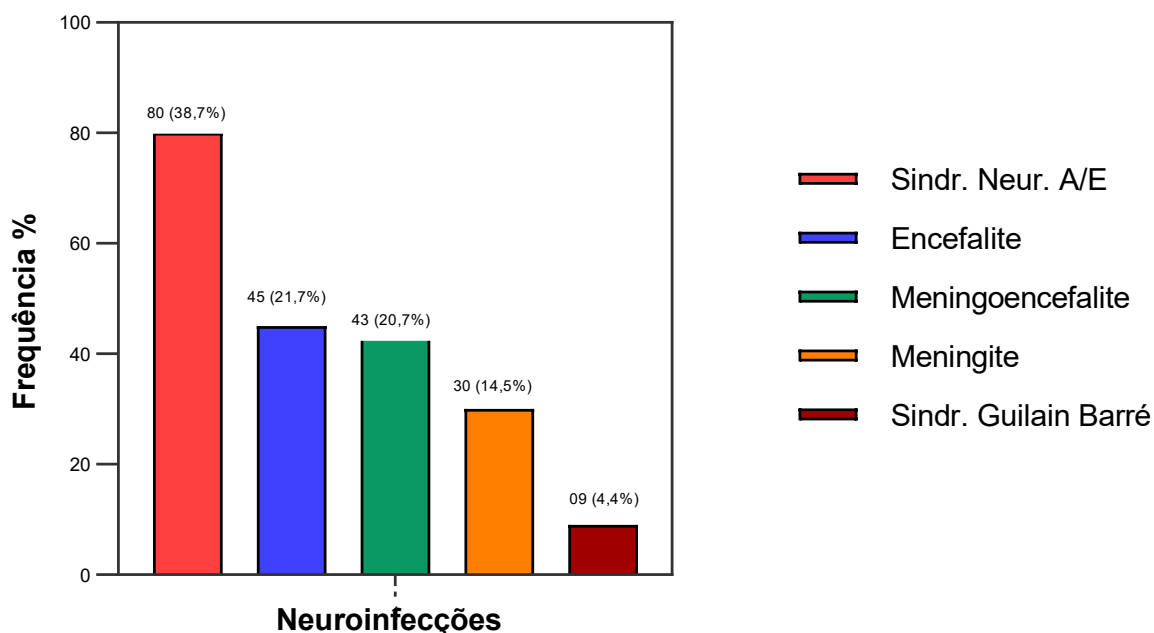
Características	Fi (207)	Fr (%)
Sexo		
Feminino	107	51,7
Masculino	99	47,8
RN	01	0,5
Faixa etária (anos) N=207		
< 1	14	6,8
1-4	17	8,2
5-9	9	4,3
10-15	16	7,7
16-25	22	10,6
26-46	77	37,2
47-65	44	21,3
> 66	8	3,9
Zona de Residência N=132		
Norte	37	28,0
Oeste	29	21,9
Leste	20	15,1
Sul	24	18,2
Outros municípios	22	16,6
Origem N=207		
FMT-HVD	89	43,2
Outros Serviços de Saúde	118	56,8
Desfecho		
Óbito	17	8,2
Sem óbito	181	87,4

Fonte: Elaborado pela autora (2024). *fi*: frequência absoluta simples; *fr*: frequência relativa

Gráfico 1. Sinais e Sintomas Clínicos dos Pacientes atendidos durante a pandemia**Gráfico 2.** Manifestações Neurológicas dos Pacientes atendidos durante a pandemia de COVID-19, Manaus, Amazonas, Brasil, 2020-2022

De acordo com a análise geral das neuroinfecções dos 207 pacientes incluídos no estudo, foram classificadas conforme as manifestações neurológicas e hipótese médica, apresentando a seguinte distribuição: Encefalites: 21,7% (45/207) dos casos; Meningoencefalite: 20,7% (43/207); Meningites: 14,5% (30/207); Síndrome de Guillain-Barré: 4,4% (9/207). Infecções do sistema nervoso central não especificadas: 38,7% (80/207). Esta distribuição corresponde com a evidente complexidade das neuroinfecções observadas durante a pandemia de COVID-19, com destaque para o alto percentual de casos não especificados, o que sugere a necessidade de investigações mais aprofundadas e protocolos diagnósticos mais precisos (Gráfico 3).

Gráfico 3. Distribuição das Neuroinfecções dos Pacientes atendidos durante a pandemia de COVID-19, Manaus, Amazonas, Brasil, 2020-2022



11.3 Agentes detectados

Na investigação molecular, foram identificados agentes virais em 16,9% (35/207) dos pacientes com manifestação neurológica. A distribuição dos agentes detectados foi a seguinte: Herpesvírus em 80% (28/35) dos casos, subdivididos em: CMV em 22,9% (8/35), HSV-1 em 14,3% (5/35), HSV-2 em 14,3% (5/35), EBV em 8,6% (3/35), VZV em 8,6% (3/35) e JCV em 17,1% (6/35); Coinfecções em 14,2% (5/35) dos casos, incluindo: VZV/EBV com 11,4% (4/35) e JCV/BK em 2,9% (1/35) (Tabela 3).

Tabela 3. Distribuição dos agentes detectados em pacientes com manifestação neurológica, atendidos durante a pandemia de COVID-19, Manaus, Amazonas, Brasil, 2020-2022

Agentes detectados	N	Frequência Relativa (%)
Citomegalovírus (CMV)	8	22,9
John Cunningham (JCV)	6	17,1
Herpes Simplex – 1 (HSV-1)	5	14,3
Herpes Simplex -2 (HSV-2)	5	14,3
Epstein- Barr Vírus (EBV)	3	8,6
Varicela – Zóster Vírus (VZV)	3	8,6
Co-infecções	5	%
VZV/EBV	4	11,4
JCV/BKV	1	2,9
Total	35	--

Fonte: Elaborado pela autora (2024)

11.4 Características gerais, manifestações clínicas e neurológicas dos pacientes com agente detectado

A análise das características demográficas, comorbidades e desfechos dos pacientes com herpesvírus e poliomavírus revelou padrões epidemiológicos distintos. Em ambos os grupos, observou-se predominância do sexo feminino, com 59,3% no grupo de herpesvírus e 85,7% no grupo de poliomavírus sem diferença entre os grupos ($p=0,502$). A distribuição etária mostrou-se mais diversificada no grupo de herpesvírus, com representação em múltiplas faixas etárias, concentrando-se principalmente entre 26 e 46 anos (42,8%), enquanto o grupo de poliomavírus apresentou distribuição mais restrita, com maior concentração na mesma faixa etária (57,1%) (Tabela 4).

Quanto às comorbidades, destaca-se a elevada prevalência de HIV, sendo 53,6% nos pacientes com herpesvírus e 100% nos pacientes com poliomavírus. Quanto a origem dos pacientes, 43,2% foram na Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD).

Os desfechos clínicos demonstraram diferenças entre os grupos. O grupo de herpesvírus apresentou taxa de mortalidade de 17,8%, enquanto o grupo de poliomavírus exibiu uma taxa elevada de 42,9%. O tempo médio de internação foi ligeiramente superior no grupo de poliomavírus, com 20 dias, em comparação com 17 dias no grupo de herpesvírus.

Os achados sugerem que, apesar das semelhanças, os grupos de herpesvírus e poliomavírus apresentam características epidemiológicas e clínicas distintas, com particular atenção à alta prevalência de HIV e às diferentes taxas de mortalidade.

Tabela 4. Características demográficas, comorbidades e desfechos dos pacientes com herpesvírus e poliomavírus detectados, Manaus, Amazonas, Brasil, 2020-2022

Características	Herpesvírus	Poliomavírus	P-valor
Sexo			0,502
Feminino	16 (57,2)	6 (85,7)	_____
Masculino	12(42,8)	1 (14,3)	_____
Faixa etária (anos)			0,617
0-9	4 (14,3)	0	_____
16-25	2 (7,1)	2 (28,6)	_____
26-46	12 (42,8)	4 (57,1)	_____
47-65	6 (21,4)	1 (14,3)	_____
> 66	4 (14,3)	0	_____
Zona de Residência			0,303
Oeste	6 (26,0)	0 (00)	_____
Norte	4 (21,4)	0 (00)	_____
Leste	4 (14,3)	1 (20,0)	_____
Sul	4 (14,3)	0 (00)	_____
Outros municípios	10 (35,7)	0 (00)	_____
Origem			0,312
FMT-HVD	15 (53,6)	7(100)	_____
Outros Serviços de Saúde	13(46,4)	0	_____
Comorbidade			
HIV	15 (53,6)	7 (100)	1
Hipertensão	3 (10,7)	0	1
Diabetes	3 (10,7)	0	1
Tempo de Internação	17 (1-245)	20 (9-131)	0,159
Desfecho			0,204
Óbito	5 (17,8)	3 (42,9)	_____
Sem Óbito	23 (82,2)	4 (57,1)	_____

Fonte: Elaborado pela autora (2024). Significância do P-valor (0,05)

Nos pacientes com herpesvírus, as principais manifestações clínicas foram febre em 60,7% (17/28), vômito em 39,3% (11/28) e dispneia em 21,4% (6/28). Para aqueles com poliomavírus, os sintomas relatados incluíram febre em 57,1% (4/7), vômito em 42,9% (3/7), dispneia em 57,1% (4/7), astenia em 57,1% (4/7) e tosse em 42,9% (3/7) dos casos.

Manifestações neurológicas em pacientes com herpesvírus incluíram cefaleia e alteração do estado de alerta, ambos presentes em 60,7% (17/28) dos casos, além de confusão mental em 50,0% (14/28), crise convulsiva, parestesia e rigidez de nuca, presentes em 17,9% (5/28) dos casos. Nos pacientes com poliomavírus as manifestações neurológicas incluíram: crise convulsiva, parestesia, afasia, disartria em 28,6% (2/7) dos casos cada. Comparando os sintomas entre os grupos, não foi encontrada diferenças para a maioria dos sintomas, com exceção da parestesia ($p=0,045$), que foi significativamente mais presente no grupo de poliomavírus, sugerindo diferenças nos perfis sintomatológicos entre herpesvírus e poliomavírus, destacando as diferenças das manifestações neurológicas virais (Tabela 5).

11.5 Perfil liquórico dos pacientes com agente detectado

A análise comparativa dos parâmetros liquóricos entre os grupos de herpesvírus e poliomavírus revelou algumas diferenças. Na avaliação da celularidade, o grupo de herpesvírus apresentou uma mediana de 155 células/mm³, com ampla variação (IQR de 397 células/mm³), enquanto o grupo de poliomavírus mostrou ausência de pleocitose (0 células/mm³), com valor de ($p=0,00001$). Quanto à glicorraquia, ambos os grupos apresentaram níveis semelhantes, com medianas de 60 mg/dL para herpesvírus e 59 mg/dL para poliomavírus ($p=0,864$). Em relação à proteinorraquia, observou-se um padrão distinto, com o grupo de herpesvírus apresentando mediana de 104 mg/dL (IQR de 129 mg/dL) e o grupo de poliomavírus com mediana de 47 mg/dL (IQR de 28,5 mg/dL), demonstrando diferença entre os grupos ($p=0,0292$). Esses achados sugerem uma resposta inflamatória mais pronunciada no grupo de herpesvírus, caracterizada por maior celularidade e níveis proteicos elevados, em contraste com o perfil mais discreto observado no grupo de poliomavírus (Gráfico 4 A, B, C).

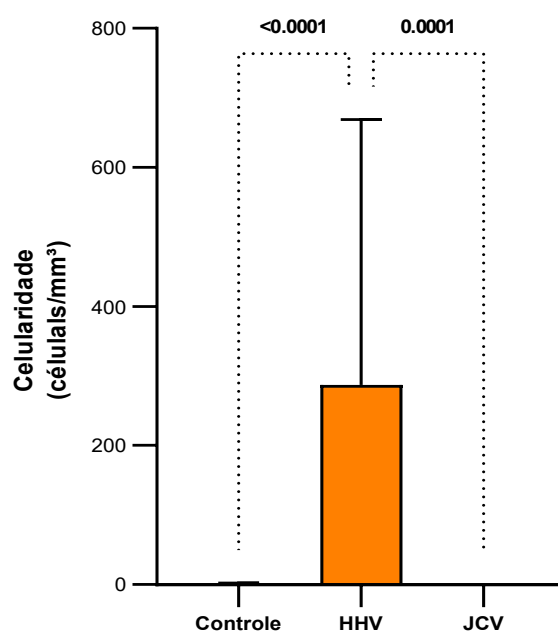
Tabela 5. Frequência absoluta e relativa dos sintomas clínicos e neurológicos dos pacientes com herpesvírus e poliomavírus, detectados durante a pandemia de COVID-19, Manaus, Amazonas, Brasil, 2020-2022

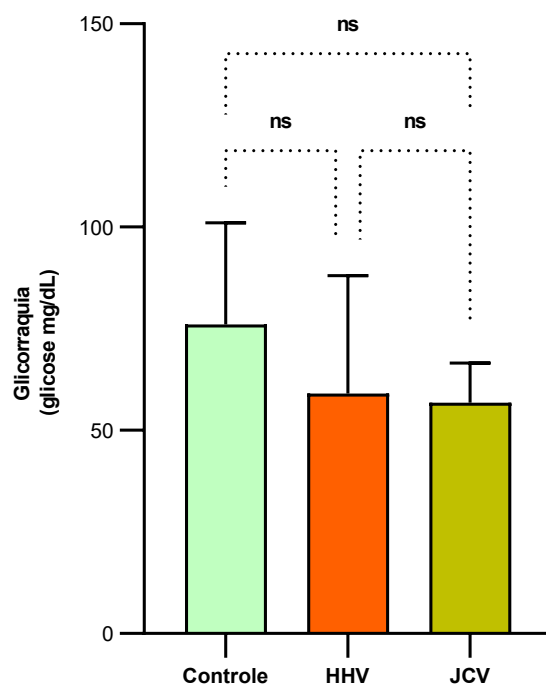
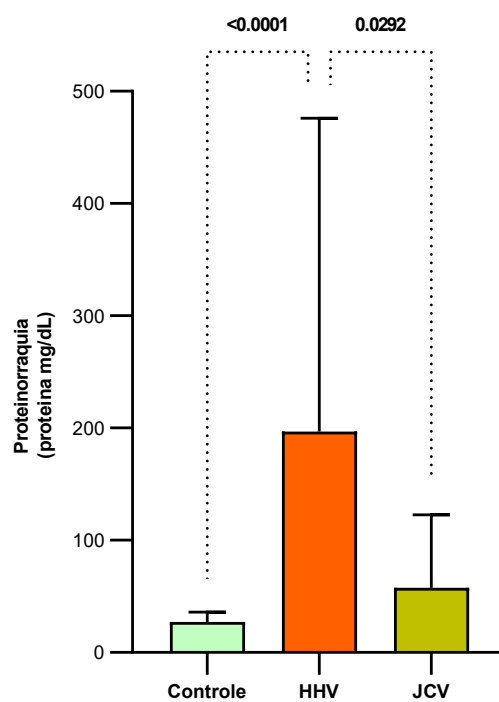
Sintomas Clínicos*	Herpesvirus_(Fi)_(Fr)	Poliomavirus_(Fi)_(Fr)	p-valor
Febre	17 (60,7)	4 (57,1)	1
Vômito	11 (39,3)	3 (42,9)	1
Dispneia	6 (21,4)	4 (57,1)	0,160
Astenia	5 (17,9)	4 (57,1)	0,100
Tosse	4 (14,3)	3 (42,9)	0,245
Diarreia	5 (17,9)	2 (28,6)	0,915
Náuseas	6 (21,4)	1 (14,3)	1
Exantema	1 (3,6)	0	1
Fadiga	1 (3,6)	0	1
Hipotensão	1 (3,6)	0	1
Manifestações Neurológicas*			
Cefaleia	17 (60,7)	2 (28,6)	0,270
Alteração estado de alerta	17 (60,7)	2 (28,6)	0,270
Confusão mental	14 (50,0)	1 (14,3)	0,200
Agitação	5 (17,9)	1 (14,3)	1
Crise convulsiva	5 (17,9)	2 (28,6)	0,915
Paresia	5 (17,9)	2 (28,6)	0,915
Rigidez de nuca	5 (17,9)	0	0,545
Distúrbio do movimento	3 (10,7)	1 (14,3)	1
Perda de memória	3 (10,7)	0	0,880
Sonolência	3 (10,7)	2 (28,6)	1
Afasia	2 (7,1)	2 (28,6)	0,352
Déficit neurológico	2 (7,1)	0	1
Disartria	2 (7,1)	2 (28,6)	0,352
Fotofobia	2 (7,1)	1 (14,3)	1
Mialgia	1 (3,6)	1 (14,3)	0,855
Parestesia	0	2 (28,6)	0,045

Fonte: Elaborado pela autora (2024). **fi**: frequência absoluta simples; **fr**: frequência relativa. * sujeitos a variação nas frequências absoluta e relativa devido o mesmo paciente apresentar mais de um sinal e sintoma clínico. P-valor (0,05)

Gráfico 4- A, B, C. Comparações entre celularidade, glicorraquia e proteínorraquia do liquor dos pacientes com herpesvírus e poliomavírus atendidos durante a pandemia de COVID-19, Manaus, Amazonas, Brasil, 2020-2022

4A: Comparação do número de células entre os herpesvírus e poliomavírus



4B: Comparação dos Níveis de glicorraquia entre os herpesvírus e poliomavírus**4C:** Comparação dos níveis de proteinorraquia entre os herpesvírus e poliomavírus

11.6 Neuro-COVID-19

Os 46 pacientes com Neuro-COVID-19 apresentaram média de idade de 32 anos, com predominância do sexo feminino em 54,3% (25/46) dos casos. A comorbidade mais prevalente foi HIV/AIDS, presente em 30,4% (14/46) dos pacientes. Do total, 21,7% (10/46) foram admitidos na Unidade de Terapia Intensiva (UTI), com 90% (9/10) necessitando de dispositivos médicos como Intubação Orotraqueal (IOT) ou Ventilação Mecânica (VM). O tempo médio de internação foi de aproximadamente 17 dias, variando entre 5 e 140 dias. Em relação ao desfecho clínico, 42,9% (9/46) dos pacientes evoluíram para óbito (Tabela 6).

Os sintomas clínicos mais frequentemente relatados em pacientes com COVID-19 foram febre em 58,7% (27/46), seguida por dispneia em 30,4%, coriza em 28,3% e vômito em 19,6%. Adicionalmente, 10,9% (5/46) dos pacientes apresentaram anosmia e disgeusia. Esta descrição deve ser complementada destacando a variabilidade dos sintomas, ressaltando que nem todos os pacientes manifestam os mesmos sinais clínicos (Tabela 7).

As neuroinfecções em pacientes com Neuro-COVID-19 apresentaram as seguintes distribuições: 38,85% (17/46) desenvolveram uma síndrome neurológica a esclarecer, sem etiologia definida. Outros diagnósticos incluíram encefalite em 28,26% (13/46), meningoencefalite em 15,21% (7/46), síndrome de Guillain-Barré em 13,04% (6/46), paraparesia flácida em 4,34% (2/46) e meningite em 2,17% (1/46). Um aspecto crucial a ser enfatizado é que o RNA do SARS-CoV-2 não foi detectado no LCR desses pacientes (Gráfico 5).

Tabela 6. Frequência absoluta e relativa das características demográficas, comorbidades e desfechos de 46 pacientes com Neuro-COVID-19, Manaus, Amazonas, Brasil, 2020-2022

Características	<i>Fi</i> (46)	<i>Fr</i> (%)
Sexo		
Feminino	25	54,3
Masculino	21	45,7
Faixa etária (anos)		
< 1	1	2,20
1-4	3	6,50
5-9	1	2,20
10-15	4	8,70
16-25	4	8,70
26-46	19	41,3
47-65	13	28,3
> 66	1	2,20
Zona de Residência		
Oeste	10	31,2
Norte	8	25,0
Sul	7	21,9
Leste	3	9,40
Outros municípios	4	12,5
Origem		
FMT-HVD	15	33,3
Outros Serviços de Saúde	30	66,7
Comorbidades		
HIV/AIDS	14	30,4
UTI	10	21,7
IOT	09	90,0
VM	01	10,0
Permanência de hospitalização em dias (<i>M_d</i>) e Desvio padrão	17 [5-140]	_____
Desfecho		
Óbito	9	19,7
Sem óbito	37	80,3

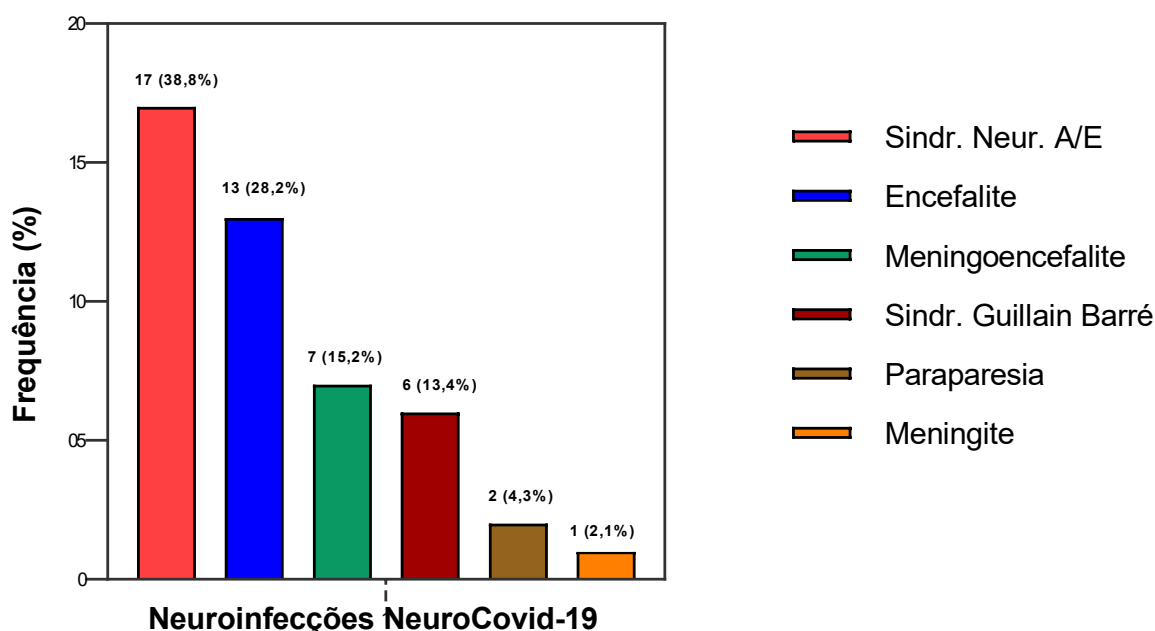
fi: frequência absoluta simples; *fr*: frequência relativa

Tabela 7. Frequência absoluta e relativa dos sintomas clínicos e neurológicos de 46 pacientes com Neuro-COVID-19 durante a pandemia de COVID-19, Manaus, Amazonas, Brasil, 2020-2022

Sintomas Clínicos*	Fi (46)	Fr (%)
Febre	27	58,7
Dispneia	14	30,4
Coriza	13	28,3
Vômito	9	19,6
Diarreia	8	17,4
Tosse	6	13,0
Disgeusia	5	10,9
Anosmia	5	10,9
Mialgia	4	8,70
Astenia	3	6,50
Cervicalgia	3	6,50
Náuseas	3	6,50
Exantema	2	4,30
Fadiga	2	4,30
Manifestação Neurológica*		
Cefaleia	23	50,0
Paresia	18	39,1
Alteração estado de alerta	17	37,0
Crise convulsiva	12	26,1
Confusão mental	10	21,7
Sonolência	4	8,70
Parestesia	4	8,70
Rigidez de nuca	3	6,50
Agitação	3	6,50
Déficit neurológico	2	4,30
Disartria	2	4,30
Distúrbio do movimento	2	4,30
Fotofobia	2	4,30
Afasia	1	2,20

Fonte: Elaborado pela autora (2024). **fi**: frequência absoluta simples; **fr**: frequência relativa. * sujeitos a variação nas frequências absoluta e relativa devido o mesmo paciente apresentar mais de um sinal e sintoma clínico

Gráfico 5. Distribuição das Neuroinfecções dos Pacientes com Neuro-COVID-19, Manaus, Amazonas, Brasil, 2020-2022



11.7 Grupos Neuro-COVID-19 (Moderado e Grave)

Para as análises, os pacientes diagnosticados com Neuro-COVID-19 foram divididos em dois grupos: moderado e grave. No grupo Neuro-COVID-19 moderado, houve uma predominância de pacientes do sexo feminino, representando 62,5% dos casos. Em contraste, no grupo Neuro-COVID-19 grave, o sexo masculino foi mais prevalente, com 52,6% dos casos. Em relação às comorbidades, o HIV foi a mais comum, presente em 64,3% dos pacientes do grupo moderado e em 35,7% do grupo grave. O grupo Neuro-COVID-19 grave apresentou maior tempo de internação, com média de 19 dias, e um número maior de óbitos, correspondendo a 35,7% dos casos (Tabela 8).

Tabela 8. Características demográficas, comorbidades e desfecho dos pacientes com Neuro-COVID-19 Grave e Moderado, Manaus, Amazonas, Brasil, 2020-2022

Características	Moderado_Fi_Fr	Grave_Fi_Fr	P-valor
Sexo			0,395
Feminino	15 (65,2)	8 (34,8)	
Masculino	9 (47,4)	10 (52,6)	
Comorbidade			
HIV	9 (64,3)	5 (35,7)	1
Hipertensão	0	1(2,3)	0,428
Diabetes	1 (3,3)	1 (2,3)	1
Tempo de Internação	14	19	0,607
Desfecho			1
Óbito	4 (20,9)	5 (35,7)	
Sem Óbito	19 (79,1)	13 (72,3)	

Fonte: Elaborado pela autora (2024). *fi*: frequência absoluta simples; *fr*: frequência relativa

11.8 Neuro-COVID-19 e Perfil Liquórico

A análise do LCR em pacientes com Neuro-COVID-19 revelou um padrão predominantemente dentro dos limites normais. No grupo geral, observou-se celularidade inferior a 5 células/mm³, proteinorraquia de 45,5 mg/dL e glicorraquia de 62,5 mg/dL.

Na comparação entre os grupos Neuro-COVID-19, Herpesvírus (HHV) e Controle, observaram-se diferenças. O grupo HHV apresentou pleocitose elevada de 155 células/mm³ e mediana de proteinorraquia de 104 mg/dL, com o ($p=0,0001$ e $p=0,0001$, respectivamente). Em contraste, os grupos Neuro-COVID-19 e Controle apresentaram parâmetros líquidos mais moderados. A glicorraquia não mostrou diferenças entre os grupos. (ver **Gráfico 6 A, B, C**). A glicorraquia entre os grupos não apresentou diferenças.

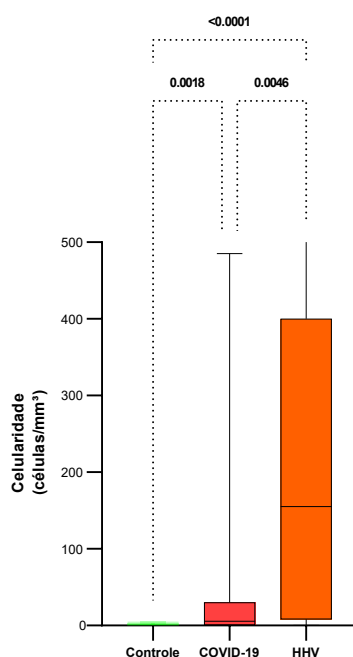
Ao subdividir o grupo Neuro-COVID-19 em casos moderados e graves, identificaram-se variações nos parâmetros líquidos. A mediana de celularidade foi

de 4,5 células/mm³ no grupo moderado e 10 células/mm³ no grupo grave. A glicorraquia apresentou medianas de 59,5 mg/dL no grupo moderado e 70 mg/dL no grupo grave. A proteinorraquia mostrou diferença com o (p=0,0044), com mediana de 47 mg/dL no grupo moderado e 81 mg/dL no grupo grave (**Gráfico 7, A, B, C**).

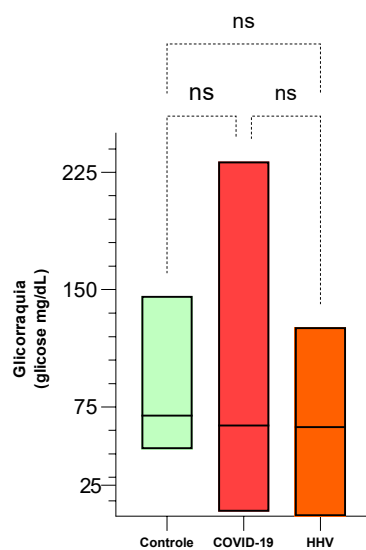
A análise comparativa sugere que, embora o SARS-CoV-2 não cause alterações líquóricas dramáticas em todos os casos, há uma tendência de maior comprometimento da barreira hematoencefálica em casos graves. O aumento da proteinorraquia nos casos graves pode indicar uma resposta inflamatória mais intensa e possível disfunção da barreira hematoencefálica.

Gráfico 6- A, B, C. Comparação entre as concentrações do perfil bioquímico e Celular do LCR dos pacientes entre os grupos Neuro-COVID-19, HHV e controle.

6A: Comparação entre a celularidade por grupos Neuro-COVID-19, HHV e Controle



6B: Comparação entre os níveis de glicorraquia por grupos Neuro-COVID-19, HHV e controle



6C: Comparação entre os níveis de proteinorraquia por grupos Neuro-COVID-19, HHV e controle

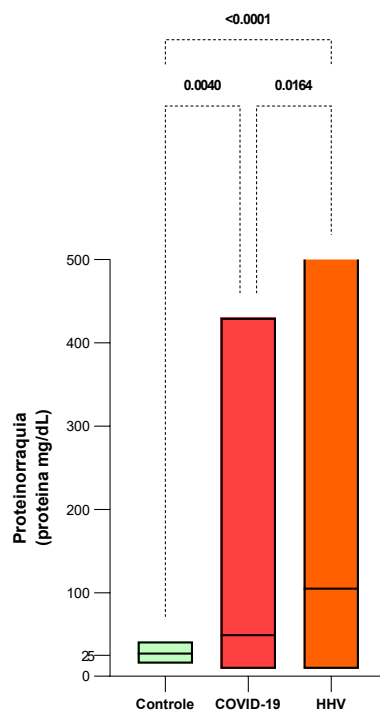
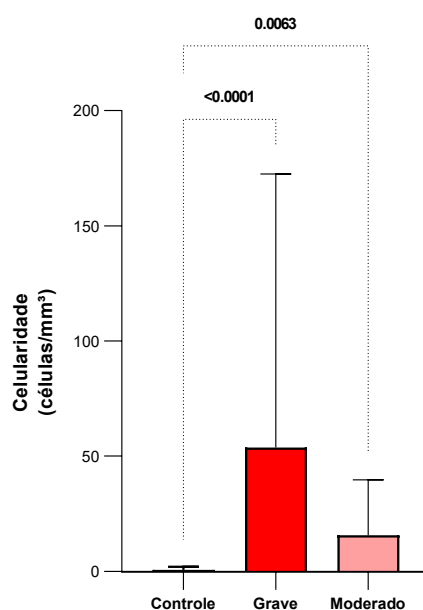
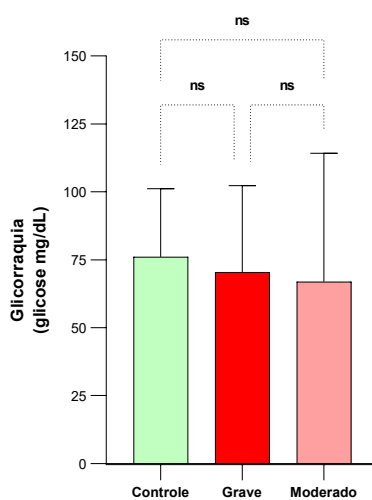


Gráfico 7 A, B, C. Comparação entre as concentrações do perfil bioquímico e Celular do LCR dos pacientes entre os grupos Neuro-COVID-19 grave e moderada

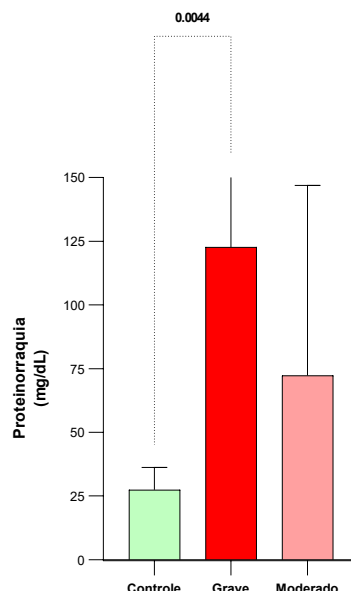
7-A: Comparação entre a celularidade por grupo Neuro-COVID-19 grave e moderada



7B: Comparação entre os níveis de glicorraquia por grupos Neuro-COVID-19 grave e moderada



7C: Comparação entre os níveis de proteinorraquia por grupos Neuro-COVID-19 grave e moderada



11.9 Análise de Biomarcadores

A análise de biomarcadores solúveis no LCR de pacientes com Neuro-COVID-19 e HHV revelou um perfil distinto de alterações entre os grupos estudados, fornecendo insights sobre o impacto neurológico dessas infecções virais.

O NfL, componente estrutural dos axônios mielinizados e marcador sensível de dano axonal, apresentou diferença com níveis elevados nos grupos Neuro-COVID-19 e HHV em comparação com o grupo controle ($p=0,000313$ e $p=0,0442$, respectivamente), (Gráfico 8).

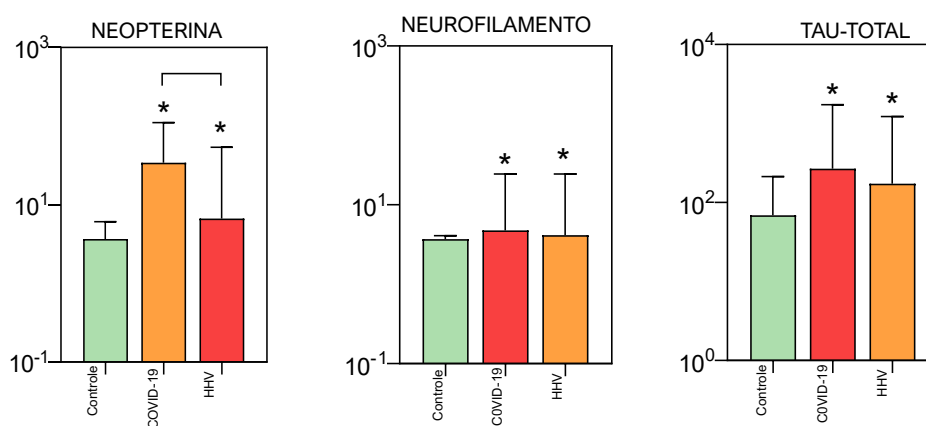
A neopterina, um marcador de ativação celular, demonstrou um perfil amplo de alterações em todos os grupos. Os níveis estavam elevados nos grupos Neuro-COVID-19 e HHV em comparação com o grupo controle ($p=0,00015$). Essa elevação indica uma forte resposta inflamatória e ativação imunológica no sistema nervoso central em pacientes com Neuro-COVID-19 e infecções por herpesvírus. A elevação da neopterina foi observada tanto em casos graves quanto moderados de Neuro-

COVID-19, sugerindo que a neuroinflamação ocorre em diferentes níveis de gravidade da doença.

A proteína T-tau, uma molécula intracelular localizada nos axônios e relacionada à estabilização dos microtúbulos neuronais, apresentou níveis elevados nos grupos Neuro-COVID-19 e HHV em comparação com o grupo controle ($p=0,0141$ e $p=0,0415$, respectivamente). Essa elevação sugere um processo de lesão neuronal e possível neurodegeneração em pacientes com Neuro-COVID-19 e infecções por herpesvírus (Gráfico 8).

A quantificação concomitante de T-tau e NfL pode ser útil para determinar a extensão do dano neuronal em pacientes com encefalopatias associadas à Neuro-COVID-19 e outras infecções virais. A análise desses biomarcadores oferece insights valiosos sobre os mecanismos patológicos, potencialmente auxiliando no diagnóstico, prognóstico e estratificação de risco em pacientes com manifestações neurológicas de origem infecciosa.

Gráfico 8. Análise comparativa do perfil de biomarcadores inflamatórios entre os grupos neuro-Covid-19, HHV e Controle.



*Com relação ao grupo controle, " Com relação aos grupos Neuro- COVID-19 e HHV

11.10 Biomarcadores e Gravidade na Neuro-COVID-19

A estratificação dos pacientes com Neuro-COVID-19 por gravidade revelou um perfil de biomarcadores inflamatórios e de lesão neuronal, demonstrando variações entre os grupos Neuro-COVID-19 moderado, grave e grupo Controle.

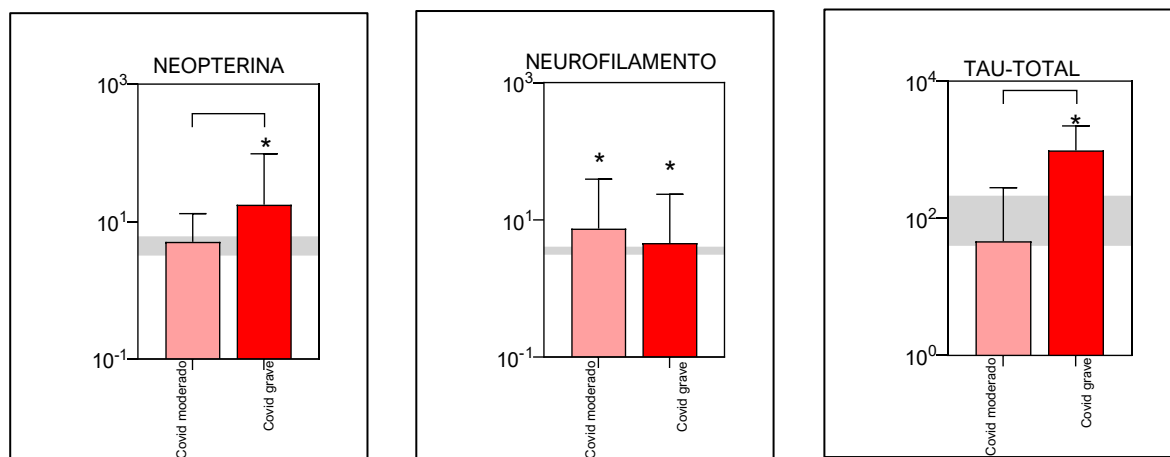
Os níveis de neopterinina estavam elevados tanto no grupo Neuro-COVID-19 grave quanto no moderado em relação ao grupo controle, com valores de $p=0,0420$ e $p=0,0110$, respectivamente. No entanto, não houve diferença entre os grupos grave e moderado, sugerindo que a ativação imunológica no sistema nervoso central ocorre independentemente da gravidade clínica da doença.

Os níveis de NfL apresentaram elevação nos grupos COVID-19 grave e moderado em comparação com o grupo controle, com valores de $p=0,0130$ e $p=0,0026$, respectivamente. Este achado indica que o dano axonal pode ocorrer mesmo em casos menos graves do Neuro-COVID-19, ressaltando a importância do monitoramento neurológico independentemente da classificação inicial da doença.

A proteína Tau total mostrou-se elevada no grupo Neuro-COVID-19 grave em relação ao grupo controle ($p=0,0007$) e ao grupo Neuro-COVID-19 moderado ($p=0,0373$). Esta observação sugere que o grau de lesão neuronal pode estar diretamente relacionado com a gravidade da Neuro-COVID-19, indicando um potencial marcador de progressão da doença (Gráfico 9).

A análise comparativa dos biomarcadores revela um padrão complexo de resposta neurológica à infecção por SARS-CoV-2. Embora a neopterinina e o NfL mostrem alterações em ambos os grupos (moderada e grave), a proteína tau total emerge como um marcador potencialmente mais sensível à gravidade da doença.

Gráfico 9: Análises comparativa do perfil de biomarcadores inflamatórios no grupo COVID-19 grave, COVID-19 moderado e grupo controle não inflamatório.



*Com níveis alterados, grupo Neuro-COVID-19 grave e moderada, Grupo controle

12. DISCUSSÃO

O presente estudo fornece uma análise abrangente das neuroinfecções no contexto da pandemia de COVID-19 na região amazônica, examinando liquor de 207 pacientes com síndrome neurológica aguda de suspeita viral entre março de 2020 e julho de 2022. A inclusão de 22,2% de pacientes com Neuro-COVID-19 permitiu uma avaliação das complicações neurológicas associadas ao SARS-CoV-2, contribuindo para o entendimento do neurotropismo do vírus. A abordagem multidisciplinar, combinando análises clínicas laboratoriais, foi importante para o diagnóstico diferencial e manejo adequado das neuroinfecções. Os Biomarcadores como neoptertina, neurofilamento de cadeia leve (NfL) e proteína tau total (T-tau) podem ser úteis para o prognóstico dessas condições, destacando a importância de abordagens abrangentes (DALE *et al.*, 2023; SRIWASTAVA *et al.*, 2021; YAN *et al.*, 2023).

A região amazônica apresenta desafios únicos no controle de neuroinfecções devido a fatores climáticos e geográficos que facilitam a disseminação de patógenos virais e parasitários. Arboviroses como dengue, Zika e chikungunya são endêmicas, assim como outras infecções neurovirais, incluindo as causadas por Herpes simplex e pelos enterovírus. A incidência dessas doenças é agravada pelo clima tropical úmido, ambiente ideal para a reprodução de vetores como os mosquitos (DE MELO *et al.*, 2024; MARINHO, E. P. M. *et al.*, 2023).

Populações imunocomprometidas, particularmente aquelas com HIV/AIDS, estão em maior risco de desenvolver complicações severas associadas a essas infecções, aumentando a carga nos serviços de saúde da região. A Fundação de Medicina Tropical em Manaus desempenha um papel fundamental no tratamento e diagnóstico dessas condições (BASTOS, *et al.*, 2012; MOURÃO *et al.*, 2015). A infraestrutura limitada e o isolamento de áreas remotas, acessíveis apenas por vias fluviais, resultam em atrasos no diagnóstico e tratamento, favorecendo a progressão das doenças infecciosas (BASTOS, *et al.*, 2012; BASTOS, *et al.*, 2014).

A pandemia de COVID-19 exacerbou esses desafios, mas também impulsionou avanços nos métodos de diagnóstico molecular, essenciais para o monitoramento de neuroinfecções e para o manejo de pacientes vulneráveis, especialmente no caso dos Herpesvírus Humanos (BASTOS, M. S. *et al.*, 2014; SARAIVA *et al.*, 2015). Essas particularidades evidenciam a necessidade de políticas de saúde pública adaptadas para enfrentar os desafios regionais, com estratégias focadas no aprimoramento do diagnóstico e da resposta a surtos locais.

A diversidade de agentes etiológicos envolvidos nas neuroinfecções e a complexidade do diagnóstico diferencial foram abordadas com a análise do LCR, onde foram identificados múltiplos agentes, incluindo herpesvírus, poliomavírus e coinfeções. A predominância dos herpesvírus corrobora estudos anteriores que apontam essa família viral como causa importante de encefalites virais (CARNEIRO *et al.*, 2022; COSTA; SATO, 2020). Estes achados reforçam a importância do monitoramento de agentes neurotrópicos em pacientes imunossuprimidos, como os coinfectados VZV/EBV e JCV/BK, uma dinâmica que pode agravar o quadro clínico (BARRIONUEVO *et al.*, 2024; LENFANT *et al.*, 2022; SEHRAWAT; KUMAR; ROUSE, 2018).

A detecção do poliomavírus, enfatiza a natureza multifatorial das neuroinfecções virais, sendo o poliomavírus associado a casos graves em pacientes imunocomprometidos (BERGER, 2014). A presença significativa de HIV/AIDS como comorbidade sugere uma relação entre imunossupressão e o desenvolvimento de complicações neurológicas severas (ANAND *et al.*, 2019; MEYDING-LAMADÉ; STRANK, 2012). A detecção de 7 casos de poliomavírus na coorte destaca a importância da inclusão da detecção de DNA do JCV no LCR como parte do protocolo de investigação para pacientes com meningite ou encefalite (BEHZAD-BEHBAHANI *et al.*, 2003; BERGER, 2014).

O perfil líquórico e os mecanismos patogênicos observados neste estudo demonstram importantes orientações sobre as manifestações neurológicas da COVID-19. A ausência de RNA viral no LCR corrobora com estudos anteriores (CAROD ARTAL, 2020; ELLUL *et al.*, 2020) sugerindo que as complicações neurológicas são predominantemente mediadas por mecanismos indiretos. O perfil líquórico dos pacientes com COVID-19 apresentou diferenças significativas em comparação com o grupo herpesvírus, caracterizando-se por menor pleocitose e alterações bioquímicas mais discretas, um padrão consistente com outras investigações recentes (LENG *et al.*, 2023; PORTELA-SÁNCHEZ *et al.*, 2021).

A diferença na proteinorraquia entre os grupos Neuro-COVID-19 moderado e grave ($p=0,0044$) é intrigante, sugerindo uma possível ligação entre a gravidade da doença e o comprometimento da barreira hematoencefálica, sinalizando a diminuição do fluxo líquórico, o que aponta para uma infecção ou inflamação (COSTA NETO, 2020). Este achado merece investigação mais aprofundada para elucidar os mecanismos subjacentes e suas implicações clínicas.

As manifestações neurológicas observado em nossa coorte apresenta aspectos notáveis. A alta prevalência de síndromes neurológicas a esclarecer (38,85%) reflete a complexidade dos mecanismos patogênicos envolvidos e destaca a necessidade de estudos adicionais (SHEHATA *et al.*, 2021). A incidência elevada de Síndrome de Guillain-Barré (13,04%) em nossa coorte é superior à reportada em outros estudos (TOSCANO *et al.*, 2020), é particularmente interessante e pode estar relacionada à presença de comorbidades como HIV, um aspecto que merece atenção especial em futuras investigações.

Os desfechos clínicos observados são preocupantes, com uma taxa de admissão em UTI de 21,7% e necessidade de suporte ventilatório em 90% dos casos graves, demonstrando a morbidade neurológica associada à Neuro-COVID-19 (ISHIYAMA *et al.*, 2021). A mortalidade elevada (19,7%) pode estar relacionada à complexa interação entre COVID-19 e comorbidades preexistentes,

particularmente HIV/AIDS, conforme também observado em outros estudos (ASLAM *et al.*, 2022).

Na comparação entre grupos de gravidade, observamos uma inversão da predominância de gênero entre casos moderados (feminino: 62,5%) e graves (masculino: 52,6%), alinhando-se com estudos que sugerem maior risco de evolução grave em homens (CHOU *et al.*, 2021). O perfil liquórico mais alterado nos casos graves sugere uma possível correlação entre a intensidade da resposta inflamatória e a gravidade clínica, como demonstrado em investigações recentes (BONETTO *et al.*, 2022).

As implicações para a prática clínica são substanciais. A ausência de RNA viral no LCR, combinada com alterações liquóricas moderadas, sugere que estratégias terapêuticas focadas em modulação imunológica podem ser mais apropriadas que antivirais diretos (CAROD ARTAL, 2021). Além disso, o monitoramento dos parâmetros liquóricos pode auxiliar na estratificação de risco e no manejo clínico, particularmente em pacientes com comorbidades (HAKI *et al.*, 2021).

A análise detalhada do LCR em pacientes com COVID-19 revelou um padrão distinto quando comparado aos grupos controle e herpesvírus. No grupo geral de COVID-19, observou-se um perfil liquórico com parâmetros predominantemente dentro dos limites normais, com celularidade inferior a 5 células/mm³, proteinorraquia de 45,5 mg/dL e glicorraquia de 62,5 mg/dL. Estes achados corroboram estudos anteriores que demonstram que o SARS-CoV-2 pode não causar alterações significativas no LCR em todos os casos (BENAMEUR *et al.*, 2020; OLIE *et al.*, 2024).

Por outro lado, o grupo herpesvírus apresentou alterações significativas, com pleocitose marcante de 155 células/mm³ e proteinorraquia elevada de 104 mg/dL (p=0,0001 e p=0,0001, respectivamente). Esta diferença entre os grupos Neuro-

COVID-19 e HHV é consistente com a literatura que descreve o neurotropismo característico dos herpesvírus, que tipicamente causam uma resposta inflamatória mais pronunciada no sistema nervoso central (DAVIES, 2005; TYLER, 2004).

A estratificação dos pacientes com Neuro-COVID-19 por gravidade revelou dados importantes. Os casos graves apresentaram uma tendência a maiores alterações líquóricas, com celularidade de 10 células/mm³ e proteinorraquia de 81 mg/dL, em comparação com os casos moderados (4,5 células/mm³ e 47 mg/dL, respectivamente). Essa diferença na proteinorraquia ($p=0,0044$) sugere que a gravidade da doença pode estar relacionada a um maior comprometimento da barreira hematoencefálica (DYCKHOFF-SHEN *et al.*, 2024).

A manutenção de níveis relativamente normais de glicose no LCR, mesmo nos casos graves (70 mg/dL), indica que o SARS-CoV-2 pode não interferir no metabolismo da glicose no sistema nervoso central, diferentemente de outras infecções neurológicas (CZARNIAK *et al.*, 2023). Este achado é particularmente relevante para o entendimento da fisiopatologia da doença no sistema nervoso central.

A análise de biomarcadores solúveis no líquor de pacientes com Neuro-COVID-19 e infecções por HHV revelou um perfil distinto de alterações. Esses biomarcadores desempenham um papel importante na caracterização da magnitude, qualidade e efeito das infecções virais no SNC, (ALBAYAR *et al.*, 2019; EDÉN; SIMRÉN; *et al.*, 2021; SRIWASTAVA *et al.*, 2021).

O NfL, um componente estrutural dos axônios mielinizados, é reconhecido como um marcador sensível de dano axonal (GAETANI *et al.*, 2019). Nosso estudo demonstrou níveis elevados de NfL nos grupos Neuro-COVID-19 e HHV em comparação com o grupo controle. Essa elevação sugere que tanto a Neuro-COVID-19 quanto as infecções por herpesvírus podem causar danos axonais no

sistema nervoso, indicando uma possível degeneração neuronal ou lesão axonal (EDÉN; KANBERG; *et al.*, 2021; ESPÍNDOLA *et al.*, 2021).

A neopterina, um marcador de ativação celular (incluindo macrófagos/micróglia e astrócitos), demonstrou um perfil amplo de alterações em todos os grupos estudados (EDÉN *et al.*, 2022). Os níveis estavam significativamente elevados nos grupos COVID-19 e HHV em comparação com o grupo controle, indicando uma forte resposta inflamatória e ativação imunológica no SNC em pacientes com essas infecções virais (AL-KURAISHY *et al.*, 2021; HAILEMICHAEL *et al.*, 2021).

A T-tau, uma molécula intracelular localizada nos axônios e relacionada à estabilização dos microtúbulos neuronais, apresentou níveis elevados nos grupos COVID-19 e HHV em comparação com o grupo controle (CHAUVIN *et al.*, 2021). Essa elevação sugere um processo de lesão neuronal e possível neurodegeneração em pacientes com COVID-19 e infecções por herpesvírus (GOEDERT, 2004; MATTSSON *et al.*, 2016).

Ao estratificar os pacientes com Neuro-COVID-19 de acordo com a gravidade da doença (grave e moderada), observamos diferentes padrões nos biomarcadores:

Os níveis de neopterina estavam elevados tanto no grupo Neuro-COVID-19 grave quanto no moderado em relação ao grupo controle, sem diferença significativa entre os grupos de gravidade. Isso sugere que a ativação imunológica no SNC ocorre independentemente da gravidade clínica da COVID-19 (EDÉN; KANBERG; *et al.*, 2021).

Os níveis de NfL estavam elevados nos grupos COVID-19 grave e moderado em comparação com o grupo controle, indicando que o dano axonal pode ocorrer mesmo em casos menos graves da doença (ESPÍNDOLA *et al.*, 2021).

A proteína Tau total mostrou-se elevada no grupo COVID-19 grave em relação ao grupo controle e ao grupo COVID-19 moderado. Esse achado sugere que o grau de lesão neuronal pode estar correlacionado com a gravidade da COVID-19 (PATERSON *et al.*, 2021; PILOTTO *et al.*, 2021).

Esses resultados sugerem que a quantificação concomitante de T-tau e NfL pode ser útil para determinar a extensão do dano neuronal em pacientes com encefalopatias associadas à COVID-19 e outras infecções virais (EDÉN *et al.*, 2022). Além disso, a análise desses biomarcadores pode contribuir para o diagnóstico, prognóstico e estratificação de risco em pacientes com manifestações neurológicas de origem infecciosa (AL-KURAISHY *et al.*, 2021; HAILEMICHAEL *et al.*, 2021).

Apesar do potencial promissor, a utilização de biomarcadores no contexto das neuroinfecções apresenta desafios metodológicos significativos. A variabilidade individual, influenciada por fatores como idade, comorbidades e estado imunológico, pode impactar a interpretação dos resultados (MATTSSON *et al.*, 2016). Além disso, a ausência de valores de referência padronizados para diferentes contextos clínicos limita a generalização dos achados. A sensibilidade e especificidade dos biomarcadores NfL, neopterin e proteína tau total podem variar dependendo do método de dosagem, do tipo de amostra biológica e do momento da coleta em relação ao curso da doença (GAETANI *et al.*, 2019; EDÉN *et al.*, 2022). Outro aspecto crítico é a necessidade de validação em estudos longitudinais com amostras mais amplas e diversificadas, que possam confirmar a reprodutibilidade e o real valor prognóstico desses marcadores em diferentes cenários de neuroinfecções virais (SRIWASTAVA *et al.*, 2021).

É importante reconhecer as limitações deste estudo. O tamanho amostral relativamente pequeno e a alta prevalência de HIV/AIDS podem limitar a generalização dos resultados. Estudos longitudinais são necessários para avaliar desfechos a longo prazo e sequelas neurológicas persistentes (CLAFLIN *et al.*,

2021). Além disso, investigações adicionais sobre a interação entre COVID-19 e HIV/AIDS no contexto das manifestações neurológicas são necessárias para melhor compreensão dos mecanismos patogênicos e otimização das estratégias terapêuticas.

CONCLUSÃO

Nosso estudo fornece evidências robustas de que tanto a COVID-19 quanto as infecções por herpesvírus podem causar danos ao SNC, manifestados por elevações nos biomarcadores de dano axonal, ativação imunológica e neurodegeneração. A análise desses biomarcadores no liquor pode oferecer insights sobre os mecanismos patológicos subjacentes e potencialmente orientar estratégias terapêuticas e de monitoramento para pacientes com manifestações neurológicas dessas infecções virais.

Os achados sublinham a importância de abordagens diagnósticas abrangentes, que integrem dados clínicos e laboratoriais para diferenciar efetivamente entre os múltiplos agentes etiológicos presentes. A prevalência de reativações virais em condições de imunossupressão, exacerbada pelas condições socioeconômicas e logísticas da região, enfatiza a necessidade de fortalecer a infraestrutura de saúde e melhorar o acesso ao diagnóstico precoce e tratamento adequado.

A detecção limitada de RNA do SARS-CoV-2 no LCR dos pacientes sugere que as manifestações neurológicas associadas à COVID-19 podem estar mais relacionadas a respostas imunológicas ou vasculares do que à presença direta do vírus no sistema nervoso central. Estes achados têm implicações significativas para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas.

Por fim, os avanços nos métodos de diagnóstico molecular durante a pandemia oferecem um caminho promissor para o monitoramento contínuo e o manejo eficaz das neuroinfecções, destacando a importância de políticas de saúde pública adaptadas às especificidades regionais. Estudos futuros devem focar no seguimento a longo prazo para compreender melhor as consequências neurológicas duradouras das infecções virais, especialmente em populações vulneráveis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABU-RUMEILEH, S. *et al.* The multifaceted role of neurofilament light chain protein in non-primary neurological diseases. *Brain*, v. 146, n. 2, p. 421–437, 13 fev. 2023. Disponível em: <<https://academic.oup.com/brain/article/146/2/421/6695019>>. Acesso em: 1 nov. 2024.

ABU-RUMEILEH, S.; LUO, Y. Editorial: Advance in diagnostics for central nervous system infection. *Frontiers in Neurology*, v. 14, p. 1200056, 25 abr. 2023. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fneur.2023.1200056/full>>. Acesso em: 30 out. 2024.

AGUIAR, T. S. *et al.* Perfil epidemiológico da meningite no Brasil, com base nos dados provenientes do DataSUS nos anos de 2020 e 2021. *Research, Society and Development*, v. 11, n. 3, p. e50811327016–e50811327016, 3 mar. 2022. Disponível em: <<https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/27016>>. Acesso em: 1 nov. 2024.

ALBAYAR, A. A. *et al.* Biomarkers in Spinal Cord Injury: Prognostic Insights and Future Potentials. *Frontiers in Neurology*, v. 10, p. 27, 29 jan. 2019. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fneur.2019.00027/full>>. Acesso em: 29 out. 2024.

AL-KURASHY, H. M. *et al.* The potential role of neopterin in Covid-19: a new perspective. *Molecular and Cellular Biochemistry*, v. 476, n. 11, p. 4161–4166, nov. 2021. Disponível em: <<https://link.springer.com/10.1007/s11010-021-04232-z>>. Acesso em: 30 out. 2024.

AMARO, T. A. DE C. Atas de Ciências da Saúde. *Atas de Ciências da Saúde*, Accepted: 2024-07-05T18:59:46Z, 15 jul. 2022. Disponível em: <<https://miguilim.ibict.br/handle/miguilim/7261>>. Acesso em: 1 nov. 2024.

ASLAM, J. *et al.* Predictors of fatal neurological complications among admitted COVID-19 patients with their implication in outcome: A Case Control study. *PLOS ONE*, v. 17, n. 9, p. e0274485, 26 set. 2022. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0274485>>. Acesso em: 29 out. 2024.

ATTAR, A. *et al.* Probable Causative Agents and Demographic Patterns of Encephalitis, Meningitis, and Meningoencephalitis in a Single Tertiary Care Center. *Cureus*, 5 set. 2024. Disponível em: <<https://www.cureus.com/articles/292800-probable-causative-agents-and-demographic-patterns-of-encephalitis-meningitis-and-meningoencephalitis-in-a-single-tertiary-care-center>>. Acesso em: 28 out. 2024.

BARRIONUEVO, C. C. L. B. *et al.* Unveiling the Impact of Human Herpesviruses-Associated on CNS Infections: An Observational Study. *Viruses*, v. 16, n. 9, p. 1437,

set. 2024. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1999-4915/16/9/1437>>. Acesso em: 28 out. 2024.

BASTOS, M. D. S.; FIGUEIREDO, L. T. M.; NAVECA, F. G.; *et al.* Identification of Oropouche Orthobunyavirus in the Cerebrospinal Fluid of Three Patients in the Amazonas, Brazil. *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 86, n. 4, p. 732–735, 1 abr. 2012. Disponível em: <<https://www.ajtmh.org/view/journals/tpmd/86/4/article-p732.xml>>. Acesso em: 29 out. 2024.

BASTOS, M. D. S. *et al.* Importance of cerebrospinal fluid investigation during dengue infection in Brazilian Amazonia Region. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 114, p. e180450, 2019. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02762019000100300&tlng=en>. Acesso em: 29 out. 2024.

BASTOS, M. D. S.; FIGUEIREDO, R. M. P. D.; RAMASAWMY, R.; *et al.* Simultaneous circulation of all four dengue serotypes in Manaus, State of Amazonas, Brazil in 2011. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 45, n. 3, p. 393–394, jun. 2012. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822012000300022&lng=en&tlng=en>. Acesso em: 29 out. 2024.

BASTOS, M. S. *et al.* Detection of *Herpesvirus*, *Enterovirus*, and *Arbovirus* infection in patients with suspected central nervous system viral infection in the Western Brazilian Amazon: Viral Infection in CNS, Amazon, Brazil. *Journal of Medical Virology*, v. 86, n. 9, p. 1522–1527, set. 2014. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jmv.23953>>. Acesso em: 29 out. 2024.

BENAMEUR, K. *et al.* Encephalopathy and Encephalitis Associated with Cerebrospinal Fluid Cytokine Alterations and Coronavirus Disease, Atlanta, Georgia, USA, 2020. *Emerging Infectious Diseases*, v. 26, n. 9, p. 2016–2021, set. 2020. Disponível em: <http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/26/9/20-2122_article.htm>. Acesso em: 29 out. 2024.

BONETTO, V. *et al.* Markers of blood-brain barrier disruption increase early and persistently in COVID-19 patients with neurological manifestations. *Frontiers in Immunology*, v. 13, p. 1070379, 15 dez. 2022. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2022.1070379/full>>. Acesso em: 29 out. 2024.

CALIFF, R. M. Biomarker definitions and their applications. *Experimental Biology and Medicine*, v. 243, n. 3, p. 213–221, fev. 2018. Disponível em: <<http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1535370217750088>>. Acesso em: 1 nov. 2024.

CARMO, E. H. Emergências de saúde pública: breve histórico, conceitos e aplicações. *Saúde em Debate*, v. 44, n. spe2, p. 9–19, jul. 2020. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-11042020000600009&tlng=pt>. Acesso em: 30 out. 2024.

CARNEIRO, V. C. D. S. *et al.* Herpesvirus and neurological manifestations in patients with severe coronavirus disease. *Virology Journal*, v. 19, n. 1, p. 101, dez. 2022. Disponível em: <<https://virologyj.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12985-022-01828-9>>. Acesso em: 15 out. 2024.

CAROD ARTAL, F. J. Complicaciones neurológicas por coronavirus y COVID-19. *Revista de Neurología*, v. 70, n. 09, p. 311, 2020. Disponível em: <<https://www.neurologia.com/articulo/2020179>>. Acesso em: 27 out. 2024.

CAROD ARTAL, F. J. Síndrome post-COVID-19: epidemiología, criterios diagnósticos y mecanismos patogénicos implicados. *Revista de Neurología*, v. 72, n. 11, p. 384, 2021. Disponível em: <<https://www.neurologia.com/articulo/2021230>>. Acesso em: 29 out. 2024.

CHAUVIN, M. *et al.* Elevated Neopterin Levels Predict Fatal Outcome in SARS-CoV-2-Infected Patients. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 11, p. 709893, 23 ago. 2021. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2021.709893/full>>. Acesso em: 30 out. 2024.

CHOU, S. H.-Y. *et al.* Global Incidence of Neurological Manifestations Among Patients Hospitalized With COVID-19—A Report for the GCS-NeuroCOVID Consortium and the ENERGY Consortium. *JAMA Network Open*, v. 4, n. 5, p. e2112131, 11 maio 2021. Disponível em: <<https://jamanetwork.com/journals/jamanetworkopen/fullarticle/2779759>>. Acesso em: 27 out. 2024.

CLAFLIN, E. S. *et al.* Hospitalized Patients With COVID-19 and Neurological Complications Experience More Frequent Decline in Functioning and Greater Rehabilitation Needs. *American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation*, v. 100, n. 8, p. 725–729, ago. 2021. Disponível em: <<https://journals.lww.com/10.1097/PHM.0000000000001807>>. Acesso em: 30 out. 2024.

COSTA, B. K. D.; SATO, D. K. Viral encephalitis: a practical review on diagnostic approach and treatment. *Jornal de Pediatria*, v. 96, p. 12–19, mar. 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021755719304292>>. Acesso em: 28 out. 2024.

COSTA NETO, J. B. COVID-19 e o exame do líquido. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*, v. 52, n. 1, 2020. Disponível em: <<https://www.rbac.org.br/artigos/covid-19-e-o-exame-do-liquor/>>. Acesso em: 5 nov. 2024.

COSTA NETO, J. B. *LÍQUIDO CEFALORRAQUIANO*. [S.I.]: EDITORA DO AUTOR, 2015.

CRUNFLI, F. *et al.* Morphological, cellular, and molecular basis of brain infection in COVID-19 patients. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 119, n. 35, p. e2200960119, 30 ago. 2022. Disponível em: <<https://pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.2200960119>>. Acesso em: 27 out. 2024.

CZARNIAK, N. *et al.* Cerebrospinal Fluid-Basic Concepts Review. *Biomedicines*, v. 11, n. 5, p. 1461, 17 maio 2023.

DAGRA, A.; LYERLY, M.; LUCKE-WOLD, B. Encephalitis and Meningitis: Indications for Intervention. *Clinical Research*, v. 4, n. 1, 26 abr. 2023. Disponível em: <<https://www.jclinical.org/full-text/encephalitis-and-meningitis-indications-for-intervention>>. Acesso em: 1 nov. 2024.

DALE, R. C. *et al.* CSF neopterin and quinolinic acid are biomarkers of neuroinflammation and neurotoxicity in FIRES and other infection-triggered encephalopathy syndromes. *Annals of Clinical and Translational Neurology*, v. 10, n. 8, p. 1417–1432, ago. 2023. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/acn3.51832>>. Acesso em: 29 out. 2024.

DANDO, S. J. *et al.* Pathogens Penetrating the Central Nervous System: Infection Pathways and the Cellular and Molecular Mechanisms of Invasion. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 27, n. 4, p. 691–726, out. 2014. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/CMR.00118-13>>. Acesso em: 30 out. 2024.

DAVIES, N. W. S. Factors influencing PCR detection of viruses in cerebrospinal fluid of patients with suspected CNS infections. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, v. 76, n. 1, p. 82–87, 1 jan. 2005. Disponível em: <<https://jnnp.bmj.com/lookup/doi/10.1136/jnnp.2004.045336>>. Acesso em: 29 out. 2024.

DE MELO, S. A. *et al.* Molecular diagnosis of opportunistic infections in the central nervous system of HIV-infected adults in Manaus, Amazonas. *Frontiers in Medicine*, v. 10, p. 1298435, 9 jan. 2024. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmed.2023.1298435/full>>. Acesso em: 29 out. 2024.

DING, C. *et al.* Global, regional, and national burden and attributable risk factors of neurological disorders: The Global Burden of Disease study 1990–2019. *Frontiers in Public Health*, v. 10, p. 952161, 29 nov. 2022. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpubh.2022.952161/full>>. Acesso em: 31 out. 2024.

DYCKHOFF-SHEN, S. *et al.* Characterization and diagnosis spectrum of patients with cerebrospinal fluid pleocytosis. *Infection*, v. 52, n. 1, p. 219–229, fev. 2024.

Disponível em: <<https://link.springer.com/10.1007/s15010-023-02087-8>>. Acesso em: 13 set. 2024.

EDÉN, A.; KANBERG, N.; *et al.* CSF Biomarkers in Patients With COVID-19 and Neurologic Symptoms: A Case Series. *Neurology*, v. 96, n. 2, 12 jan. 2021. Disponível em: <<https://www.neurology.org/doi/10.1212/WNL.0000000000010977>>. Acesso em: 29 out. 2024.

EDÉN, A.; SIMRÉN, J.; *et al.* Neurochemical biomarkers to study CNS effects of COVID-19: A narrative review and synthesis. *Journal of Neurochemistry*, v. 159, n. 1, p. 61–77, out. 2021. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jnc.15459>>. Acesso em: 29 out. 2024.

EDÉN, A. *et al.* Viral Antigen and Inflammatory Biomarkers in Cerebrospinal Fluid in Patients With COVID-19 Infection and Neurologic Symptoms Compared With Control Participants Without Infection or Neurologic Symptoms. *JAMA Network Open*, v. 5, n. 5, p. e2213253, 23 maio 2022. Disponível em: <<https://jamanetwork.com/journals/jamanetworkopen/fullarticle/2792536>>. Acesso em: 29 out. 2024.

ELLUL, M. A. *et al.* Neurological associations of COVID-19. *The Lancet Neurology*, v. 19, n. 9, p. 767–783, set. 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1474442220302210>>. Acesso em: 28 out. 2024.

ERRANTE, P. R. *et al.* Análise do líquido cefalorraquidiano. Revisão de literatura. *Atas de Ciências da Saúde (ISSN 2448-3753)*, v. 4, n. 3, p. 1–24, 4 out. 2016. Disponível em: <<https://revistaseletronicas.fmu.br/index.php/ACIS/article/view/1186>>. Acesso em: 1 nov. 2024.

ESPÍNDOLA, O. M. *et al.* Cerebrospinal fluid findings in neurological diseases associated with COVID-19 and insights into mechanisms of disease development. *International Journal of Infectious Diseases*, v. 102, p. 155–162, 1 jan. 2021. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1201971220322475>>. Acesso em: 28 out. 2024.

FEIGIN, V. L. *et al.* Global, regional, and national burden of neurological disorders, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet Neurology*, v. 18, n. 5, p. 459–480, maio 2019. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S147444221830499X>>. Acesso em: 31 out. 2024.

FIGUEIREDO, R. M. P. D. *et al.* Human parvovirus B19 genotype 1 in suspected dengue patients of Tefé, Amazonas State, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 52, p. e20190304, 2019. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822019000100335&lng=en>. Acesso em: 1 nov. 2024.

FILHO, A. M. R. DE C.; MOREIRA, A. S. S. MENINGITES E ENCEFALITES DE ETIOLOGIA VIRAL. *Revista da Faculdade de Medicina de Teresópolis*, v. 3, n. 1, 3 jun. 2019. Disponível em: <<https://revista.unifeso.edu.br/index.php/faculdaadedemedicinadeteresopolis/article/view/978>>. Acesso em: 1 nov. 2024.

FVS. *Situação Epidemiológica da COVID-19 no Estado do Amazonas*. Boletim Epidemiológico, nº 32. [S.l: s.n.], 28 dez. 2021.

GAETANI, L. *et al.* Neurofilament light chain as a biomarker in neurological disorders. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, v. 90, n. 8, p. 870–881, ago. 2019. Disponível em: <<https://jnnp.bmj.com/lookup/doi/10.1136/jnnp-2018-320106>>. Acesso em: 16 out. 2024.

GARCÍA-MONCÓ, J. C. (Org.). *CNS Infections: A Clinical Approach*. London: Springer London, 2014. Disponível em: <<https://link.springer.com/10.1007/978-1-4471-6401-2>>. Acesso em: 30 out. 2024.

GIOVANE, R. A.; LAVENDER, P. D. Central Nervous System Infections. *Primary Care: Clinics in Office Practice*, v. 45, n. 3, p. 505–518, set. 2018. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0095454318300447>>. Acesso em: 30 out. 2024.

GOEDERT, M. Tau protein and neurodegeneration. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, v. 15, n. 1, p. 45–49, fev. 2004. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1084952103001204>>. Acesso em: 15 out. 2024.

GRIFFIN, D. E. Viral Encephalomyelitis. *PLoS Pathogens*, v. 7, n. 3, p. e1002004, 24 mar. 2011. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.ppat.1002004>>. Acesso em: 1 nov. 2024.

HAILEMICHAEL, W. *et al.* Neopterin: A Promising Candidate Biomarker for Severe COVID-19. *Journal of Inflammation Research*, v. Volume 14, p. 245–251, fev. 2021. Disponível em: <<https://www.dovepress.com/neopterin-a-promising-candidate-biomarker-for-severe-covid-19-peer-reviewed-article-JIR>>. Acesso em: 30 out. 2024.

HAKI, C. *et al.* Neurological Symptoms and Diagnoses in Patients Hospitalized With COVID-19: Relationships With Mortality. *The Neurologist*, v. 26, n. 6, p. 237–243, nov. 2021. Disponível em: <<https://journals.lww.com/10.1097/NRL.0000000000000379>>. Acesso em: 29 out. 2024.

HALL, J. E.; HALL, M. E. *Guyton & Hall - Tratado de Fisiologia Médica*. 14ª edição ed. Rio de Janeiro, RJ: GEN Guanabara Koogan, 2021.

HE, T. *et al.* Laboratory Diagnosis of Central Nervous System Infection. *Current Infectious Disease Reports*, v. 18, n. 11, p. 35, nov. 2016. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s11908-016-0545-6>>. Acesso em: 30 out. 2024.

HELBOK, R. *et al.* NeuroCOVID: it's time to join forces globally. *The Lancet Neurology*, v. 19, n. 10, p. 805–806, 1 out. 2020. Disponível em: <[https://www.thelancet.com/journals/lanneur/article/PIIS1474-4422\(20\)30322-7/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lanneur/article/PIIS1474-4422(20)30322-7/fulltext)>. Acesso em: 30 out. 2024.

HWANG, H.; HWANG, B.-Y.; BUENO, J. Biomarkers in Infectious Diseases. *Disease Markers*, v. 2018, p. 1–2, 20 jun. 2018. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/dm/2018/8509127/>>. Acesso em: 10 nov. 2024.

ICTV. *COMITÉ INTERNACIONAL DE TAXONOMIA VIRAL*. . [S.l: s.n.]. , 2023

ISHIYAMA, H. *et al.* Neurological Manifestations and Long-term Sequelae in Hospitalized Patients with COVID-19. *Internal Medicine*, v. 60, n. 22, p. 3559–3567, 15 nov. 2021. Disponível em: <https://www.jstage.jst.go.jp/article/internalmedicine/60/22/60_7802-21/_article>. Acesso em: 29 out. 2024.

JORGAČEVSKI, J.; POTOKAR, M. Immune Functions of Astrocytes in Viral Neuroinfections. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 24, n. 4, p. 3514, 9 fev. 2023. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1422-0067/24/4/3514>>. Acesso em: 30 out. 2024.

JUN, J.-S. *et al.* Clinical manifestations and treatment outcomes of parvovirus B19 encephalitis in immunocompetent adults. *Journal of NeuroVirology*, v. 23, n. 6, p. 903–907, 1 dez. 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s13365-017-0568-2>>. Acesso em: 1 nov. 2024.

KERMALI, M. *et al.* The role of biomarkers in diagnosis of COVID-19 – A systematic review. *Life Sciences*, v. 254, p. 117788, ago. 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0024320520305361>>. Acesso em: 28 out. 2024.

LAHIRI, D.; ARDILA, A. COVID-19 Pandemic: A Neurological Perspective. *Cureus*, 29 abr. 2020. Disponível em: <<https://www.cureus.com/articles/30897-covid-19-pandemic-a-neurological-perspective>>. Acesso em: 27 out. 2024.

LENFANT, T. *et al.* Neurological complications of varicella zoster virus reactivation: Prognosis, diagnosis, and treatment of 72 patients with positive PCR in the cerebrospinal fluid. *Brain and Behavior*, v. 12, n. 2, p. e2455, fev. 2022. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/brb3.2455>>. Acesso em: 28 out. 2024.

LENG, A. *et al.* Pathogenesis Underlying Neurological Manifestations of Long COVID Syndrome and Potential Therapeutics. *Cells*, v. 12, n. 5, p. 816, 6 mar. 2023.

Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2073-4409/12/5/816>>. Acesso em: 29 out. 2024.

LIMA, M. E. D. S.; BACHUR, T. P. R.; ARAGÃO, G. F. Guillain-Barre syndrome and its correlation with dengue, Zika and chikungunya viruses infection based on a literature review of reported cases in Brazil. *Acta Tropica*, v. 197, p. 105064, set. 2019. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0001706X19300373>>. Acesso em: 30 out. 2024.

LUNA, E. J. A. A emergência das doenças emergentes e as doenças infecciosas emergentes e reemergentes no Brasil. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, v. 5, n. 3, p. 229–243, dez. 2002. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-790X2002000300003&lng=pt&tlng=pt>. Acesso em: 13 set. 2024.

MALTA, J. M. A. S. *et al.* Síndrome de Guillain-Barré e outras manifestações neurológicas possivelmente relacionadas à infecção pelo vírus Zika em municípios da Bahia, 2015. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, v. 26, n. 01, p. 09–18, jan. 2017. Disponível em: <http://revista.iec.gov.br/template_doi_ess.php?doi=10.5123/S1679-49742017000100009&scielo=S2237-96222017000100009>. Acesso em: 30 out. 2024.

MANFROI, B.; DALARI, L. A. Síndrome de Guillain-Barré / Guillain-Barré Syndrome. *Brazilian Journal of Health Review*, v. 5, n. 1, p. 2565–2572, 10 fev. 2022. Disponível em: <<https://www.brazilianjournals.com/index.php/BJHR/article/view/43889>>. Acesso em: 1 nov. 2024.

MARINHO, E. P. M. *et al.* Pediatric central nervous system infections in the Amazon: clinical and laboratory profiles. *Frontiers in Public Health*, v. 11, p. 1329091, 21 dez. 2023. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpubh.2023.1329091/full>>. Acesso em: 29 out. 2024.

MARINHO, P. E. S. *et al.* The impact of viral infections on childhood central nervous system infections. *Journal of Clinical Virology*, v. 140, p. 104853, jul. 2021. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1386653221001207>>. Acesso em: 31 out. 2024.

MATTSSON, N. *et al.* Cerebrospinal fluid tau, neurogranin, and neurofilament light in Alzheimer's disease. *EMBO Molecular Medicine*, v. 8, n. 10, p. 1184–1196, out. 2016. Disponível em: <<https://www.embopress.org/doi/10.15252/emmm.201606540>>. Acesso em: 16 out. 2024.

MAWUNTU, A. H. P. *et al.* Detection of central nervous system viral infections in adults in Manado, North Sulawesi, Indonesia. *PLOS ONE*, v. 13, n. 11, p. e0207440, 16 nov. 2018. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0207440>>. Acesso em: 30 out. 2024.

MCGAVERN, D. B.; KANG, S. S. Illuminating viral infections in the nervous system. *Nature Reviews Immunology*, v. 11, n. 5, p. 318–329, maio 2011. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/nri2971>>. Acesso em: 28 out. 2024.

MEHTA, R. *et al.* The spectrum of neurological disease associated with Zika and chikungunya viruses in adults in Rio de Janeiro, Brazil: A case series. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, v. 12, n. 2, p. e0006212, 12 fev. 2018. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0006212>>. Acesso em: 30 out. 2024.

MEYDING-LAMADÉ, U.; STRANK, C. Herpesvirus infections of the central nervous system in immunocompromised patients. *Therapeutic Advances in Neurological Disorders*, v. 5, n. 5, p. 279–296, set. 2012. Disponível em: <<https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1756285612456234>>. Acesso em: 28 out. 2024.

MOURÃO, M. P. G. *et al.* Arboviral diseases in the Western Brazilian Amazon: a perspective and analysis from a tertiary health & research center in Manaus, State of Amazonas. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 48, n. suppl 1, p. 20–26, jun. 2015. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822015000800020&lng=en&tlng=en>. Acesso em: 29 out. 2024.

MS. *Situação Epidemiológicas das Meningites no Brasil*. [S.l.]: Ministério da Saúde, 27 set. 2022

NAVECA, F. G. *et al.* Multiplexed reverse transcription real-time polymerase chain reaction for simultaneous detection of Mayaro, Oropouche, and Oropouche-like viruses. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 112, n. 7, p. 510–513, jul. 2017. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02762017000700510&lng=en&tlng=en>. Acesso em: 1 nov. 2024.

NUNES, C. F. *Etiologia das encefalites e meningites de líquido claro*. 2018. Doutorado em Doenças Tropicais e Saúde Internacional – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/99/99131/tde-27112018-144215/>>. Acesso em: 28 out. 2024.

OLIE, S. E. *et al.* Diagnostic accuracy of inflammatory markers in adults with suspected central nervous system infections. *Journal of Infection*, v. 88, n. 3, p. 106117, mar. 2024. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0163445324000355>>. Acesso em: 29 out. 2024.

PATERSON, R. W. *et al.* Serum and cerebrospinal fluid biomarker profiles in acute SARS-CoV-2-associated neurological syndromes. *Brain Communications*, v. 3, n. 3, p. fcab099, 1 jul. 2021. Disponível em: <<https://academic.oup.com/braincomms/article/doi/10.1093/braincomms/fcab099/6274642>>. Acesso em: 29 out. 2024.

PILOTTO, A. *et al.* Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Encephalitis Is a Cytokine Release Syndrome: Evidences From Cerebrospinal Fluid Analyses. *Clinical Infectious Diseases*, v. 73, n. 9, p. e3019–e3026, 2 nov. 2021. Disponível em: <<https://academic.oup.com/cid/article/73/9/e3019/6062486>>. Acesso em: 29 out. 2024.

PORTELA-SÁNCHEZ, S. *et al.* Neurological complications of COVID-19 in hospitalized patients: The registry of a neurology department in the first wave of the pandemic. *European Journal of Neurology*, v. 28, n. 10, p. 3339–3347, out. 2021. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ene.14748>>. Acesso em: 29 out. 2024.

ROMÁN, G. C. *et al.* The neurology of COVID-19 revisited: A proposal from the Environmental Neurology Specialty Group of the World Federation of Neurology to implement international neurological registries. *Journal of the Neurological Sciences*, v. 414, p. 116884, 7 maio 2020. Disponível em: <<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7204734/>>. Acesso em: 27 out. 2024.

SARAIVA, M. D. G. G. *et al.* Epidemiology of infectious meningitis in the State of Amazonas, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 48, n. suppl 1, p. 79–86, jun. 2015. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822015000800079&lng=en&tlng=en>. Acesso em: 29 out. 2024.

SCHMITT, G. *et al.* The great barrier belief: The blood–brain barrier and considerations for juvenile toxicity studies. *Reproductive Toxicology*, v. 72, p. 129–135, set. 2017. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0890623817301089>>. Acesso em: 30 out. 2024.

SEHRAWAT, S.; KUMAR, D.; ROUSE, B. T. Herpesviruses: Harmonious Pathogens but Relevant Cofactors in Other Diseases? *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 8, 25 maio 2018. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/journals/cellular-and-infection-microbiology/articles/10.3389/fcimb.2018.00177/full>>. Acesso em: 28 out. 2024.

SHAHAN, B.; CHOI, E. Y.; NIEVES, G. Cerebrospinal Fluid Analysis. *American Family Physician*, v. 103, n. 7, p. 422–428, 1 abr. 2021. Disponível em: <<https://www.aafp.org/pubs/afp/issues/2021/0401/p422.html>>. Acesso em: 30 out. 2024.

SHEHATA, G. A. *et al.* Neurological Complications of COVID-19: Underlying Mechanisms and Management. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 22, n. 8, p. 4081, 15 abr. 2021. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1422-0067/22/8/4081>>. Acesso em: 29 out. 2024.

SMITH, B. C. *et al.* Targetability of the neurovascular unit in inflammatory diseases of the central nervous system. *Immunological Reviews*, v. 311, n. 1, p. 39–49, out.

2022. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/imr.13121>>. Acesso em: 30 out. 2024.

SOLOMON, T.; HART, I. J.; BEECHING, N. J. Viral encephalitis: a clinician's guide. *Practical Neurology*, v. 7, n. 5, p. 288–305, out. 2007. Disponível em: <<https://pn.bmj.com/lookup/doi/10.1136/jnnp.2007.129098>>. Acesso em: 1 nov. 2024.

SRIWASTAVA, S. *et al.* COVID-19 and neuroinflammation: a literature review of relevant neuroimaging and CSF markers in central nervous system inflammatory disorders from SARS-COV2. *Journal of Neurology*, v. 268, n. 12, p. 4448–4478, dez. 2021. Disponível em: <<https://link.springer.com/10.1007/s00415-021-10611-9>>. Acesso em: 29 out. 2024.

TOSCANO, G. *et al.* Guillain–Barré Syndrome Associated with SARS-CoV-2. *New England Journal of Medicine*, v. 382, n. 26, p. 2574–2576, 25 jun. 2020. Disponível em: <<http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMc2009191>>. Acesso em: 9 nov. 2024.

TSIVGOULIS, G. *et al.* Neurological manifestations and implications of COVID-19 pandemic. *Therapeutic Advances in Neurological Disorders*, v. 13, p. 1756286420932036, jan. 2020. Disponível em: <<https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1756286420932036>>. Acesso em: 27 out. 2024.

TYLER, K. Herpes simplex virus infections of the central nervous system: encephalitis and meningitis, including Mollaret's. *Herpes : the journal of the IHMF*, v. 11 Suppl 2, p. 57A-64A, 1 jul. 2004.

VAN RIEL, D.; VERDIJK, R.; KUIKEN, T. The olfactory nerve: a shortcut for influenza and other viral diseases into the central nervous system. *The Journal of Pathology*, v. 235, n. 2, p. 277–287, jan. 2015. Disponível em: <<https://pathsocjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/path.4461>>. Acesso em: 30 out. 2024.

VENKATESAN, A.; MURPHY, O. C. Viral Encephalitis. *Neurologic Clinics*, v. 36, n. 4, p. 705–724, nov. 2018. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0733861918312428>>. Acesso em: 29 out. 2024.

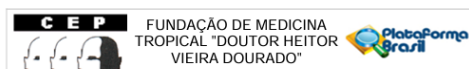
WHO. *Defeating Meningitis By 2030: A Global Road Map*. 1st ed ed. Geneva: World Health Organization, 2021.

YAN, J. *et al.* CSF neopterin, quinolinic acid and kynurenine/tryptophan ratio are biomarkers of active neuroinflammation. *eBioMedicine*, v. 91, 1 maio 2023. Disponível em: <[https://www.thelancet.com/journals/ebiom/article/PIIS2352-3964\(23\)00154-8/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/ebiom/article/PIIS2352-3964(23)00154-8/fulltext)>. Acesso em: 29 out. 2024.

ZHANG, L. *et al.* SARS-CoV-2 crosses the blood-brain barrier accompanied with basement membrane disruption without tight junctions alteration. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, v. 6, n. 1, p. 337, 6 set. 2021.

ANEXOS 1

Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP)



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Monitoramento dos casos suspeitos de infecção viral no sistema nervoso em uma região endêmica para arbovírus durante a pandemia de COVID-19

Pesquisador: Michele de Souza Bastos Barrionuevo

Área Temática:

Versão: 8

CAAE: 50417521.8.0000.0005

Instituição Proponente: Diretoria de Ensino e Pesquisa - DENPE

Patrocinador Principal: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas - FAPEAM

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 6.568.871

Apresentação do Projeto:

Trata-se da apreciação ética (E4, versão 8, do estudo intitulado Monitoramento dos casos suspeitos de infecção viral no sistema nervoso em uma região endêmica para arbovírus durante a pandemia de COVID-19, da pesquisadora Michele de Souza Bastos Barrionuevo

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

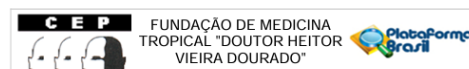
Estudar o líquido cefalorraquidiano dos casos suspeitos de infecção neurológica por SARS-CoV-2 em uma região endêmica para arbovírus.

Objetivo Secundário:

- 1- Investigar no líquido cefalorraquidiano a presença do vírus SARS-CoV-2.
- 2- Descrever as manifestações neurológicas associadas à infecção por SARS-CoV-2.
- 3- Propor um painel de diagnóstico diferencial para descartar a presença de outros vírus no líquido cefalorraquidiano: dengue, zika, chikungunya, Oropouche, encefalite de Saint Louis, vírus Oeste do Nilo, enterovírus e herpesvírus.
- 4- Estudar o genoma dos vírus detectados com a finalidade de identificar eventos de mudança, recombinação e ou rearranjos e correlacionar com as complicações no sistema nervoso.
- 5- Estudar os biomarcadores de dano neurológico e sua relação na doença neurológica pós-

Endereço: Av. Pedro Teixeira, 25
Bairro: D. Pedro I **CEP:** 69.040-000
UF: AM **Município:** MANAUS
Telefone: (82)2127-3572 **Fax:** (82)2127-3572 **E-mail:** cep@fnt.am.gov.br

Página 01 de 08



Continuação do Parecer: 6.568.871

Covid-19.

6- Identificar patógenos emergentes no líquido cefalorraquidiano causadores de doença neurológica por sequenciamento de nova geração.

7- Investigar o perfil inflamatório entre os grupos Covid-19 grave, Covid-19 moderado e os controles.

8- Investigar a diversidade de vírus de RNA e DNA no líquido cefalorraquidiano de pacientes suspeitos de infecção viral no sistema nervoso por metodologias de metagenômica viral que utilizem abordagens de sequenciamento de nova geração que otimizem a geração de dados a partir de amostras com baixa disponibilidade de RNA e DNA, como o ssDNA & Low-input DNA/RNA Library Prep Kit.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

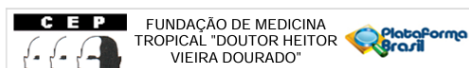
Reconhecemos que toda pesquisa envolvendo seres humanos, envolve risco (Resolução CNS nº 466 de 2012, item V). O Risco da pesquisa é a "possibilidade de danos à dimensão física, psíquica, moral, intelectual, social, cultural ou espiritual do ser humano, em qualquer pesquisa e dela decorrente".

É possível que, durante a coleta da amostra o paciente experimente algum desconforto, principalmente relacionado à coleta do líquido, a dor que acompanha a punção lombar pode ser semelhante àquela da coleta de sangue. Após submeter-se a punção lombar o paciente deverá permanecer em REPOUSO deitado por algumas horas e beber muito líquido. Um número pequeno das pessoas, mesmo com esse cuidado, poderá sentir dor de cabeça. Essa dor pode ser forte, acontece ao levantar e melhora ao deitar-se. Em casos raros, a dor de cabeça pode prolongar-se por um período maior, de 04 a 07 dias após a coleta do material, impossibilitando a realização das atividades habituais, pessoais e profissionais. Existe também um risco potencial de quebra do sigilo devido ao atendimento ser realizado em um sistema eletrônico de prontuário e outros médicos e profissionais de saúde poderão ver os seus dados. Entretanto, todos os esforços serão realizados para que os dados sejam guardados de forma confidencial e não possam ser relacionados ao estudo que você participa.

Benefícios:

Endereço: Av. Pedro Teixeira, 25
Bairro: D. Pedro I **CEP:** 69.040-000
UF: AM **Município:** MANAUS
Telefone: (82)2127-3572 **Fax:** (82)2127-3572 **E-mail:** cep@fnt.am.gov.br

Página 02 de 08



Continuação do Parecer: 6.568.871

O estudo possivelmente não trará benefício imediato ao paciente. Mas, os testes realizados durante o estudo poderão ajudar a diagnosticar agentes presentes no líquido e assim os pacientes poderão ser monitorados. As informações obtidas neste estudo também poderão melhorar o diagnóstico das infecções no sistema nervoso em pacientes vivendo em áreas endêmicas com circulação de vírus transmitidos pela picada de mosquitos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisadora

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

A PESQUISADORA ANEXO A ESTE PROTOCOLO TODOS OS DOCUMENTOS NECESSARIOS, INCLUSIVE A EMENDA

Recomendações:

APROVAR

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Encaminho esta Emenda para solicitar a inclusão do pesquisador associado, Dr. José Luiz Proença Modena; e incluir um novo objetivo e estender o cronograma do estudo para dezembro de 2024.

- Investigar a diversidade de vírus de RNA e DNA no líquido cefalorraquidiano de pacientes suspeitos de infecção viral no sistema nervoso por metodologias de metagenômica viral que utilizem abordagens de sequenciamento de nova geração que otimizem a geração de dados a partir de amostras com baixa disponibilidade de RNA e DNA, como o ssDNA & Low-input DNA/RNA Library Prep Kit.

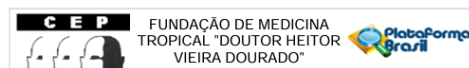
Amostras positivas para vírus de interesse serão ainda avaliadas por metodologias de proteômica, metabolômica e Luminex para buscar mediadores que possam contribuir para o avanço da doença e mesmo discriminar infecções virais diferentes no sistema nervoso central.

Justificativa da Emenda:

Embora sejam frequentemente negligenciados como agentes causadores de alterações neurológicas, hoje é sabido que uma grande diversidade de vírus pode causar diferentes síndromes neurológicas, como meningite, encefalite, meningoencefalite, mielite, síndrome de Guillain-Barré, síndrome de Miller-Fisher e encefalomielite disseminada aguda (síndrome de ADEM). Por limitações técnicas e aspectos históricos, a maioria das infecções virais do sistema nervoso central são descritas como associadas à vírus de DNA,

Endereço: Av. Pedro Teixeira, 25
Bairro: D. Pedro I **CEP:** 69.040-000
UF: AM **Município:** MANAUS
Telefone: (82)2127-3572 **Fax:** (82)2127-3572 **E-mail:** cep@fnt.am.gov.br

Página 03 de 08



Continuação do Parecer: 6.568.871

como Human Herpesvirus 1, Human Herpesvirus 2, Human Herpesvirus 3, Citomegalovírus, poliomavírus e alguns poucos vírus de RNA, como poliovírus, raiva, sarampo, HTLV e HIV [1]. Entretanto, com os avanços metodológicos de detecção viral e alterações das estratégias de vigilância epidemiológica, as arboviroses e alguns vírus respiratórios, todos com genoma de RNA, vêm sendo objeto de crescente atenção no âmbito de saúde pública como agentes causadores de síndromes neurológicas em humanos. Especificamente no Brasil, temos relatos de casos isolados e surtos de encefalite associados a arbovírus sabidamente neurotrópicos, como o vírus Saint Louis, Rocio e o vírus da febre do Nilo Ocidental [2-7]. Dados recentes apontam, também, que arbovírus normalmente associados com doença febril aguda, como Zika, Chikungunya, Mayaro e Oropouche, podem estar associados à infecção do sistema nervoso central e óbito em território nacional [8-11]. Infecções neurológicas por SARS-CoV-2 e alguns subtipos de influenza A também já foram descritas em humanos [12-13]. Desse modo, pretendemos usar amostras de líquido cefalorraquidiano já coletadas para caracterizar a diversidade de vírus de RNA e DNA por metodologias de metagenômica de alto rendimento e que necessitam de uma baixa disponibilidade de ácidos nucleicos para funcionar. Amostras positivas para arbovírus serão ainda avaliadas por outras abordagens de multiômicas, como proteômica e metabolômica, no intuito de encontrar conjuntos de biomarcadores que possam ser usados para diagnóstico ou no entendimento da evolução dessas doenças para quadros neurológicos.

OBS. Todas as alterações foram destacadas no versão 6 do projeto original e incluídas na PB.

Considerações Finais a critério do CEP:

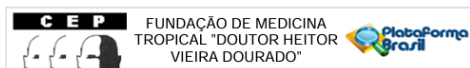
A presente EMENDA 4, VERSÃO 8 está APROVADA e os interessados ficam informados de dar continuidade em apresentar a este CEP os relatórios parciais e final do estudo, conforme prevê a Resolução CNS nº 466/2012, utilizando o formulário de Roteiro para Relatório Parcial/Final de estudos clínicos Unicêntricos e Multicêntricos, proposto pela CONEP em nossa home page.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações	PB-INFORMAÇÕES_BÁSICAS_226109	06/12/2023		Aceito

Endereço: Av. Pedro Teixeira, 25
Bairro: D. Pedro I **CEP:** 69.040-000
UF: AM **Município:** MANAUS
Telefone: (82)2127-3572 **Fax:** (82)2127-3572 **E-mail:** cep@fnt.am.gov.br

Página 04 de 08

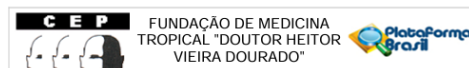


Continuação do Parecer: 6.568.871

Básicas do Projeto	E4.pdf	19:20:18		Aceito
Outros	ANUENCIA_Jose_Luiz_Proenca.pdf	06/12/2023 19:03:31	Michèle de Souza Bastos Barrionuevo	Aceito
Outros	Emenda4_061223.pdf	06/12/2023 18:57:37	Michèle de Souza Bastos Barrionuevo	Aceito
Cronograma	Cronograma_061223.pdf	06/12/2023 18:52:47	Michèle de Souza Bastos Barrionuevo	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Principal_V6.docx	06/12/2023 18:50:10	Michèle de Souza Bastos Barrionuevo	Aceito
Outros	Anuencia_ProfOindo.pdf	06/07/2023 10:54:31	Michèle de Souza Bastos Barrionuevo	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Principal_V5.docx	06/07/2023 10:50:35	Michèle de Souza Bastos Barrionuevo	Aceito
Outros	Emenda3_220623.docx	06/07/2023 10:49:50	Michèle de Souza Bastos Barrionuevo	Aceito
Outros	CartaResp_PendCEP_130722.docx	13/07/2022 21:13:15	Michèle de Souza Bastos Barrionuevo	Aceito
Brochura Pesquisa	Projeto_Principal_V4.docx	13/07/2022 21:09:22	Michèle de Souza Bastos Barrionuevo	Aceito
Outros	Carta_Emenda3_09062022.docx	09/06/2022 18:49:30	Michèle de Souza Bastos Barrionuevo	Aceito
Outros	CARTA_ANUENCIA_Prof_Spartaco.pdf	09/06/2022 18:20:06	Michèle de Souza Bastos Barrionuevo	Aceito
Outros	CARTA_ANUENCIA_Enedina.pdf	09/06/2022 18:19:44	Michèle de Souza Bastos Barrionuevo	Aceito
Outros	Carta_anuencia_Elen.pdf	09/06/2022 18:19:21	Michèle de Souza Bastos Barrionuevo	Aceito
Brochura Pesquisa	Projeto_Principal_V3.docx	09/06/2022 18:18:23	Michèle de Souza Bastos Barrionuevo	Aceito
Outros	CartaResp_PendCEP_230522.pdf	24/05/2022 16:19:33	Michèle de Souza Bastos Barrionuevo	Aceito
Outros	Emenda25_04_22.pdf	26/04/2022 10:54:28	Michèle de Souza Bastos Barrionuevo	Aceito
Brochura Pesquisa	Projeto_Principal_V2.docx	25/04/2022 16:57:22	Michèle de Souza Bastos Barrionuevo	Aceito
Outros	CartaResp_PendCEP_100921.docx	08/09/2021 18:27:52	Michèle de Souza Bastos Barrionuevo	Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto.pdf	08/09/2021 18:00:51	Michèle de Souza Bastos Barrionuevo	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TALE_V2_100921.docx	08/09/2021 17:54:45	Michèle de Souza Bastos Barrionuevo	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento /	TCLE_V2_100921.docx	08/09/2021 17:50:16	Michèle de Souza Bastos Barrionuevo	Aceito

Endereço: Av. Pedro Teixeira, 25
Bairro: D. Pedro I CEP: 69.040-000
UF: AM Município: MANAUS
Telefone: (92)2127-3572 Fax: (92)2127-3572 E-mail: cep@fnt.am.gov.br

Página 05 de 06



Continuação do Parecer: 6.568.871

Justificativa de Ausência	TCLE_V2_100921.docx	08/09/2021 17:50:16	Michèle de Souza Bastos Barrionuevo	Aceito
Outros	TCUD.pdf	03/08/2021 14:57:31	Michèle de Souza Bastos Barrionuevo	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Principal_V1.docx	02/08/2021 18:26:32	Michèle de Souza Bastos Barrionuevo	Aceito
Outros	Anuencia_DEP.pdf	02/08/2021 18:20:44	Michèle de Souza Bastos Barrionuevo	Aceito
Outros	Anuencia_DENPE.pdf	02/08/2021 18:20:32	Michèle de Souza Bastos Barrionuevo	Aceito
Outros	Anuencia_DAM.pdf	02/08/2021 18:20:17	Michèle de Souza Bastos Barrionuevo	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biotanco	ArmMatBio.pdf	02/08/2021 18:14:44	Michèle de Souza Bastos Barrionuevo	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TALE_V1_270721.pdf	02/08/2021 18:14:15	Michèle de Souza Bastos Barrionuevo	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TermDispTCLE.pdf	02/08/2021 18:13:38	Michèle de Souza Bastos Barrionuevo	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_V1_270721.pdf	02/08/2021 18:13:05	Michèle de Souza Bastos Barrionuevo	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

MANAUS, 11 de Dezembro de 2023

Assinado por:
Marilaine Martins
(Coordenadora(a))

Endereço: Av. Pedro Teixeira, 25
Bairro: D. Pedro I CEP: 69.040-000
UF: AM Município: MANAUS
Telefone: (92)2127-3572 Fax: (92)2127-3572 E-mail: cep@fnt.am.gov.br

Página 06 de 06

APÊNDICE A

Instrumento de Coleta de Dados

Confidencial

Instrumento reserva
Page 1

Informaes Gerais

Record ID _____

Record ID _____

ID: _____

Prontuário _____

Data de coleta do LCR _____

Data da admissão hospitalar: _____
(ex: 01/01/2019)

Data do desfecho _____

Corte: ☐ Prospectiva
☐ Retrospectiva

Intervalo de tempo entre admissão hospitalar e desfecho (dias): _____

Sexo de nascimento: ☐ Feminino
☐ Masculino

Data de nascimento: _____
(ex: 01/01/2019)

Idade: _____
(Em anos)

Confidencial

Page 2

Sintomas da COVID-19: ☐ Tosse seca
☐ Tosse produtiva
☐ Dispneia
☐ Rinorreia (secreção espessa)
☐ Coriza (secreção hialina)
☐ Febre
☐ Diarreia
☐ Vômito
☐ Dor de garganta
☐ Linfadenopatia
☐ Anosmia (falta de olfato)
☐ Disgeusia (falta de paladar)
☐ Odinofagia (dor para engolir)
☐ Adinamia (fraqueza muscular)
☐ Fadiga
☐ Alteração cutânea
☐ Prurido
☐ Exantema
☐ Mialgia
☐ Altralgia

Tempo do início dos sintomas em dias: _____

Manifestações Neurológicas

Presente

Cefaleia ☐

Paresia de MMII (força) ☐

Paresia de MMSS ☐

Parestesia (sensibilidade) ☐

Distúrbios do movimento ☐

Rebaixamento no nível de consciência (torpor) ☐

Confusão mental ☐

Deficit neurológico focal ☐

Coma ☐

Rigidez de nuca ☐

Neuropatia periférica ☐

Qual? _____

07/11/2024 11:23am

projectredcap.org REDCap

Confidencial

Page 3

Escala modificada de Rankin ☐ 0 Sem sintomas
☐ 1 Nenhuma deficiência significativa
☐ 2 Leve deficiência
☐ 3 Deficiência moderada
☐ 4 Deficiência moderadamente grave
☐ 5 Deficiência grave
☐ 6 Óbito
(1- capaz de conduzir todos os deveres e atividades habituais; 2- incapaz de conduzir todas as atividades de antes, mas é capaz de cuidar dos próprios interesses sem assistência; 3- requer alguma ajuda, mas é capaz de caminhar sem assistência; 4- incapaz de caminhar sem assistência e incapaz de atender as próprias necessidades fisiológicas sem assistência; 5- confinado à cama, incontinente, requerendo cuidados e atenção constante de enfermagem)

Histórico de doenças crônicas: ☐ Hipertensão Arterial Sistêmica
☐ Diabetes Mellitus
☐ Hepatopatia crônica
☐ Obesidade
☐ Asma
☐ Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica
☐ Doença cardiovascular
☐ Doença cerebrovascular
☐ Insuficiência renal crônica
☐ Tuberculose
☐ Outra _____

Qual: _____

Tempo do diagnóstico de HIV em anos: _____

Uso de TARV: ☐ Uso regular
☐ Uso irregular
☐ Virgem de tratamento
☐ Abandono

Tempo de uso da TARV: _____
(Em dias, meses ou anos)

Esquema: ☐ Preferencial
☐ Alternativo
☐ Resgate/Falha

Combinação da TARV: ☐ Lamivudina (3TC), Tenofovir (TDF), Dolutegravir (DTG) (tratamento inicial para adulto)
☐ Lamivudina (3TC), Tenofovir (TDF), Efavirenz (EFV) (3 em 1)
☐ Outra _____

Qual? _____

07/11/2024 11:23am

projectredcap.org REDCap

Confidencial

Page 4

Diagnóstico: ☐ Toxoplasmose
☐ Neurotoxoplasmose
☐ Neurotuberculose
☐ Tuberculose pulmonar
☐ Criptococose
☐ Neurocriptococose
☐ Pneumocistose
☐ Pneumonia bacteriana
☐ HTLV
☐ CMV
☐ Herpes Zoster (VZV)
☐ Parvovírus B19
☐ Histoplasmoses
☐ Candidíase
☐ Sífilis
☐ Sarcoma de Kaposi
☐ Epstein-Barr (EBV)
☐ Dengue
☐ Zika
☐ Chikungunya
☐ JC
☐ Neurosífilis

Doença pregressa (tratada): ☐ Toxoplasmose
☐ Neurotoxoplasmose
☐ Neurotuberculose
☐ Tuberculose pulmonar
☐ Criptococose
☐ Neurocriptococose
☐ Pneumocistose
☐ Pneumonia bacteriana
☐ HTLV
☐ CMV
☐ Herpes Zoster (VZV)
☐ Parvovírus B19
☐ Histoplasmoses
☐ Candidíase
☐ Sífilis
☐ Sarcoma de Kaposi
☐ Epstein-Barr (EBV)
☐ Dengue
☐ Zika
☐ Chikungunya
☐ Neurosífilis

Uso de drogas ilícitas: ☐ Etilismo
☐ Tabagismo
☐ Ex etilista
☐ Ex tabagista

Admissão na UTI: ☐ SIM
☐ NÃO

Data de admissão na UTI: _____
(ex: 01/01/2019)

Desfecho primário: ☐ ALTA
☐ ÓBITO
☐ ACOMPANHAMENTO AMBULATORIAL

07/11/2024 11:23am

projectredcap.org REDCap

APÊNDICE B

CRONOGRAMA

	2022 Abr-Nov	2023 Abr-Nov	2024 Abr-Nov
A1	X	X	X
A2	X		
A3	X		
A4	X		
A5	X		
A6		X	
A7		X	
A8		X	
A9		X	
A10			X
A11			X

Descrição das Atividades

A1- Créditos

A2- Seleção dos pacientes (prontuários e exames)

A3- Triagem das amostras de LCR

A5- Realização do painel viral

A6- Análise bioquímica do liquor e dos biomarcadores.

A7- Descrição e tabulação das Manifestações Neurológicas

A8- Análise de biomarcadores solúveis (Neopterina, Neurofilamento e Tau-total).

A9-Aula de qualificação de mestrado.

A10- Análise Estatística e Interpretação dos dados dos biomarcadores solúveis.

A11- Escrita e entrega da dissertação final.

APÊNDICE C
ARTIGO CIENTÍFICO – VERSÃO 1 (sob revisão)

Neuroinfecções Virais na Amazônia durante a Pandemia de COVID-19

RESUMO

As neuroinfecções virais representam um desafio significativo para a saúde pública, especialmente na região amazônica, caracterizada por complexidades epidemiológicas únicas.

Objetivo: Investigar manifestações neurológicas virais em pacientes durante a pandemia de COVID-19 na região amazônica, analisando agentes etiológicos, perfil liquorico e biomarcadores.

Métodos: Estudo observacional descritivo com 207 pacientes, utilizando reação em cadeia da polimerase (qPCR) para identificação viral e imunoensaio para análise de biomarcadores no líquido cefalorraquidiano (LCR). Foram avaliados parâmetros clínicos, moleculares e bioquímicos, estratificando pacientes em grupos de COVID-19, herpesvírus e controle.

Resultados: Identificou-se agentes virais em 16,9% dos casos, com predominância de herpesvírus (80%): citomegalovírus (22,9%), herpes simplex 1 e 2 (14,3% cada), Epstein-Barr (8,6%) e Zoster (8,6%). Na coorte de COVID-19 (46 pacientes), 21,7% necessitaram internação em UTI, com mortalidade de 42,9%. Biomarcadores revelaram elevação significativa de neurofilamento de cadeia leve (NfL), neopterinina e proteína T-tau, indicando danos axonais e resposta inflamatória intensa.

Conclusão: O estudo evidencia a complexidade das neuroinfecções virais na Amazônia, destacando a importância de estratégias diagnósticas adaptativas e abordagens terapêuticas focadas na modulação imunológica, especialmente em populações com alta prevalência de comorbidades.

Palavras-chave: Neuroinfecções, COVID-19, Herpesvírus, Biomarcadores, Amazônia

INTRODUÇÃO

As doenças infecciosas, causadas por patógenos como bactérias, vírus, parasitas e fungos, representam um desafio para a saúde global em termos de morbidade e mortalidade¹. Neste contexto, os vírus se destacam por sua contribuição para o surgimento e ressurgimento de doenças infecciosas², desencadeando manifestações clínicas importantes que variam desde síndromes febris e respiratórias até, de maneira preocupante, afecções do sistema nervoso. Estas últimas podem levar a uma série de sintomas, incluindo cefaleia, febre, rigidez na nuca, alterações sensoriais, fraqueza muscular e disfunções cognitivas^{2,3}.

Recentemente, o mundo enfrentou a pandemia do novo coronavírus, pertencente à família Coronaviridae e denominado SARS-CoV-2, causador da síndrome respiratória aguda grave 2 (COVID-19). Essa pandemia teve diversos impactos políticos, sociais, econômicos e afetou os sistemas de saúde globalmente. A literatura atual destaca evidências de que o SARS-CoV-2 pode afetar o SNC e o sistema nervoso periférico (SNP), provocando uma variedade de sintomas neuropsiquiátricos, e/ou neurológicos^{4,5}.

A região amazônica apresenta desafios únicos no controle de neuroinfecções devido a fatores climáticos e geográficos que facilitam a disseminação de patógenos virais e parasitários. Arboviroses como dengue, Zika e chikungunya são prevalentes, assim como outras infecções neurovirais, incluindo as causadas por Herpes simplex e pelo vírus da febre amarela. A incidência dessas doenças é agravada pelo clima tropical úmido e pela densidade da floresta, ambiente ideal para a reprodução de vetores como os mosquitos^{6,7}.

Apesar dos avanços no tratamento de doenças infecciosas, o envolvimento do SNC continua sendo desafiador, com até 30% dos pacientes em centros terciários de países desenvolvidos sem diagnóstico etiológico para infecções do SNC^{8,9}. As manifestações neurológicas em pandemias têm consequências a curto e longo prazo frequentemente subestimadas. Portanto, é crucial investigar o perfil das neuroinfecções na região amazônica durante a pandemia de COVID-19, considerando a diversidade de agentes etiológicos e as particularidades regionais.

Portanto, o objetivo deste estudo foi investigar o líquido cefalorraquidiano de pacientes com manifestação neurológica durante a pandemia de COVID-19 em uma unidade de saúde terciária em Manaus. Este estudo observacional descritivo utilizou a reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR) para analisar amostras de LCR de pacientes apresentando manifestação neurológica durante a pandemia, buscando identificar diversos agentes virais e analisar biomarcadores específicos. Nosso objetivo é fornecer insights

valiosos sobre o perfil das neuroinfecções na região amazônica, contribuindo para o aprimoramento do diagnóstico, manejo clínico e desenvolvimento de estratégias de saúde pública adaptadas às especificidades regionais.

MATERIAL E MÉTODOS

Desenho do Estudo

Estudo observacional, descritivo e retrospectivo realizado para estimar a prevalência das neuroinfecções virais em pacientes com manifestações neurológicas durante a pandemia de COVID-19.

O estudo foi conduzido na Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD), instituição de referência no diagnóstico e tratamento de doenças infecciosas no Amazonas, um importante centro de cuidados para Pessoas Vivendo com HIV/AIDS (PVHA).

A população foi constituída por pacientes apresentando manifestação neurológica, suspeitos ou não de Covid-19, apresentando sintomas neurológicos como rigidez de nuca, febre, exantema e alteração do nível de consciência, fraqueza muscular, atendidos na demanda espontânea da FMT-HVD e outros hospitais da rede do SUS e que tiverem sido submetidos à punção lombar no período de março de 2020 a julho de 2022. Foram incluídos 207 pacientes com síndrome neurológica aguda de suspeita viral (107 homens e 99 mulheres), com idades entre (2 meses e 91 anos). Foram excluídas, amostras de pacientes com trauma, infecções neurológicas confirmadas para bactérias, fungos, parasitas.

Coleta e Processamento de Amostras

As informações relevantes ao estudo, como as variáveis sociodemográficas, (idade, sexo, gênero, data de nascimento, local de residência, procedência hospitalar). Informações clínicas (febre, tosse, vômito, diarreia, odinofagia, anosmia, disgeusia, astenia, mialgia). Manifestações neurológicas (cefaleia, rigidez de nuca, estado alterado de consciência, crise convulsiva, paresia, distúrbio do movimento, e neuropatia periférica), foram obtidas a partir do prontuário eletrônico (Sistema *iDoctor*) e requisições internas. Todas as informações foram gerenciadas em banco de dados no *Software Ressorce Electronic Data Capture* (RedCap) versão 12.2.10 – © 2022 *Vanderbilt University*.

Processamento do Líquido Cefalorraquidiano (LCR)

As amostras de LCR foram coletadas pelo médico responsável. Após coleta, foram encaminhadas para o laboratório bacteriologia da FMT-HVD, onde os testes de rotinas bacteriológica e diagnóstico molecular foram realizados.

Foram avaliados parâmetros como: Aspecto e/ou cor; Citometria, contagem de células por mm³; Citologia: observação do perfil celular (linfócitos e monócitos) e polimorfonucleares (neutrófilos segmentados); Coloração de Gram, Ziehl-Neelsen e tinta da China (Nankin).

Diagnóstico Molecular

O Ácido Nucléico (RNA/ DNA) das amostras de LCR foi extraído utilizando-se 200µl de amostra com o Kit (Promega *ReliaPrep™ Viral*) seguindo o protocolo estabelecido pelo fabricante.

Painel viral para investigação:

Primers e sondas foram utilizados para amplificação dos genes específicos para os alvos Herpes simplex tipo 1 e 2 (HSV-1/2), Epstein-Barr vírus (EBV), Varicela zoster vírus (VZV), Citomegalovírus (CMV), John Cunningham vírus (JCV), de acordo com os protocolos descrito por (SIDDIQI *et al.*, 2014; WEIDMANN; ARMBRUSTER; HUFERT, 2008). E para amplificação dos genes específicos para detecção dos arbovírus, Dengue vírus (DENV 1-4), chikungunya vírus (CHICKV), Zika Vírus (ZIKV), West Nile vírus (WNV) e Enterovirus humanos (EV), Parvovírus B19 (PVB19) de acordo com os protocolos descritos por ¹³⁻¹⁷.

Controles internos:

Para controle interno utilizamos o gene da β -actina e RNase P. Controle positivo foi utilizado o gblock 1 (fragmentos de iniciadores sintetizados, para os alvos em questão). Para controle negativo foi utilizado água livre de Dnase e Rnase.

Para a investigação do SARS-CoV-2 foi utilizado o ensaio de PCR em tempo real (qPCR) em amostras de swab nasofaringe e líquido cefalorraquidiano. Utilizando o Allplex™ SARS-CoV-2 Assay com detecção para os alvos gene E, N, S e RdRP (SEEGENE, Brazil, MG) seguindo-se as instruções do fabricante.

Análise de Biomarcadores

Triagem das amostras

Os pacientes foram separados de acordo com a Escala de Progressão Clínica da Organização Mundial de Saúde ¹⁸.

Covid grave: os que apresentaram febre alta e persistente, dificuldade ao respirar, saturação de oxigênio <90%, diminuição da força física, hipotensão, letargia ou redução do nível de consciência, que precisaram de algum tipo de suporte de oxigênio e UTI.

Covid moderado: os que apresentaram febre leve ou moderada, tosse seca, coriza, fadiga, dor de garganta, cefaleia, dor muscular e desconforto respiratório.

Grupo Inflamatório: foi composto pelos casos com herpesvírus detectado no LCR.

Grupo controle: composto pelos casos com parâmetros bioquímicos do liquor dentro dos valores normais e presença de < 5 cels/mm³, sem agente etiológico detectado.

Imunoensaio comercial para Biomarcadores

Para análise de biomarcadores de inflamação e lesão neuronal, no líquido cefalorraquidiano foram medidos usando imunoensaio comercial, Human NEFL (Neurofilament, Light Polypeptide) ELISA kit da Elabscience (USA), resultados expressos em pg/mL. Neopterin (NRF1) ELISA (IBL International GMBH, Hamburgo, Alemanha), resultados expressos em nmol/L. Tau (Total) Human ELISA Kit (Invitrogen, MA, USA), resultados expressos em pg/mL, seguindo as recomendações do fabricante, (protocolo anexo).

Os biomarcadores foram analisados em quatro grupos de pacientes: COVID-19 grave (n=17), COVID-19 moderado (n=19), controle inflamatório casos de herpesvirus (n=14) e um grupo controle (n=19).

Análise Estatística

As variáveis quantitativas e qualitativas foram tabuladas e analisadas pelo software R (v.2022.07.2). Os dados foram testados quanto a sua normalidade pelo teste de Shapiro Wilk. O teste exato de Fisher foi aplicado para avaliar se existia associação entre as variáveis categóricas das características gerais dos pacientes incluídos no estudo, com $p < 0,05$, seguido do teste de wilcoxon com correção de continuidade, determinando se as diferenças, entre as medianas das variáveis são verdadeiras, com diferenças estatísticas significativas, com valor de $p < 0,05$.

Os níveis de biomarcadores mediadores de processo inflamatório no liquor foram analisados através de métodos estatísticos convencionais, utilizando o software GraphPad Prism (V9.0.1). A normalidade dos dados foi verificada por meio do teste de Shapiro-Wilk para cada variável, revelando uma distribuição não-paramétrica. A comparação dos valores entre dois grupos foi conduzida pelo teste de Mann-Whitney, enquanto para a comparação das variáveis com três ou mais grupos, empregou-se o teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de Dunn para comparações múltiplas entre os grupos. Em ambos os casos, os níveis de significância estatísticos foram definidos como $p < 0,05$.

Aspectos Éticos

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado sob o número (CAAE 50417521.8.0000.0005) e parecer 5.529.728, seguindo o que está disposto na Resolução 466/2012.

RESULTADOS

Caracterização da População

Durante o estudo, 346 amostras de líquido cefalorraquidiano (LCR) foram analisadas de pacientes com suspeita de infecção viral no sistema nervoso central (SNC). Devido a critérios de exclusão, 139 amostras foram removidas: 62 por insuficiência de dados neurológicos, 62 por volume inadequado para análises bioquímicas e 15 por ausência de informações clínicas. Assim, a análise final incluiu 207 amostras (Fluxograma).

A média etária dos participantes foi de 31 anos, abrangendo de 2 meses a 77 anos, com predominância do sexo feminino em 51,7% (107/207) dos casos. A faixa etária de 26 a 46 anos foi a mais representativa (37,2%), seguida por 47 a 65 anos (21,3%) (Tabela 1).

Sintomas neurológicos frequentes incluíram cefaleia em 47,8% (99/207), alteração do estado de alerta em 25,1% (52/207), confusão mental em 23,7% (50/207), parestesia em 20,8% (43/207), distúrbios do movimento em 12,6% (26/207) e rigidez de nuca em 12,1% (25/207). As classificações gerais de neuroinfecções foram encefalites em 21,7% (45/207), meningoencefalites em 20,7% (43/207), meningites em 14,5% (30/207), síndrome de Guillain-Barré em 4,4% (9/207), e um significativo percentual não especificado de 38,7% (80/207), indicando a necessidade de aprimoramentos diagnósticos (Gráfico 1).

Agentes Virais Detectados

Na investigação molecular, agentes virais foram identificados em 16,9% (35/207) dos pacientes com manifestações neurológicas. Herpesvírus foi detectado em 80% (28/35) dos casos, subdividindo-se em CMV (22,9%), HSV-1 (14,3%), HSV-2 (14,3%), EBV (8,6%), VZV (8,6%) e JCV (17,1%). Coinfecções ocorreram em 14,2% (5/35) dos casos, com combinações de VZV/EBV (11,4%) e JCV/BK (2,9%), evidenciando o papel predominante dos herpesvírus, especialmente em pacientes imunocomprometidos (Tabela 2).

Nos pacientes infectados por herpesvírus, os principais sintomas foram febre (60,7%), vômito (39,3%) e dispneia (21,4%). Em contraste, aqueles com poliomavírus apresentaram febre (57,1%), vômito (42,9%), dispneia (57,1%), astenia (57,1%) e tosse (42,9%). Apesar da maioria dos sintomas não ter diferença estatística significativa entre os grupos, a parestesia foi significativamente mais frequente nos casos de poliomavírus ($p=0,045$). As diferenças nos perfis sintomatológicos refletem a complexidade das manifestações neurológicas virais.

Manifestações neurológicas associadas ao herpesvírus incluíram cefaleia e alteração do estado de alerta em 60,7% dos casos, além de confusão mental em 50%. Em pacientes com poliomavírus, as manifestações incluíram crise convulsiva, parestesia, afasia e disartria em 28,6% dos casos cada. Esses achados destacam a complexidade e variabilidade dos perfis sintomatológicos virais (Tabela 3).

COVID-19 e Manifestações Neurológicas

Em nossa coorte de 46 pacientes com COVID-19, a idade média era de 32 anos, com predomínio do sexo feminino em 54,3% dos casos. A comorbidade mais comum foi HIV/AIDS, presente em 30,4% dos pacientes. Dentre os pacientes, 21,7% necessitaram de internação em Unidade de Terapia Intensiva (UTI), e 90% desses necessitaram de suporte ventilatório, como intubação orotraqueal ou ventilação mecânica. O tempo médio de internação foi de 17 dias, variando de 5 a 140 dias, e a mortalidade foi de 42,9% (Tabela 4).

As manifestações neurológicas mais frequentes incluíram cefaleia (47,8%), alteração do estado de alerta (25,1%), e confusão mental (23,7%). Outros sintomas incluíram parestesia (20,8%), distúrbios do movimento (12,6%) e rigidez de nuca (12,1%). O Gráfico 2 ilustra manifestações neurológicas adicionais menos comuns, como crise convulsiva, paresia, e afasia, evidenciando a diversidade e a complexidade dos comprometimentos neurológicos associados ao COVID-19 e seu potencial neurotrópico.

Perfil do Líquido Cefalorraquidiano

A análise dos parâmetros do líquido cefalorraquidiano (LCR) revelou diferenças significativas entre os grupos de pacientes com infecções por herpesvírus e poliomavírus. O grupo de herpesvírus apresentou uma mediana de celularidade de 166 células/mm³ (IQR de 397 células/mm³), contrastando com a ausência de pleocitose no grupo de poliomavírus (0 células/mm³), resultando em significância estatística ($p=0,00031$). Em termos de proteinorraquia, o grupo de herpesvírus mostrou uma mediana de 104 mg/dL (IQR de 129 mg/dL), enquanto o grupo de poliomavírus apresentou 47 mg/dL (IQR de 28,5 mg/dL), demonstrando outra diferença estatisticamente significativa ($p=0,007$). Esses resultados indicam uma resposta inflamatória mais pronunciada associada ao herpesvírus (Gráfico 2 A, B, C).

Nos pacientes com COVID-19, o LCR apresentou padrões geralmente normais, com mediana de celularidade abaixo de 5 células/mm³, proteinorraquia de 45,5 mg/dL, e glicorraquia de 62,5 mg/dL. Comparações adicionais entre os grupos COVID-19, Herpesvírus (HHV) e Controle mostraram pleocitose elevada e proteinorraquia no grupo HHV ($p=0,0019$ e $p=0,0050$, respectivamente), com glicorraquia sem diferenças significativas (Gráfico 3 A, B, C).

Nos casos de COVID-19, a subdivisão em moderados e graves revelou que o grupo grave tinha maior celularidade (10 células/mm³) e proteinorraquia (81 mg/dL) em comparação com o grupo moderado (4,5 células/mm³ e 47 mg/dL, respectivamente), com significância estatística na proteinorraquia ($p=0,0061$) (Gráfico 4, A, B, C). Embora o SARS-CoV-2 não cause alterações líquóricas dramáticas em todos os casos, há uma

tendência de maior comprometimento da barreira hematoencefálica em casos graves, sugerindo uma resposta inflamatória mais intensa.

Biomarcadores Destacados

O presente estudo analisou biomarcadores solúveis no líquido cefalorraquidiano (LCR) de pacientes com COVID-19 e infecções por Herpesvírus (HHV), identificando alterações significativas que proporcionam insights sobre os mecanismos patológicos e impactos neurológicos dessas infecções. Observou-se que o neurofilamento de cadeia leve (NfL) apresentou níveis significativamente elevados nos grupos COVID-19 ($p=0,000313$) e HHV ($p=0,0442$) em comparação com o controle, indicando danos axonais significativos. A neoptertina, um marcador de ativação celular, também se mostrou elevada em ambos os grupos em relação ao controle ($p=0,00015$), destacando uma resposta inflamatória robusta no sistema nervoso central. A proteína T-tau foi significativamente elevada nos casos de COVID-19 grave em comparação com o controle ($p=0,0007$) e o grupo moderado ($p=0,0373$), sugerindo uma correlação com a severidade da doença. A análise dos biomarcadores, conforme mostrado nos Gráficos 5 e 6, oferece potenciais ferramentas para o diagnóstico e prognóstico das encefalopatias virais, sublinhando a complexa resposta neurológica ao SARS-CoV-2.

DISCUSSÃO

Este estudo apresenta uma análise detalhada das neuroinfecções no contexto da pandemia de COVID-19 na região amazônica, com ênfase em 207 pacientes com síndrome neurológica aguda de suspeita viral, entre março de 2020 e julho de 2022. A inclusão de pacientes com COVID-19 (22,2%) permitiu examinar complicações neurológicas associadas ao SARS-CoV-2, contribuindo para o entendimento de seu neurotropismo. A abordagem multidisciplinar, integrando análises clínicas e laboratoriais, foi vital para o diagnóstico diferencial e manejo das neuroinfecções. Biomarcadores como neoptertina, NfL e T-tau forneceram insights sobre o prognóstico, ressaltando a importância de estratégias abrangentes (DALE *et al.*, 2023; SRIWASTAVA *et al.*, 2021; YAN *et al.*, 2023).

A região amazônica enfrenta desafios únicos no controle de neuroinfecções, exacerbados por fatores climáticos e geográficos que favorecem a disseminação de patógenos. A incidência de arboviroses como dengue, Zika e chikungunya, junto com infecções neurovirais como Herpes simplex e febre amarela, é agravada pelo clima tropical,

ambiente propício para vetores como mosquitos (MARINHO *et al.*, 2023; MOURÃO *et al.*, 2015a).

Populações imunocomprometidas, especialmente com HIV/AIDS, enfrentam maior risco de complicações severas, sobrecarregando os serviços de saúde locais. A Fundação de Medicina Tropical em Manaus desempenha um papel crucial no tratamento e diagnóstico dessas condições ^{6,23}. A infraestrutura limitada e o isolamento das áreas remotas resultam em atrasos no diagnóstico e tratamento, favorecendo a progressão das doenças infecciosas.

A pandemia de COVID-19 agravou esses desafios, mas também impulsionou avanços em métodos de diagnóstico molecular, essenciais para o monitoramento de neuroinfecções. As especificidades regionais destacam a necessidade de políticas de saúde pública adaptadas, com estratégias focadas no aprimoramento do diagnóstico e resposta a surtos locais.

O estudo revelou a predominância de herpesvírus como causa importante de encefalites virais, corroborando pesquisas anteriores que sublinham a importância do monitoramento de agentes neurotrópicos em pacientes imunossuprimidos (BARRIONUEVO *et al.*, 2024; CARNEIRO *et al.*, 2022). A identificação de poliomavírus enfatiza a natureza multifatorial das neuroinfecções virais, especialmente em pacientes imunocomprometidos (CORTESE; REICH; NATH, 2021).

Os achados deste estudo fornecem detalhes valiosos sobre as manifestações neurológicas em pacientes com Neuro-COVID-19, particularmente em uma população com alta prevalência de HIV/AIDS. A predominância do sexo feminino na coorte contrasta com algumas pesquisas que relatam maior incidência em homens ³⁰, sugerindo diferenças demográficas específicas.

A análise do perfil líquórico e dos mecanismos patogênicos indica que complicações neurológicas da COVID-19 são principalmente mediadas por mecanismos indiretos, conforme evidenciado pela ausência de RNA viral no LCR, alinhando-se a estudos anteriores ^{4,31}. A diferença significativa na proteinorraquia entre casos moderados e graves de COVID-19 sugere correlação com o comprometimento da barreira hematoencefálica, um achado que merece investigação mais aprofundada ³².

O estudo documenta uma alta prevalência de síndromes neurológicas a esclarecer, refletindo a complexidade dos mecanismos patogênicos e a necessidade de mais pesquisas ³³. A incidência de Síndrome de Guillain-Barré é notável, sendo significativamente superior a relatada em outros estudos ³⁴, potencialmente ligada a comorbidades como HIV.

A taxa elevada de admissão na UTI e a necessidade de suporte ventilatório refletem a significativa morbidade neurológica da COVID-19 ³⁵. A mortalidade elevada pode resultar da interação complexa entre COVID-19 e comorbidades preexistentes, como HIV/AIDS ³⁶.

Neste estudo, foram observadas diferenças notáveis no perfil líquórico de pacientes com COVID-19 em comparação com aqueles com infecções por herpesvírus. Nos pacientes com COVID-19, os parâmetros líquóricos, incluindo celularidade (<5 células/mm³), proteinorraquia (45,5 mg/dL)

e glicorraquia (62,5 mg/dL), permaneceram em grande parte normais, o que está de acordo com estudos prévios indicando que o SARS-CoV-2 pode não causar alterações significativas no LCR ^{37,38}.

Em contraste, pacientes com infecções por herpesvírus exibiram alterações pronunciadas, como pleocitose de 166 células/mm³ e proteinorraquia elevada de 104 mg/dL, refletindo a intensa resposta inflamatória característica dessas infecções. Além disso, a análise dos dados revelou uma diferença de gênero nas manifestações da COVID-19, com maior gravidade entre homens ³⁹, e uma correlação entre a proteinorraquia elevada e o comprometimento da barreira hematoencefálica nos casos mais graves ($p=0,0044$) ⁴⁰.

O estudo indica que, apesar da ausência de RNA viral no LCR, estratégias focadas na modulação imunológica podem ser mais eficazes, ressaltando a necessidade de um monitoramento cuidadoso dos parâmetros líquóricos para o manejo clínico adequado ^{41,42}. A manutenção de níveis normais de glicose no LCR, mesmo em casos graves, sugere que o SARS-CoV-2 pode não afetar significativamente o metabolismo da glicose no SNC, em linha com infecções neurológicas diferenciadas ⁴³.

Esses achados têm implicações importantes para o diagnóstico e tratamento de complicações neurológicas em COVID-19, destacando a necessidade de investigações futuras sobre os mecanismos patológicos subjacentes e seu impacto no prognóstico dos pacientes ^{31,44}.

A análise de biomarcadores revelou elevações significativas nos níveis de neurofilamento de cadeia leve (NfL) nos grupos com COVID-19 e infecções por herpesvírus (HHV) em comparação com o controle, indicando danos axonais significativos e sugerindo um potencial processo de degeneração neuronal ^{45,46}. A neoptertina, um marcador de ativação celular e inflamatória, mostrou-se elevada tanto em infecções por COVID-19 quanto por herpesvírus, ressaltando uma resposta imunológica robusta no SNC (^{47,48}).

A proteína T-tau, envolvida na estabilização dos microtúbulos neuronais, apresentou níveis elevados nos grupos COVID-19 grave, sugerindo que o grau de lesão neuronal pode estar correlacionado com a gravidade da doença ⁴⁹. A quantificação concomitante de T-tau e NfL pode ser útil para determinar a extensão do dano neuronal em pacientes com encefalopatias associadas à COVID-19 e outras infecções virais ⁵⁰.

Os biomarcadores estudados oferecem um potencial significativo para o diagnóstico e prognóstico de infecções virais no SNC, mas desafios metodológicos permanecem, incluindo a padronização dos valores de referência e a validação em estudos longitudinais mais amplos (MATTSSON et al., 2016). Estudos longitudinais com amostras maiores são necessários para confirmar a reprodutibilidade e o valor prognóstico desses marcadores em diferentes cenários (SRIWASTAVA et al., 2021).

Este estudo destaca a necessidade de estratégias adaptativas de saúde pública para enfrentar as particularidades das neuroinfecções em regiões tropicais. A integração de dados clínicos e

laboratoriais potenciais pode conduzir a uma melhor compreensão da patogênese e do manejo clínico das infecções virais no sistema nervoso central, especialmente em contextos de comorbidades como HIV/AIDS (CAROD ARTAL, 2020; ELLUL et al., 2020).

As limitações incluem tamanho amostral pequeno e prevalência de HIV/AIDS, restringindo a generalização dos resultados. Estudos longitudinais são essenciais para avaliar desfechos a longo prazo e interações entre COVID-19 e HIV/AIDS. A ausência de RNA viral no LCR e alterações líquóricas moderadas sugerem que estratégias terapêuticas focadas na modulação imunológica podem ser mais adequadas do que antivirais diretos (CAROD ARTAL, 2021). Monitoramento de parâmetros líquóricos pode auxiliar na estratificação de risco e manejo clínico, especialmente em pacientes com comorbidades (HAKI et al., 2021).

Este estudo contribui significativamente para a compreensão das neuroinfecções virais na região amazônica, com foco no impacto neurológico da COVID-19 em populações com alta prevalência de HIV/AIDS. A análise multidisciplinar do líquido cefalorraquidiano (LCR) e de biomarcadores demonstrou que os danos neuronais estão mais associados a respostas imunológicas exacerbadas do que à presença direta do vírus no sistema nervoso central, sugerindo que o manejo clínico deve priorizar a modulação imunológica, especialmente em casos de co-infecção com HIV que intensificam a resposta inflamatória. As diferenças entre as manifestações neurológicas da COVID-19 e as infecções por herpesvírus, que geram respostas mais intensas no LCR, destacam a necessidade de abordagens terapêuticas direcionadas. Estudos adicionais são essenciais para explorar os mecanismos pelos quais o SARS-CoV-2 afeta o sistema nervoso central e para avaliar o impacto dessas descobertas em ambientes epidemiologicamente complexos como a Amazônia.

Referências Bibliográficas

1. MS. Situação Epidemiológicas das Meningites no Brasil. Published online September 27, 2022.
2. Carmo EH. Public health emergencies: brief history, concepts, and applications. *Saúde debate*. 2020;44(spe2):9-19. doi:10.1590/0103-11042020e201i
3. Deigendesch N, Stenzel W. Acute and chronic viral infections. In: *Handbook of Clinical Neurology*. Vol 145. Elsevier; 2018:227-243. doi:10.1016/B978-0-12-802395-2.00017-1
4. Carod Artal FJ. Complicaciones neurológicas por coronavirus y COVID-19. *RevNeurol*. 2020;70(09):311. doi:10.33588/rn.7009.2020179

5. Crunfli F, Carregari VC, Veras FP, et al. Morphological, cellular, and molecular basis of brain infection in COVID-19 patients. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2022;119(35):e2200960119. doi:10.1073/pnas.2200960119
6. De Melo SA, Pinto SD, Ferreira EDS, et al. Molecular diagnosis of opportunistic infections in the central nervous system of HIV-infected adults in Manaus, Amazonas. *Front Med*. 2024;10:1298435. doi:10.3389/fmed.2023.1298435
7. Marinho EPM, Ferreira EDS, Barrionuevo CCLB, et al. Pediatric central nervous system infections in the Amazon: clinical and laboratory profiles. *Front Public Health*. 2023;11:1329091. doi:10.3389/fpubh.2023.1329091
8. Lahiri D, Ardila A. COVID-19 Pandemic: A Neurological Perspective. *Cureus*. Published online April 29, 2020. doi:10.7759/cureus.7889
9. Tsivgoulis G, Palaiodimou L, Katsanos AH, et al. Neurological manifestations and implications of COVID-19 pandemic. *Ther Adv Neurol Disord*. 2020;13:1756286420932036. doi:10.1177/1756286420932036
10. Figueiredo RMPD, Souza VCD, Nascimento VAD, Naveca FG. Human parvovirus B19 genotype 1 in suspected dengue patients of Tefé, Amazonas State, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2019;52:e20190304. doi:10.1590/0037-8682-0304-2019
11. Siddiqi OK, Ghebremichael M, Dang X, et al. Molecular Diagnosis of Central Nervous System Opportunistic Infections in HIV-Infected Zambian Adults. *Clinical Infectious Diseases*. 2014;58(12):1771-1777. doi:10.1093/cid/ciu191
12. Weidmann M, Armbruster K, Hufert FT. Challenges in designing a Taqman-based multiplex assay for the simultaneous detection of herpes simplex virus types 1 and 2 and Varicella-zoster virus. *Journal of Clinical Virology*. 2008;42(4):326-334. doi:10.1016/j.jcv.2008.03.005
13. Johnson BW, Russell BJ, Lanciotti RS. Serotype-Specific Detection of Dengue Viruses in a Fourplex Real-Time Reverse Transcriptase PCR Assay. *J Clin Microbiol*. 2005;43(10):4977-4983. doi:10.1128/JCM.43.10.4977-4983.2005
14. Lanciotti RS, Kerst AJ, Nasci RS, et al. Rapid Detection of West Nile Virus from Human Clinical Specimens, Field-Collected Mosquitoes, and Avian Samples by a TaqMan Reverse Transcriptase-PCR Assay. *J Clin Microbiol*. 2000;38(11):4066-4071. doi:10.1128/JCM.38.11.4066-4071.2000

15. Lanciotti RS, Kosoy OL, Laven JJ, et al. Chikungunya Virus in US Travelers Returning from India. *Emerg Infect Dis.* 2007;13(5):764-767. doi:10.3201/eid1305.070015
16. Lanciotti RS, Kosoy OL, Laven JJ, et al. Genetic and Serologic Properties of Zika Virus Associated with an Epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. *Emerg Infect Dis.* 2008;14(8):1232-1239. doi:10.3201/eid1408.080287
17. Toppinen M, Norja P, Aaltonen LM, et al. A new quantitative PCR for human parvovirus B19 genotypes. *Journal of Virological Methods.* 2015;218:40-45. doi:10.1016/j.jviromet.2015.03.006
18. WHO. Clinical management of COVID-19. Published online 2020.
19. Dale RC, Thomas T, Patel S, et al. CSF neopterin and quinolinic acid are biomarkers of neuroinflammation and neurotoxicity in FIRES and other infection-triggered encephalopathy syndromes. *Ann Clin Transl Neurol.* 2023;10(8):1417-1432. doi:10.1002/acn3.51832
20. Sriwastava S, Tandon M, Podury S, et al. COVID-19 and neuroinflammation: a literature review of relevant neuroimaging and CSF markers in central nervous system inflammatory disorders from SARS-COV2. *J Neurol.* 2021;268(12):4448-4478. doi:10.1007/s00415-021-10611-9
21. Yan J, Kothur K, Mohammad S, et al. CSF neopterin, quinolinic acid and kynurenine/tryptophan ratio are biomarkers of active neuroinflammation. *eBioMedicine.* 2023;91. doi:10.1016/j.ebiom.2023.104589
22. Mourão MPG, Bastos MDS, Figueiredo RMPD, et al. Arboviral diseases in the Western Brazilian Amazon: a perspective and analysis from a tertiary health & research center in Manaus, State of Amazonas. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2015;48(suppl 1):20-26. doi:10.1590/0037-8682-0133-2013
23. Bastos MDS, Figueiredo LTM, Naveca FG, et al. Identification of Oropouche Orthobunyavirus in the Cerebrospinal Fluid of Three Patients in the Amazonas, Brazil. *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene.* 2012;86(4):732-735. doi:10.4269/ajtmh.2012.11-0485
24. Barrionuevo CCLB, Baptista PPA, Da Silva EF, et al. Unveiling the Impact of Human Herpesviruses-Associated on CNS Infections: An Observational Study. *Viruses.* 2024;16(9):1437. doi:10.3390/v16091437

25. Carneiro VCDS, Alves-Leon SV, Sarmiento DJDS, et al. Herpesvirus and neurological manifestations in patients with severe coronavirus disease. *Virol J*. 2022;19(1):101. doi:10.1186/s12985-022-01828-9
26. Costa BKD, Sato DK. Viral encephalitis: a practical review on diagnostic approach and treatment. *Jornal de Pediatria*. 2020;96:12-19. doi:10.1016/j.jped.2019.07.006
27. Tyler K. Herpes simplex virus infections of the central nervous system: encephalitis and meningitis, including Mollaret's. *Herpes: the journal of the IHMF*. 2004;11 Suppl 2:57A-64A.
28. Berger JR. Progressive multifocal leukoencephalopathy. In: *Handbook of Clinical Neurology*. Vol 123. Elsevier; 2014:357-376. doi:10.1016/B978-0-444-53488-0.00017-1
29. Cortese I, Reich DS, Nath A. Progressive multifocal leukoencephalopathy and the spectrum of JC virus-related disease. *Nat Rev Neurol*. 2021;17(1):37-51. doi:10.1038/s41582-020-00427-y
30. Dai X, Cao X, Jiang Q, et al. Neurological complications of COVID-19. *QJM: An International Journal of Medicine*. 2023;116(3):161-180. doi:10.1093/qjmed/hcac272
31. Ellul MA, Benjamin L, Singh B, et al. Neurological associations of COVID-19. *The Lancet Neurology*. 2020;19(9):767-783. doi:10.1016/S1474-4422(20)30221-0
32. Domingues RB, Leite FBVDM, Senne C. Cerebrospinal fluid analysis in patients with COVID-19-associated central nervous system manifestations: a systematic review. *Arq Neuro-Psiquiatr*. 2022;80(3):296-305. doi:10.1590/0004-282x-anp-2021-0117
33. Shehata GA, Lord KC, Grudzinski MC, Elsayed M, Abdelnaby R, Elshabrawy HA. Neurological Complications of COVID-19: Underlying Mechanisms and Management. *IJMS*. 2021;22(8):4081. doi:10.3390/ijms22084081
34. Toscano G, Palmerini F, Ravaglia S, et al. Guillain–Barré Syndrome Associated with SARS-CoV-2. *N Engl J Med*. 2020;382(26):2574-2576. doi:10.1056/NEJMc2009191

35. Ishiyama H, Ishii J, Yoshimura H, et al. Neurological Manifestations and Long-term Sequelae in Hospitalized Patients with COVID-19. *Intern Med.* 2021;60(22):3559-3567. doi:10.2169/internalmedicine.7802-21
36. Aslam J, Luqman S, Nazly S, et al. Predictors of fatal neurological complications among admitted COVID-19 patients with their implication in outcome: A Case Control study. Bandyopadhyay S, ed. *PLoS ONE.* 2022;17(9):e0274485. doi:10.1371/journal.pone.0274485
37. Benameur K, Agarwal A, Auld SC, et al. Encephalopathy and Encephalitis Associated with Cerebrospinal Fluid Cytokine Alterations and Coronavirus Disease, Atlanta, Georgia, USA, 2020. *Emerg Infect Dis.* 2020;26(9):2016-2021. doi:10.3201/eid2609.202122
38. Olie SE, Staal SL, Ter Horst L, et al. Diagnostic accuracy of inflammatory markers in adults with suspected central nervous system infections. *Journal of Infection.* 2024;88(3):106117. doi:10.1016/j.jinf.2024.01.016
39. Chou SHY, Beghi E, Helbok R, et al. Global Incidence of Neurological Manifestations Among Patients Hospitalized With COVID-19—A Report for the GCS-NeuroCOVID Consortium and the ENERGY Consortium. *JAMA Netw Open.* 2021;4(5):e2112131. doi:10.1001/jamanetworkopen.2021.12131
40. Dyckhoff-Shen S, Bewersdorf JP, Teske NC, et al. Characterization and diagnosis spectrum of patients with cerebrospinal fluid pleocytosis. *Infection.* 2024;52(1):219-229. doi:10.1007/s15010-023-02087-8
41. Carod Artal FJ. Síndrome post-COVID-19: epidemiología, criterios diagnósticos y mecanismos patogénicos implicados. *RevNeurol.* 2021;72(11):384. doi:10.33588/rn.7211.2021230
42. Haki C, Demirci H, Ayar Y, Demir C, Caliskan G. Neurological Symptoms and Diagnoses in Patients Hospitalized With COVID-19: Relationships With Mortality. *The Neurologist.* 2021;26(6):237-243. doi:10.1097/NRL.0000000000000379

43. Czarniak N, Kamińska J, Matowicka-Karna J, Koper-Lenkiewicz OM. Cerebrospinal Fluid-Basic Concepts Review. *Biomedicines*. 2023;11(5):1461. doi:10.3390/biomedicines11051461
44. Völk S, Dobler F, Koedel U, et al. Cerebrospinal fluid analysis in emergency patients with suspected infection of the central nervous system. *Euro J of Neurology*. 2023;30(3):702-709. doi:10.1111/ene.15638
45. Edén A, Kanberg N, Gostner J, et al. CSF Biomarkers in Patients With COVID-19 and Neurologic Symptoms: A Case Series. *Neurology*. 2021;96(2). doi:10.1212/WNL.00000000000010977
46. Gaetani L, Blennow K, Calabresi P, Di Filippo M, Parnetti L, Zetterberg H. Neurofilament light chain as a biomarker in neurological disorders. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2019;90(8):870-881. doi:10.1136/jnnp-2018-320106
47. Al-kuraishy HM, Al-Gareeb AI, Alzahrani KJ, Cruz-Martins N, Batiha GES. The potential role of neopterin in Covid-19: a new perspective. *Mol Cell Biochem*. 2021;476(11):4161-4166. doi:10.1007/s11010-021-04232-z
48. Hailemichael W, Kiros M, Akelew Y, Getu S, Andualem H. Neopterin: A Promising Candidate Biomarker for Severe COVID-19. *JIR*. 2021;Volume 14:245-251. doi:10.2147/JIR.S290264
49. Mattsson N, Insel PS, Palmqvist S, et al. Cerebrospinal fluid tau, neurogranin, and neurofilament light in Alzheimer's disease. *EMBO Mol Med*. 2016;8(10):1184-1196. doi:10.15252/emmm.201606540
50. Edén A, Grahn A, Bremell D, et al. Viral Antigen and Inflammatory Biomarkers in Cerebrospinal Fluid in Patients With COVID-19 Infection and Neurologic Symptoms Compared With Control Participants Without Infection or Neurologic Symptoms. *JAMA Netw Open*. 2022;5(5):e2213253. doi:10.1001/jamanetworkopen.2022.13253

ANEXOS

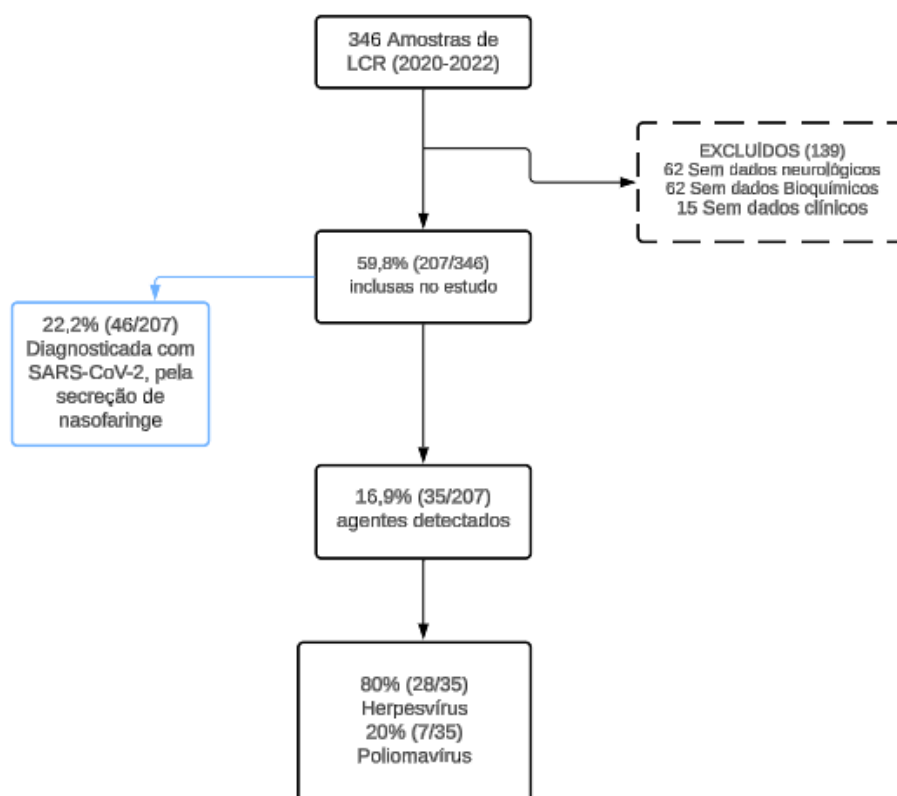
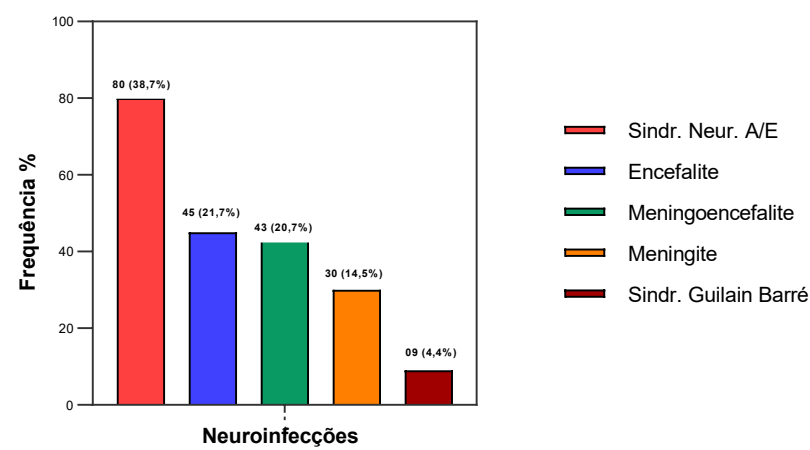
Figura 1. Fluxograma de Inclusão das Amostras

Tabela 1. Dados demográficos, faixa-etária, zona de residência, unidade de atendimento dos pacientes com manifestações neurológicas durante a pandemia de COVID-19, Manaus, Amazonas, Brasil, 2020-2022

Características	Fi (207)	Fr (%)
Sexo		
Feminino	107	51.7
Masculino	99	47.8
Faixa etária (anos)		
	N=207	
< 1	14	6.8
1-4	17	8.2
5-9	9	4.3
10-15	16	7.7
16-25	22	10.6
26-46	77	37.2
47-65	44	21.3
> 66	8	3.9
Zona de Residência		
	N=132	
Norte	37	28.0
Oeste	29	21.9
Leste	20	15.1
Sul	24	18.2
Outros municípios	22	16.6
Origem		
	N=207	
FMT-HVD	89	43.2
Outros Serviços de Saúde	118	56.8
Desfecho		
Óbito	17	8.2
Sem óbito	181	87.4

Fonte: Elaborado pela autora (2024). **fi**: frequência absoluta simples; **fr**: frequência relativa.

Gráfico 1. Distribuição das Neuroinfecções Gerais dos Pacientes atendidos durante a pandemia de COVID-19, Manaus, Amazonas, Brasil, 2020-2022



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Tabela 2. Distribuição dos agentes detectados em pacientes com manifestação neurológica, atendidos durante a pandemia de COVID-19, Manaus, Amazonas, Brasil, 2020-2022

Agentes detectados	N	Frequência Relativa (%)
Citomegalovírus (CMV)	8	22.9
John Cunningham (JCV)	6	17.1
Herpes Simplex – 1 (HSV-1)	5	14.3
Herpes Simplex -2 (HSV-2)	5	14.3
Epstein- Barr Vírus (EBV)	3	8.6
Varicela – Zóster Vírus (VZV)	3	8.6
Co-infecções	5	%
VZV/EBV	4	11.4
JCV/BKV	1	2.9
Total	35	--

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Tabela 3. Frequência absoluta e relativa dos sintomas clínicos e neurológicos dos pacientes com herpesvírus e poliomavírus, detectados durante a pandemia de COVID-19, Manaus, Amazonas, Brasil, 2020-2022

Sintomas Clínicos*	Herpesvirus_Fi_Fr	Poliomavirus_Fi_Fr	p-valor
Febre	17 (60.7)	4 (57.1)	1
Vômito	11 (39.3)	3 (42.9)	1
Dispneia	6 (21.4)	4 (57.1)	0,160
Astenia	5 (17.9)	4 (57.1)	0,100
Tosse	4 (14.3)	3 (42.9)	0.245
Diarreia	5 (17.9)	2 (28.6)	0.915
Náuseas	6 (21.4)	1 (14.3)	1
Exantema	1 (3.6)	0	1
Fadiga	1(3.6)	0	1
Hipotensão	1 (3.6)	0	1
Manifestações Neurológicas*			
Cefaleia	17 (60.7)	2 (28.6)	0,270
Alteração estado de alerta	17 (60.7)	2 (28.6)	0,270
Confusão mental	14 (50.0)	1 (14.3)	0,200
Agitação	5 (17.9)	1 (14.3)	1
Crise convulsiva	5 (17.9)	2 (28.6)	0,915
Paresia	5 (17.9)	2 (28.6)	0,915
Rigidez de nuca	5 (17.9)	0	0,545
Distúrbio do movimento	3 (10.7)	1 (14.3)	1
Perda de memória	3 (10.7)	0	0,880
Sonolência	3 (10.7)	2 (28.6)	1
Afasia	2 (7.1)	2 (28.6)	0,352
Déficit neurológico	2 (7.1)	0	1
Disartria	2 (7.1)	2 (28.6)	0,352
Fotofobia	2 (7.1)	1 (14.3)	1
Mialgia	1 (3.6)	1 (14.3)	0,855
Parestesia	0	2 (28.6)	0,045

Fonte: Elaborado pela autora (2024). **fi**: frequência absoluta simples; **fr**: frequência relativa. * sujeitos a variação nas frequências absoluta e relativa devido o mesmo paciente apresentar mais de um sinal e sintoma clínico. P-valor (0,05).

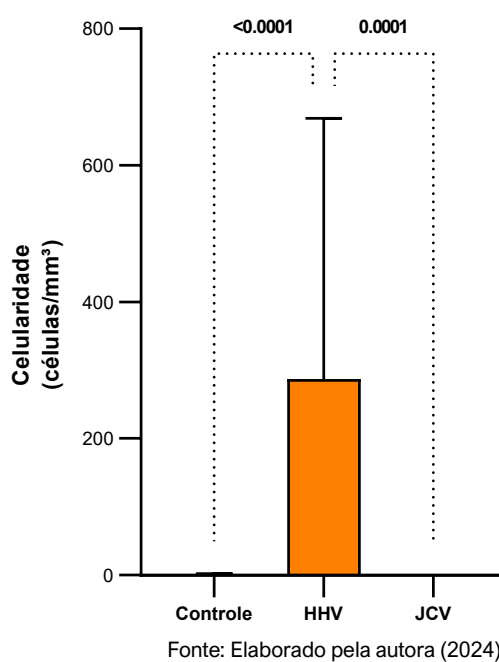
Tabela 4. Frequência absoluta e relativa das características demográficas, comorbidades e desfechos de 46 pacientes com COVID-19, Manaus, Amazonas, Brasil, 2020-2022

Características	<i>Fi</i> (46)	<i>Fr</i> (%)
Sexo		
Feminino	25	54.3
Masculino	21	45.7
Faixa etária (anos)		
< 1	1	2.20
1-4	3	6.50
5-9	1	2.20
10-15	4	8.70
16-25	4	8.70
26-46	19	41.3
47-65	13	28.3
> 66	1	2.20
Zona de Residência		
Oeste	10	31.2
Norte	8	25.0
Sul	7	21.9
Leste	3	9.40
Outros municípios	4	12.5
Origem		
FMT-HVD	15	33.3
Outros Serviços de Saúde	30	66.7
Comorbidades		
HIV/AIDS	14	30.4
ITU	10	21.7
IOT	09	90
VM	01	10
Permanência de hospitalização em dias (<i>M_d</i>) e Desvio padrão	17 [5-140.]	_____
Desfecho		
Óbito	9	19.7
Sem óbito	37	80.3

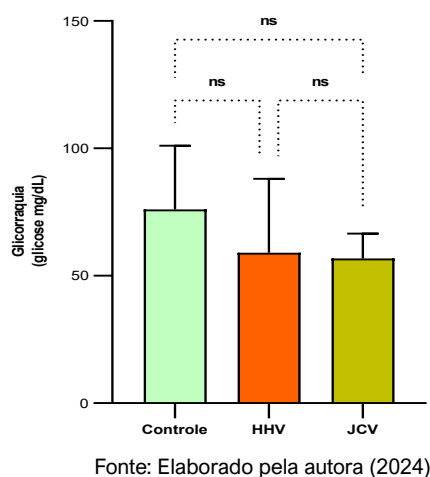
Fonte: Elaborado pela autora (2024). ***fi***: frequência absoluta simples; ***fr***: frequência relativa

Gráfico 2- A, B, C. Comparações entre celularidade, glicorraquia e proteinorraquia do liquor dos pacientes com herpesvírus e poliomavírus atendidos durante a pandemia de COVID-19, Manaus, Amazonas, Brasil, 2020-2022

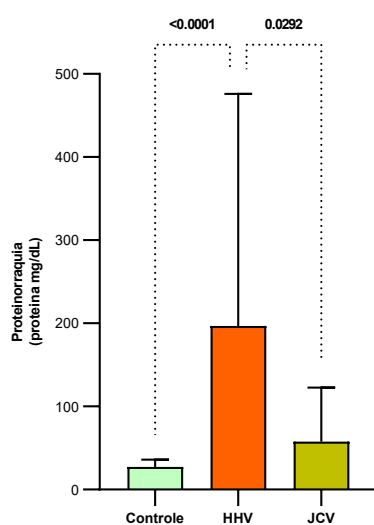
2A: Comparação do número de células entre os herpesvírus e poliomavírus



2B: Comparação dos Níveis de glicorraquia entre os herpesvírus e poliomavírus



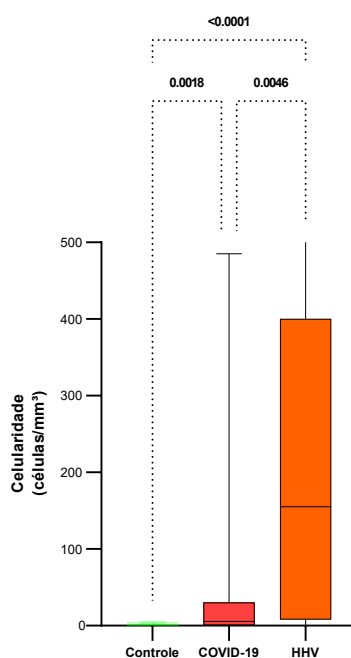
2C: Comparação dos níveis de proteinorraquia entre os herpesvírus e poliomavírus



Fonte: Elaborado pela autora (2024)

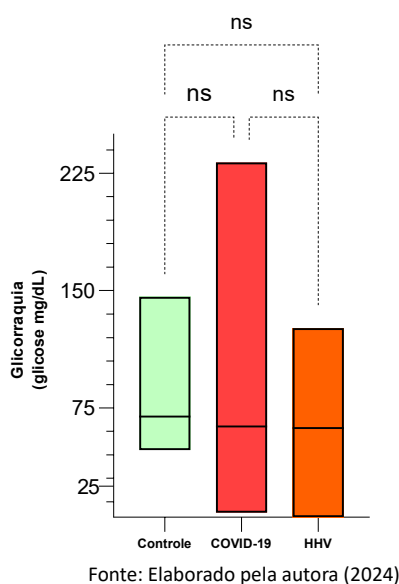
Gráfico 3- A, B, C. Comparação da Concentração do Perfil Bioquímico e Celular do LCR dos pacientes com COVID-19, grupo herpesvírus (HHV) e grupo controle.

3A: Comparação do número de células entre os grupos COVID-19, HHV e Controle



Fonte: Elabora pela autora (2024)

3B: Comparação dos níveis de glicorraquia entre os grupos COVID-19, HHV e Controle



3C: Comparação dos Níveis de Proteinorraquia entre os grupos COVID-19, HHV e controle

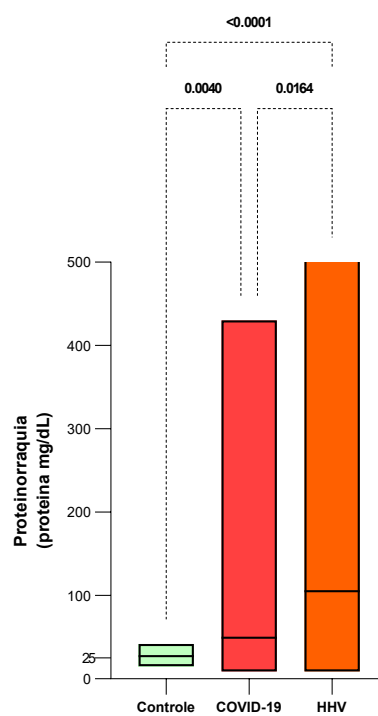
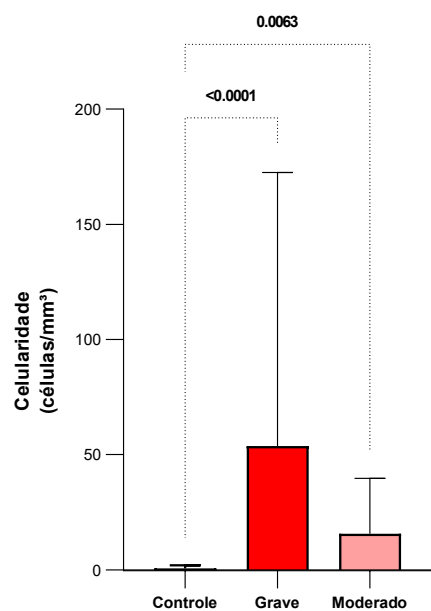
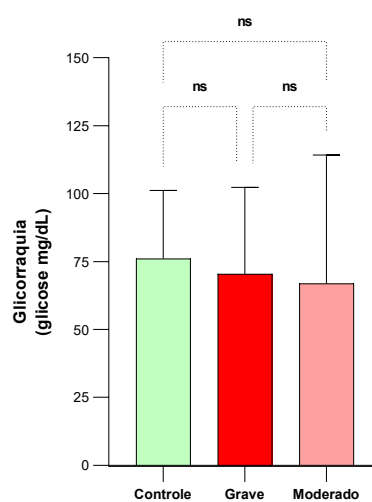


Gráfico 4 A, B, C. Comparação da Concentração do Perfil Bioquímico e Celular no LCR de pacientes com COVID-19 grave e COVID-19 moderado

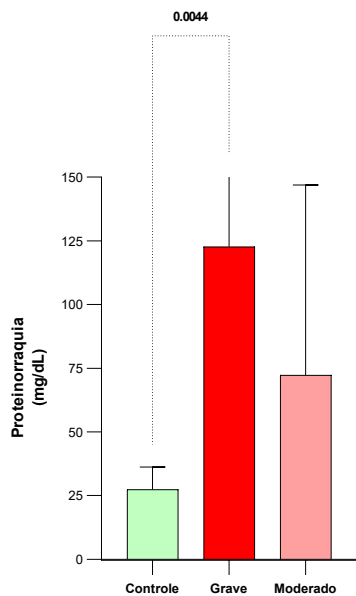
4-A: Comparação de celularidade entre os grupos COVID-19 grave e moderado

Fonte: Elaborado pela autora (2024)

4B: Comparação dos níveis de glicorraquia entre os grupos COVID-19 grave e moderado

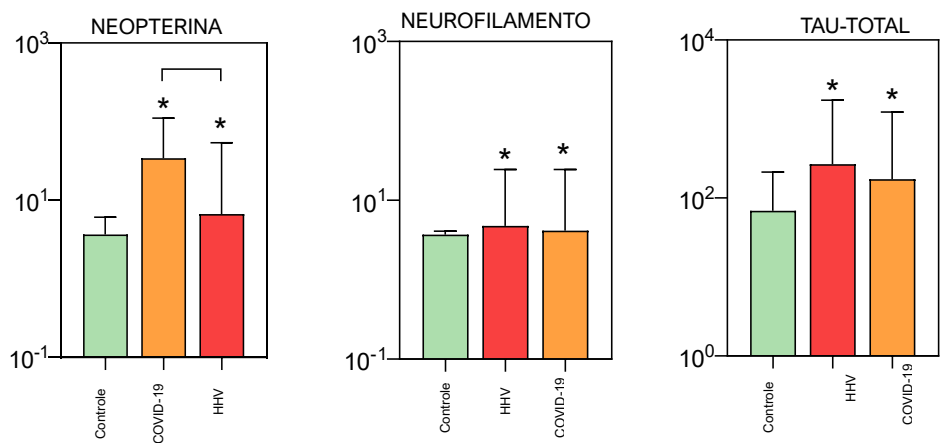
Fonte: Elaborado pela autora (2024)

4C: Comparação dos níveis de Proteinorraquia entre os grupos COVID-19 grave e moderado



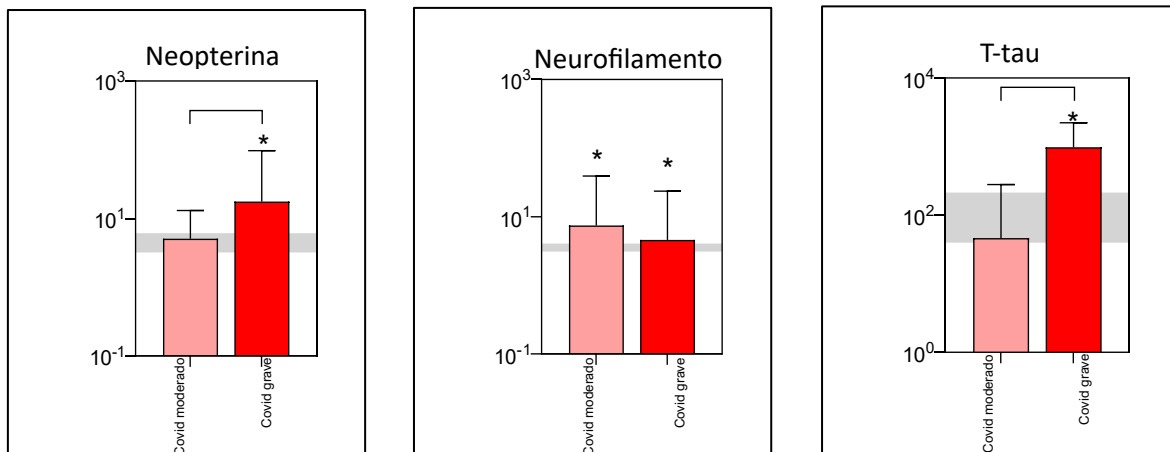
Fonte: Elaborado pela autora (2024)

Gráfico 5. Análise comparativa do perfil de biomarcadores inflamatório entre os grupos Covid-19, grupo HHV e grupo controle.



*Com relação ao grupo controle, " Com relação ao grupo covid-19 e grupo HHV

Gráfico 6: Análises comparativa do perfil de biomarcadores inflamatórios no grupo COVID-19 grave, COVID-19 moderado e grupo controle não inflamatório.



*Com níveis alterados, Covid grave em relação a Covid moderada, Grupo controle