



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS – UFAM
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCIS
MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE



**ANÁLISE DO LÍQUIDO CEFALORRAQUIDIANO NAS MANIFESTAÇÕES
NEUROLÓGICAS DE PACIENTES ADULTOS INFECTADOS PELO HIV**

SABRINA ARAÚJO DE MELO

MANAUS-AM
2022

SABRINA ARAÚJO DE MELO

**ANÁLISE DO LÍQUIDO CEFALORRAQUIDIANO NAS MANIFESTAÇÕES
NEUROLÓGICAS DE PACIENTES ADULTOS INFECTADOS PELO HIV**

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.

Orientadora: Dra. Michele de Souza Bastos Barrionuevo
Coorientadora: Dra. Taynná Vernalha Rocha Almeida

MANAUS-AM
2022

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

M528a Melo, Sabrina Araújo de
Análise do líquido cefalorraquidiano nas manifestações
neuroológicas de pacientes adultos infectados pelo HIV / Sabrina
Araújo de Melo . 2022
121 f.: il.; 31 cm.

Orientadora: Michele de Souza Bastos Barrionuevo
Coorientadora: Taynná Vernalha Rocha Almeida
Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade
Federal do Amazonas.

1. hiv/aids. 2. Manifestações neuroológicas. 3. Infecções
oportunistas . 4. Líquido cefalorraquidiano. I. Barrionuevo, Michele
de Souza Bastos. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho aos meus pais, **Rildo Melo** e **Luzia Araújo** por sempre acreditarem em mim e apoiarem a realização desse sonho. A minha irmã **Lohanna Melo** e meu namorado **Mauricio Duarte** pelo apoio incondicional em todos os momentos dessa caminhada. Dedico também a todas as pessoas que vivem com HIV/AIDS.*

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida, proteção, ensinamentos e sabedoria no decorrer desse caminho.

Aos meus pais, Rildo Melo e Luzia Araújo que nunca mediram esforços para me ajudar a conquistar tudo o que já conquistei. Por sempre me fazerem acreditar que é possível alcançar um sonho mesmo diante de tantas dificuldades, por me mostrarem que a educação é o melhor caminho e, acima de tudo, por me apoiarem e amarem incondicionalmente. Amo vocês!

A minha amada irmã, Lohanna Melo, que nos momentos mais difíceis esteve sempre ao meu lado me dando forças e apoio emocional. Por todas às vezes que me abraçou quando chorei e quis desistir, por todas as palavras que me fortaleceram, pela companhia diária e paciência. Amo-te, irmã! Ao meu cunhado, Gustavo Correia por todo apoio e incentivo.

Ao meu companheiro de vida, Mauricio Duarte, por todo apoio e compreensão em todos os momentos dessa caminhada. Por ser paciente e me fortalecer diariamente com palavras de incentivo e por todo amor e carinho. Amo você!

Aos meus amigos, Luiz Carlos Marques, Márcia Lorena Silva, Eveny Marinho, Sérgio Pinto e Ewerton Ferreira pela amizade, por todo o apoio e companheirismo.

A minha querida orientadora. Dra. Michele Bastos, por me acolher, orientar e confiar no meu trabalho. Pelos ensinamentos científicos transmitidos e por todas as conversas e conselhos que mudaram minha forma de enxergar o mundo e contribuíram para o meu crescimento profissional e pessoal.

A minha querida coorientadora. Dra. Taynná Vernalha, pela orientação e apoio. Por sempre acreditar no meu potencial e me incentivar a ir além.

A Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD), em especial a Gerência de Bacteriologia e LENRESB por toda a estrutura disponibilizada para realização deste trabalho. A querida Dra. Rossicléia Lins, pelo acolhimento e ensinamentos.

A Gerência de Carga Viral da FMT/HVD, em especial a Dra. Yonne Francis e Reinan Brotas pela parceria. Vocês foram essenciais.

Aos colegas e funcionários da Bacteriologia pela companhia e bons momentos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Amazonas (PPGCIS/UFAM) e POSGRAD.

Ao Programa Nacional de Cooperação Acadêmica na Amazônia (PROCAD/CAPES). Em especial ao Dr. Luiz Ferreira de Lima e Dra. Monique Freire por todo apoio financeiro.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM) pelo fomento da bolsa.

A todos, minha eterna gratidão!

EPÍGRAFE

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis”.

(José de Alencar)

RESUMO

As infecções oportunistas são as principais causas de morbimortalidade em PVHA quando comparado a outras causas como o câncer. Pessoas com HIV/AIDS que não são adequadamente tratadas com terapia antirretroviral desenvolvem distúrbios neurológicos associados ao HIV. Entre 40% e 70% dos pacientes com AIDS sofrem de complicações neurológicas, que têm um impacto significativo na capacidade funcional e na qualidade de vida. O sistema nervoso central é um dos principais alvos da replicação do HIV, e o segundo local mais comum onde se observam manifestações clínicas graves. O objetivo do estudo foi examinar o líquido cefalorraquidiano de pacientes com HIV com manifestações neurológicas em um hospital de referência em doenças infecciosas da cidade de Manaus, Amazonas. Trata-se de um estudo descritivo, observacional, retrospectivo, que investigou o líquido cefalorraquidiano de pacientes maiores de 18 anos que evoluíram com manifestações neurológicas. O diagnóstico molecular foi utilizado para a detecção de vírus da família *Herpesviridae*, vírus JC, vírus BK, *Toxoplasma gondii*, HTLV-1 e HTLV-2 e HIV. Noventa (36,7%) das 245 amostras de líquido cefalorraquidiano de pacientes com manifestações neurológicas de PVHA continham patógenos, entre eles *Cryptococcus sp.* (7,7%), EBV (5,3%), CMV, VZV e JCV (4,0% cada). HSV-1 e *Mycobacterium tuberculosis* foram encontrados em (0,8%) das amostras, HSV-2 e BKV em (0,4%) amostras. Sete pacientes (18,5%) apresentaram coinfeção com dois patógenos. O DNA de *T. gondii* foi confirmado em 22 (30,5%) amostras, sendo o patógeno mais frequentemente detectado. O RNA do HIV foi detectado em 68,8% (93/135) das amostras de líquido cefalorraquidiano. A presença de patógenos oportunistas foi detectada em 36,7% das amostras de pessoas com manifestações neurológicas infectadas pelo HIV. *T. gondii* é o agente oportunista mais comum entre os patógenos detectados, e os herpesvírus são importantes causas de alterações no perfil do LCR nesses pacientes. Existe uma baixa correlação positiva entre o nível de RNA do HIV no LCR e o plasma no grupo de pacientes do estudo. Apesar do uso da terapia antirretroviral, infecções oportunistas do sistema nervoso central ainda são comuns nessa população.

Palavras chaves: HIV/AIDS; manifestações neurológicas; infecções oportunistas; líquido cefalorraquidiano.

ABSTRACT

When compared to other causes of morbidity and mortality, such as cancer, opportunistic infections are the main causes of morbidity and mortality in people with HIV. People with HIV/AIDS who are not adequately treated with antiretroviral therapy develop neurological disorders associated with HIV. Between 40% and 70% of AIDS patients suffer from neurological complications, which have a significant impact on functional capacity and quality of life. The central nervous system is one of the main targets of HIV replication, and the second most common site where severe clinical manifestations are observed. The study's aim was to examine the cerebrospinal fluid of HIV patients with neurological manifestations at a reference hospital in infectious diseases in the city of Manaus, Amazonas. This is a descriptive, observational, retrospective study that investigated the cerebrospinal fluid of 18-year-old patients who evolved with neurological manifestations. Molecular diagnosis was used for the detection of viruses from the family *Herpesviridae*, JC virus, BK virus, *Toxoplasma gondii*, HTLV-1 and HTLV-2, and HIV. Ninety (36.7%) of the 245 cerebrospinal fluid samples from patients with neurological manifestations of PLWHA were found to contain pathogens, among them *Cryptococcus sp.* (7.7%), EBV (5.3%), CMV, VZV and JCV (4.0% each). HSV-1 and *Mycobacterium tuberculosis* were found in (0.8%) of samples, HSV-2 and BKV in (0.4%) samples. Seven patients (18.5%) had coinfection with two pathogens. *T. gondii* DNA was confirmed in 22 (30.5%) samples, being the most frequently detected pathogen. HIV RNA was detected in 68.8% (93/135) of the cerebrospinal fluid samples. The presence of opportunistic pathogens was detected in 36.7% of samples from people with neurological manifestations who are infected with HIV. *T. gondii* is the most common opportunistic agent among pathogens detected in these patients, and herpesviruses are important causes of changes in the CSF profile in these patients. There is a low positive correlation between the level of HIV RNA in CSF and plasma in our study group of patients. Despite the use of antiretroviral therapy, opportunistic central nervous system infections are still common in this population.

Keywords: HIV/AIDS; neurological manifestations; opportunistic infections; cerebrospinal fluid.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01: Esquema estrutural das meninges cerebrais (Adaptado de BioRender).....	20
Figura 02: Esquema da estrutura da Barreira hematoencefálica (Adaptado de BioRender).....	22
Figura 03: Esquema do genoma e estrutura do HIV (Adaptado de BioRender).....	26
Figura 04: Detecção de casos de AIDS (por 100.000 habitantes), por região e ano de diagnóstico	29
Figura 05: Taxa de mortalidade por AIDS no Amazonas (100/habitantes) no período de 2009 a 2020 (Indicadores e Dados Básicos do HIV/AIDS nos Municípios Brasileiros/ Ministério da Saúde.....	30
Figura 06: Estrutura da partícula viral dos Herpesvirus.....	34
Figura 07: Distribuição mundial da infecção por <i>T. gondii</i> em pessoas infectadas pelo HIV (Adaptado de WANG et al., 2017)	39
Figura 08: Correlação entre as cargas virais plasmática e líquórica das PVHA com RNA do HIV detectado no LCR.....	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Classificação dos vírus da família <i>Herpesviridae</i> de acordo com o ICTV.....	49
Tabela 2: Sequência de oligonucleotídeos para HTLV 1/2 utilizados qPCR.....	65
Tabela 3: Sequência de oligonucleotídeos para <i>T. gondii</i> utilizados qPCR.....	65
Tabela 4: Frequência absoluta e relativa das características sociodemográficas e clínicas das PVHA com suspeita de infecção no SNC e manifestações neurológicas atendidas na Fundação de Medicina Tropical no período de janeiro de 2015 a dezembro de 2021.....	68
Tabela 5: Frequência absoluta e relativa dos patógenos detectados em 245 amostras de LCR de PVHA com suspeita de infecção no SNC e manifestações neurológicas atendidas na Fundação de Medicina Tropical no período de janeiro de 2015 a dezembro de 2021.....	69
Tabela 6: Frequência absoluta e relativa das características sociodemográficas e clínicas dos pacientes com patógenos detectados no LCR de acordo com a família viral atendidos na Fundação de Medicina Tropical no período de janeiro de 2015 a dezembro de 2021.....	70
Tabela 7: Frequência absoluta e relativa das características sociodemográficas e clínicas dos pacientes com HIV detectado no LCR atendidos na Fundação de Medicina Tropical no período de janeiro de 2015 a dezembro de 2021.....	71
Tabela 8: Frequência absoluta e relativa da classificação do estágio de infecção pelo HIV para os grupos de vírus detectado.....	73
Tabela 9: Comparação do perfil liquórico entre os grupos de pacientes com agentes virais detectados no LCR atendidos na Fundação de Medicina Tropical no período de janeiro de 2015 a dezembro de 2021.....	73

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- 3TC** – Lamivudina
- AIDS** – Síndrome de Imunodeficiência Adquirida
- ATV** – Atazanavir
- BHE** – Barreira Hematoencefálica
- BHL** – Barreira Hematoliquórica
- BKV** – *Bk Vírus*
- CA** – Capsídeo
- CCR5** – Receptor 5 de quimiocina
- CDC** – *Center for Disease Control and Prevention*
- cDNA** – DNA complementar
- CMV** – *Betaherpesvirus humano 5*
- cPCR** – Reação em Cadeira da Polimerase convencional
- CrAg** – Antígeno criptocócico
- CTA** – Centro de Testagem e Aconselhamento
- CXCR4** – Receptor 4 de quimiocina
- DNA** – Ácido desoxirribonucleico
- DRV** – Darunavir
- ds** – fita dupla
- DTG** – Dolutegravir
- EBV** – *Gammaherpesvirus humano 4*
- EFZ** – Efavirenz
- ELISA** – Ensaio Imunoenzimático
- env** – envelope
- gag** – Antígeno específico de grupo
- gG** – Fusão viral
- gp 120** – Glicoproteína de envelope
- gp 41** – Glicoproteína 41
- HAM** – Mielopatia Associada ao HTLV
- HAND** – Transtorno neurocognitivo associado ao HIV
- HHV 6** – *Betaherpesvirus humano 6*

HHV 7 – *Betaherpesvirus humano 7*
HHV 8 – *Gammaherpesvirus humano 8*
HIV - 1 – Vírus da Imunodeficiência Humana tipo 1
HIV - 2 – Vírus da Imunodeficiência Humana tipo 2
MSM – Homens que fazem sexo com homens
HSV -1 – *Alphaherpesvírus humano 1*
HTLV – Vírus Linfotrópico de Células T Humanas
HVS - 2 – *Alphaherpesvírus humano 2*
ICTV – *International Committee on Taxonomy of Viruses*
IgG – Imunoglobulina G
IgM – Imunoglobulina M
IN – Integrase
IO – Infecção oportunista
JCV – *John Cunningham Vírus*
kb – quilobases
LCR – Líquido cefalorraquidiano
LTR – *Repeat Long Terminal*
MA – Matriz
M_d – Mediana
mRNA – microRNA
NC – Nucleocapsídeo
Nef – Fator regulador negativo
NVU – Unidade Neurovascular
pb – pares de bases
PCR – Reação em Cadeia da Polimerase
pH – Potencial de hidrogênio
pol – polimerase
p24 – proteína de capsídeo
p55 – proteína de membrana periférica
p65 – proteína de fator de transcrição
PR – Protease
PST – Paraparesia Espática Tropical
PVHA – Pessoa Vivendo com HIV/AIDS
qPCR – Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real

REV – Reguladora de *splincing* de RNA
RM – Ressonância Magnética
RNA – Ácido ribonucleico
RT – Transcriptase reversa
SGB – Síndrome de Guillain-Barré
SINAN – Sistema de Informação de Agravos de Notificação
SN – Sistema Nervoso
SNC – Sistema Nervoso Central
SNP – Sistema Nervoso Periférico
ns – não significativo
SU – Superfície
TARV – Terapia Antirretroviral
Tat – Proteína transativadora
TC – Tomografia computadorizada
TDF – Dolutegravir
TM – Transmembrana
TRM-TB – Teste Rápido Molecular para tuberculose
UNAIDS – Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/AIDS
Vif – Fator de infecciosidade viral
VZV – *Alphaherpesvírus humano 3*
WB – Western Blot

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	17
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	19
2.1 Sistema Nervoso Central.....	19
2.2 Barreiras Neurais	20
2.2.1 Barreira hematoencefálica	20
2.2.2 Barreira hematoliquórica.....	22
2.3 Doenças Neurológicas	23
2.3.1 Meningite	23
2.3.2 Encefalite.....	23
2.3.3 Mielite	23
2.3.4 Meningoencefalite.....	24
2.4 HIV/Aids	24
2.4.1 Histórico.....	24
2.4.2 HIV – estrutura viral	25
2.4.3 HIV – Infecção nas células humanas	27
2.4.4 Epidemiologia mundial do HIV/Aids	28
2.4.5 Epidemiologia no Brasil.....	28
2.4.6 HIV no Sistema Nervoso Central	30
2.5 Herpesvírus.....	31
2.5.1 Estrutura viral, biologia, patogênese	32
2.5.2 Infecção por Herpesvírus em PVHA.....	34
2.5.3 <i>Alphaherpesvírus humano 1</i> – HSV-1	34
2.5.4 <i>Alphaherpesvírus humano 2</i> – HSV-2.....	35
2.5.5 <i>Alphaherpesvírus humano 3</i> – VZV.....	35
2.5.6 <i>Gammaherpesvirus humano 4</i> – EBV.....	36
2.5.7 <i>Betaherpesvirus humano 5</i> – CMV.....	36
2.6 <i>Toxoplasma gondii</i>	37
2.6.1 Infecção por <i>T. gondii</i> em PVHA.....	38
2.7 Vírus Linfotrópico de Células T Humanas (HTLV-1/2)	39
2.8 Líquido Cefalorraquidiano	41
3. JUSTIFICATIVA.....	43
4. OBJETIVOS.....	44
4.1 Geral	44
4.2 Específicos.....	44
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	45

5.1 Desenho do Estudo.....	45
5.2 Local do Estudo.....	45
5.3 População e período do estudo.....	45
5.4 Critérios de inclusão.....	45
5.5 Amostras do estudo	46
5.6 Coleta de dados.....	46
5.7 Diagnóstico molecular	46
5.7.1 Extração de Ácido nucleico.....	46
5.7.2 Reação em Cadeira da Polimerase convencional (cPCR)	46
5.7.3 Visualização em gel de agarose	47
5.7.4 Detecção de HIV.....	47
5.7.5 Detecção de HTLV-1/2.....	47
5.7.6 Detecção de <i>Toxoplasma gondii</i>	48
5.7.7 <i>Cryptococcus sp.</i> e <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	48
5.8 Análise Estatística.....	49
5.9 Aspectos Éticos.....	49
6. RESULTADOS	50
6.1 Características dos pacientes.....	50
6.2 Patógenos detectados no LCR de PVHA	51
6.3 Carga viral do HIV no LCR	53
6.4 Correlação entre a carga viral do HIV no LCR/Plasma	55
7. DISCUSSÃO.....	57
7.1 Carga viral do HIV no LCR e plasma.....	62
8. CONCLUSÃO	66
9. REFERÊNCIAS	67
10. ANEXOS.....	87
10.1 Protocolo de Extração de DNA/RNA	87
10.2 Protocolo de ELISA	90
10.3 Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP).....	91
11. APÊNDICES	93
11.1 Instrumento de coleta de dados	93
11.2 Cronograma	97
11.3 Equipe executora	98
11.4 Artigo.....	100

1. INTRODUÇÃO

A Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (AIDS) foi relatada pela primeira vez no início da década de 80, quando houve aumento significativo de casos de infecções oportunistas de origem desconhecida que afetavam principalmente homens que fazem sexo com homens (HSH) (MALDONADO et al., 2015). Desde sua descoberta, a AIDS se espalhou pelo mundo tornando-se um dos maiores problemas de saúde das últimas décadas. O Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) é um retrovírus que causa altas taxas de infecção e o desenvolvimento da AIDS. O HIV foi identificado como o agente causador da AIDS em 1983, pertence à família *Retroviridae*, gênero *Lentivirus*, possui relevante variabilidade genética. Dois vírus são conhecidos: HIV-1 e HIV-2 (*International Committee on Taxonomy of Viruses* - ICTV). Ambos os tipos causam a AIDS, sendo o HIV-1 o mais comum (MELHUIJSH; LEWTHWAITE, 2018).

Desde sua descoberta o HIV tornou-se um problema de saúde pública mundial com altas taxas de mortalidade e morbidade devido a imunodepressão causada nos indivíduos e consequente surgimento de infecções oportunistas (IOs) que comprometem o curso natural da doença e a vida (PANG et al., 2018). Dados demonstraram que cerca de 84,2 milhões de indivíduos foram infectados pelo HIV desde o início da epidemia. Atualmente, estima-se que aproximadamente 38,4 milhões de pessoas no mundo vivem com HIV (UNAIDS, 2021). A literatura afirma que a ocorrência de IOs é a principal causa de morbimortalidade em indivíduos infectados pelo HIV quando comparado a outras causas como o câncer (CHAKRABORTY; RAHMAN; SAHA, 2011). Relata ainda que mais da metade das pessoas vivendo com HIV/Aids (PVHA) que não são efetivamente tratados com a Terapia Antirretroviral (TARV) desenvolvem distúrbios neurológicos associados ao HIV, o que por sua vez, proporciona aumento da morbidade, indicando que o comprometimento neurocognitivo e a depressão podem estar associados ao mal prognóstico e a piores taxas de sobrevivência (BRODT et al., 1997; MATINELLA et al., 2015).

A TARV diminuiu significativamente a progressão da infecção e desenvolvimento de doenças, no entanto, manifestações e complicações

neuroológicas permanecem frequentes em PVHA. As complicações neuroológicas ocorrem entre 40% e 70% dos pacientes com AIDS e têm impacto significativo na capacidade funcional e qualidade de vida (CHRISTO, 2010; PARUK; BHIGJEE, 2021). O Sistema Nervoso Central (SNC) é um dos principais alvos de replicação do HIV, e o segundo local mais comum onde se observam manifestações clínicas de maior gravidade. De acordo com a literatura, isso pode ser explicado devido ao HIV ser neurotrópico, e o SNC um santuário para a replicação viral devido à baixa penetração de antirretrovirais. (CHRISTO, 2010).

O desenvolvimento de manifestações neuroológicas em PVHA geralmente é uma característica da existência de condições graves (GUZMÁN-DE-VILLORIA; FERNÁNDEZ-GARCÍA; BORREGO-RUIZ, 2017). Dentre essas condições destacam-se as *síndromes primárias*: polineuropatia e miopatia; *infecções oportunistas*: encefalite por *Toxoplasma gondii* e Citomegalovírus, meningite por *Cryptococcus*, leucoencefalopatia multifocal progressiva e linfoma primário do sistema nervoso central; *condições inflamatórias*: neuropatia desmielinizante adquirida e meningite asséptica; além destas, tem-se TARV (BACELLAR et al., 1994; THAKUR et al., 2019).

A Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD) é um centro de referência para o atendimento de pacientes HIV/Aids no Amazonas. Dessa forma, o estabelecimento de um fluxo para monitoramento das infecções neuroológicas contribuirá com dados importantes sobre a condição neuroológica destes pacientes, assim como a relação das infecções oportunistas (patógenos infecciosos) e a presença do próprio HIV no sistema nervoso (infecção primária) repercutindo positivamente sobre as ações e condutas clínicas. Adicionalmente, o monitoramento da etiologia, da dispersão e do comportamento das doenças neuroológicas nesses pacientes, pode atuar como determinante para o desenvolvimento de políticas regionalizadas para prevenção e controle deste agravo, impactando na melhoria das ações de saúde para esta população afetada, reduzindo a letalidade (curto prazo) e sequelas da doença (médio e longo prazos), diminuindo custos com hospitalização, exames complementares e reabilitação.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Sistema Nervoso Central

O Sistema Nervoso Central (SNC) é um complexo sistema formado pelo encéfalo e medula espinhal, responsável por coordenar diversas funções orgânicas, sensoriais e motoras. É envolvido por três membranas denominadas de meninges, as quais fornecem uma camada protetora para o tecido mole neural e suas adjacências, fixam o parênquima do SNC ao crânio ou à coluna vertebral (BORON, 2015). As meninges são compostas por três camadas, a membrana externa é chamada de dura-máter, que forma um envelope protetor externo em volta do SNC; a intermediária aracnoide é composta por camadas de células ligadas entre si por junções oclusivas; e membrana interna e mais delicada é chamada de pia-máter, fina camada de células do tecido conjuntivo que está situada na superfície do SNC e recobre os vasos sanguíneos. Entre as membranas aracnoide e a pia-máter há o espaço subaracnoideo que é preenchido por um líquido que desempenha diversas funções no SNC (DASGUPTA; JEONG, 2019).

O Líquido cefalorraquidiano (LCR) é um fluido límpido e aquoso. Preenche as cavidades ventriculares do SNC formando uma fina camada externa em volta do encéfalo e da medula espinhal, no espaço subaracnoideo. O LCR é secretado no encéfalo por uma estrutura epitelial altamente vascularizada denominado plexo coroide, ao circular atinge locais no espaço subaracnoideo onde é drenado para o sistema sanguíneo venoso (BORON, 2015). O LCR desempenha diversas funções no SNC, como a manutenção da homeostase metabólica, proteção e regulação da pressão intracraniana, fornecimento de nutrientes, moléculas de sinalização e eliminação de subprodutos tóxicos do cérebro (TUMANI; HUSS; BACHHUBER, 2017).

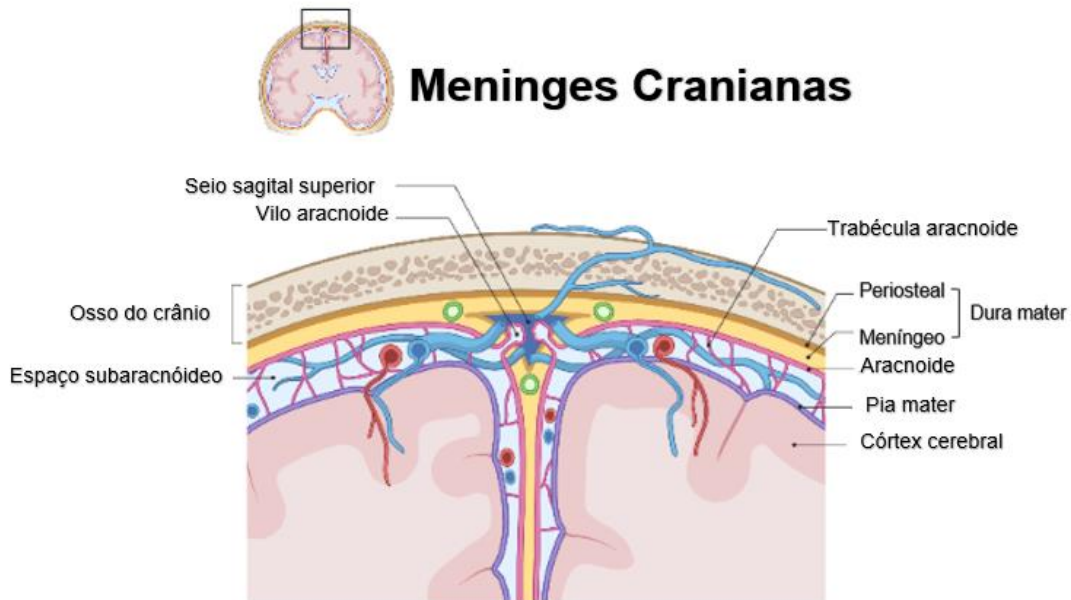


Figura 01: Esquema estrutural das meninges cerebrais.
Fonte: BioRender.com (Adaptado).

2.2 Barreiras Neurais

O SNC é uma estrutura extremamente delicada e sensível a alterações homeostáticas, sendo protegido fisicamente de lesões por estruturas ósseas como vértebras e crânio, e envolto pelas meninges que circundam o LCR. As funções complexas do SNC dependem de diversos mecanismos homeostáticos que regulam a composição iônica do fluido intersticial que envolve os neurônios no parênquima cerebral. Essa regulação homeostática é sustentada por duas barreiras celulares que isolam o SNC da circulação sistêmica, sendo denominadas de Barreira Hematoencefálica (BHE) e Barreira Hematolíquórica (BHL). Essas barreiras por sua vez, protegem o cérebro de alterações na composição sanguínea, exercem funções vitais na troca de nutrientes e remoção de metabólitos e, protegem o SNC da invasão de patógenos provenientes da circulação sanguínea (DANDO et al., 2014).

2.2.1 Barreira hematoencefálica

A barreira hematoencefálica (BHE) foi descrita pela primeira vez por Ehrlich há mais de 100 anos (REINHOLD; RITTNER, 2017) . Desde então, a BHE tornou-se uma importante ferramenta de estudos para a compreensão de vários mecanismos do funcionamento do SNC e suas adjacências. A BHE é uma

estrutura altamente complexa e dinâmica formada por células endoteliais microvasculares que revestem os capilares cerebrais que penetram no cérebro e medula espinhal. Desempenha papel essencial no controle e efluxo de substâncias biológicas necessárias ao funcionamento e atividades metabólicas do cérebro, assim como na proteção do parênquima cerebral de agentes provenientes da circulação sanguínea, e atua como obstáculo à entrada de drogas e outros compostos exógenos no SNC (KADRY; NOORANI; CUCULLO, 2020).

A BHE é o principal meio de acesso para o SNC sendo essencial para a manutenção de sua homeostase, que por sua vez é controlada pela regulação do transporte de moléculas entre o espaço extra cerebral e intracerebral que impede a entrada de células, componentes plasmáticos e patógenos. Essa regulação surge da união de células conhecidas como Unidade Neurovascular (NVU) formada por células endoteliais, pericitos e astrócitos, que trabalham em conjunto para manter o cérebro funcionando de forma adequada (ALAHMARI, 2021).

A estabilidade da BHE pode ser afetada por danos diretos ou alterações patológicas subsequentes, seja por processos inflamatórios, peroxidação lipídica, excito toxicidade ou anormalidades metabólicas. Os mecanismos para a ruptura da BHE incluem danos diretos à NVU e má permeabilidade, o que ocasiona uma abertura irreversível da BHE devido à morte de células. A quebra da BHE ocasiona a desregulação iônica, edema, e neuroinflamação, que pode levar ao comprometimento da função de células neuronais, aumento da pressão intracraniana e degradação celular. Pode ocorrer ainda o extravasamento de fluidos intravascular e infiltração de células imunológicas, patógenos e moléculas exógenas do espaço extravascular para o parênquima cerebral causando inflamação local e processos patológicos ao SNC (ALAHMARI, 2021; DANEMAN; PRAT. 2015).

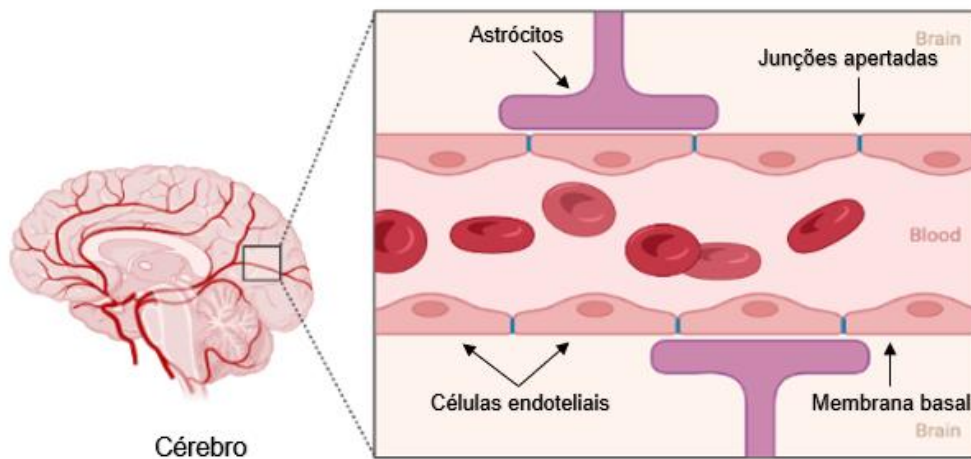


Figura 02: Esquema da estrutura da Barreira hematoencefálica.
Fonte: BioRender.com (Adaptado).

2.2.2 Barreira hematoliquórica

A barreira hematoliquórica (BHL) é formada pelas células epiteliais do plexo coroide, que está situado nos ventrículos cerebrais, principal local de produção do LCR. A função destas células é mantida por junções de oclusão na superfície e pela expressão de sistemas de transporte, a qual permite passagem de água, íons e nutrientes para dentro do LCR. Semelhante a BHE, a BHL atua protegendo o SNC e ajudando a manter a homeostase, entretanto, as células epiteliais coroides da BHL também secretam LCR do plexo coroide para o sistema ventricular. Assim, o plexo coroide da BHL pode ser mais vulnerável à penetração por microrganismo via mecanismos paracelulares (DANDO et al., 2014).

A disfunção dessas barreiras abre portas para entrada de diferentes patógenos que provocam infecções e patologias neurológicas graves causadas principalmente por bactérias, protozoários e vírus. As infecções ocasionadas por vírus no SNC representam um importante problema de saúde pública devido à gravidade e alta incidência, sobretudo em PVHA. Na maioria dos casos ocorre o desenvolvimento de meningites, encefalites, meningoencefalites e mielites (DOMÍNGUEZ-GIL et al., 2020).

2.3 Doenças Neurológicas

2.3.1 Meningite

A meningite, caracterizada pela inflamação das meninges em resposta a infecção ou agentes exógenos é a principal síndrome infecciosa que afeta o SNC. É frequentemente associada a patógenos virais e bacterianos, mas pode ser originada de causas não infecciosas. Pode ser classificada em meningite bacteriana, asséptica e viral de acordo com o agente etiológico identificado. Classicamente apresenta-se com cefaleia, febre, fotofobia e rigidez de nuca (RICHIE; JOSEPHSON, 2015).

2.3.2 Encefalite

A encefalite é definida como uma síndrome neurológica causada por inflamação do parênquima encefálico, que pode ser de origem infecciosa ou autoimune. É identificada pela inflamação presente em amostras de tecido cerebral submetidos ao exame de biópsia, mas não é o método de identificação indicado, uma vez que existem outros métodos menos invasivos, como exames de imagem e análise do LCR. Os sinais e sintomas da disfunção neurológica associados à encefalite geralmente incluem: cefaleia, rebaixamento do nível da consciência, convulsões, déficits focais e alterações do comportamento que se apresentam de forma aguda. Manifestações sistêmicas também podem ser observadas, como febre, mialgia, artralgia, erupção cutânea e linfadenopatia. A tomografia computadorizada (TC) é indicada antes da realização da punção lombar quando existe a suspeita de encefalite. A ressonância magnética (RM) é o método de escolha para visualização de processos inflamatórios no parênquima cerebral, demonstrando lesões focais e auxiliando no diagnóstico diferencial com outros distúrbios inflamatórios de origem não identificada (COSTA; SATO, 2020).

2.3.3 Mielite

A mielite é caracterizada por inflamação aguda ou subaguda da medula espinhal, que evolui com sintomas sensitivos, motores e autonômicos. Pode ser causada por diferentes etiologias, e ocorrem principalmente em processos desmielinizantes do SNC, imunomediados e infecciosos (PRESAS-RODRIGUEZ, 2016).

2.3.4 Meningoencefalite

Meningoencefalite é caracterizada pela inflamação grave que envolve tanto o parênquima cerebral quanto as meninges. Febre, cefaleia intensa, convulsões, e em casos mais graves, danos neurológicos são frequentemente relatados (SOUSA JUNIOR et al., 2020).

2.4 HIV/Aids

2.4.1 Histórico

A Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) foi relatada como uma nova doença no início da década de oitenta, após um aumento significativo de casos de infecções oportunistas de origem desconhecida que acometia principalmente homens que fazem sexo com homens (HSH) (SHARP; HAHN, 2011). Diante da evolução e do quadro clínico dos indivíduos, o *Center for Disease Control and Prevention* (CDC) caracterizou a doença como uma nova patologia denominada AIDS que se tornou uma das doenças infecciosas mais importantes da história da saúde (MALDONADO et al., 2015).

Em 1983, os pesquisadores Luc e Robert Gallo isolaram o Vírus da Imunodeficiência Humana tipo 1 (HIV-1) e o denominaram causador da AIDS (GALLO; MONTAGNEIR, 2003). Posteriormente, em 1986 foi descoberto um novo vírus com características genéticas semelhantes às do HIV-1, sendo então descrito como HIV-2. A partir dessas descobertas o ICTV recomendou o termo HIV para denominá-lo e reconhecê-lo como vírus que infecta seres humanos (GALLO et al., 1984).

O HIV-1 está presente em todo o mundo e, quando não diagnosticado e tratado adequadamente, quase sempre progride para AIDS. Divide-se em

diferentes grupos genéticos, grupos M, N, O, e P. O grupo M é o mais comum no mundo e responsável pela pandemia, sendo ainda dividido em subtipos ou clados (MELHUIISH; LEWTHWAITE, 2018). Os subtipos estão associados a diferentes regiões geográficas, o subtipo B, predomina nas Américas, Austrália e Europa Ocidental, enquanto o subtipo C é responsável por 50% das infecções encontradas na África e Índia (MELHUIISH; LEWTHWAITE, 2018).

O HIV-2 causa uma doença semelhante, porém, menos agressiva, possui distribuição geográfica restrita principalmente à África Ocidental (FERREIRA; RIFFEL; SANT'ANA, 2010). Indivíduos infectados com HIV-2 possuem cargas virais mais baixas, declínio de linfócitos T CD4+ lento e menores taxas de transmissão vertical, apenas 20 a 30% dos pacientes progridem para AIDS.

2.4.2 HIV – estrutura viral

O HIV é um retrovírus da família *Retroviridae*, subfamília *Orthoretrovirinae*, gênero *Lentivirus* (ICTV). É composto por duas moléculas de ácido ribonucleico (RNA) de fita simples, com polaridade positiva, circundadas por um capsídeo glicoproteico. Sua estrutura é constituída de partícula icosaédrica revestida por um envelope fosfolipídico, na qual se encontram inseridas as proteínas gp120 e gp41, importantes no seu processo de replicação (LUCIW, 1996).

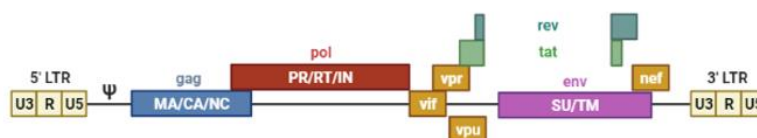
O provírus do HIV (DNA proviral) é gerado pela transcrição reversa do genoma do RNA viral em DNA, degradação do RNA e integração do DNA de fita dupla do HIV no genoma humano. O genoma do DNA possui extremidades flanqueadas pelas sequências LTR (*repeat long terminal*). A região 5' LTR codifica para transcrição dos genes virais. No sentido de 5' para 3' é realizada a leitura do gene *gag*, que codifica as proteínas da membrana central externa (MA, p17), a proteína do capsídeo (CA, p24), o nucleocapsídeo (NC, p7) e proteína que estabiliza o ácido nucléico. O quadro de leitura *pol* codifica as enzimas protease (PR, p12), transcriptase reversa (RT, p51) e RNase H (p15) e integrase (IN, p32). Próximo ao gene *pol*, encontra-se a sequência *env* de leitura, a partir da qual as glicoproteínas do envelope gp120 (SU, proteína de superfície) e gp 41 (TM, proteína transmembrana) são derivadas (Figura 3) (ZEICHNER, 1994).

O genoma do HIV codifica ainda várias proteínas regulatórias como a Tat (proteína transativadora) e Rev (reguladora de *splicing* de RNA), as quais são necessárias para iniciar a replicação do HIV. As demais proteínas regulatórias Nef (fator regulador negativo), Vif (fator de infecciosidade viral), Vpr (proteína viral) e Vpu (proteína viral única) possuem impacto na replicação viral, brotamento do vírus e patogênese (LEVY, 2007).

A partícula do HIV é esférica, mede aproximadamente 100 nm de diâmetro, envolta externamente por uma membrana lipídica denominado envelope viral que é composto por uma camada dupla de lipídios e, nas partículas virais maduras, pelas proteínas de envelope gp120 e gp41 (GELDERBLOM, 1991). O capsídeo é montado a partir da proteína interna p24. Duas moléculas idênticas de RNA genômico estão inseridas dentro do capsídeo viral. Estão presentes ainda nas partículas virais os oligo peptídeos que são gerados após a liberação da célula durante o processo de maturação dos virions por processo proteolítico das proteínas precursoras (p55 e p160).

A maturação da partícula do HIV acontece pelo processo de clivagem das proteínas precursoras *gag* e *pol* (p55, p160), tais proteínas se dividem no final do processo de brotamento e liberação dos virions da célula.

HIV - GENOMA



HIV - ESTRUTURA

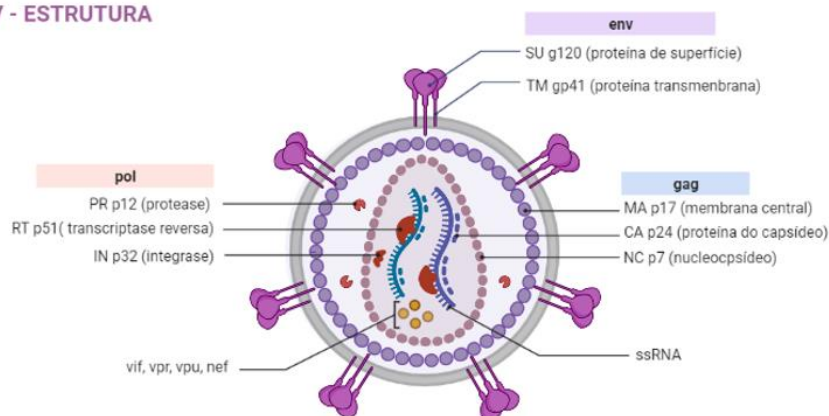


Figura 03: Esquema do genoma e estrutura do HIV.
Fonte: BioRender.com (Adaptado).

2.4.3 HIV – Infecção nas células humanas

O HIV pode ser encontrado no sangue, fluidos corporais e compartimentos do SNC de indivíduos infectados, dessa forma pode ser transmitido por diversas vias (MELHUIISH; LEWTHWAITE, 2018). A infecção do HIV ocorre quando há o contato direto do vírus com as células do hospedeiro através das mucosas, principalmente a mucosa vaginal, peniana, anal ou oral, as quais recebem partículas virais transportadas pelo sêmen e fluidos vaginais. Também pode ocorrer por via perinatal (durante o parto), amamentação e ainda pelo contato de hemoderivados (transusão de sangue, uso de material perfurocortante contaminado) (MINISTÉRIO DA SAÚDE).

O HIV inicia seu ciclo replicativo através da interação da glicoproteína de superfície gp120 com o receptor CD4 da célula hospedeira (GREENE, PETERLIN, 2002). Todas as células CD4 positivas, como as células T auxiliares, macrófagos, células dendríticas e astrócitos são alvos do HIV. Após a ligação à molécula CD4 pelo domínio C₄ de gp120, ocorre uma mudança na conformação de CD4 e gp120, a qual permite a ligação ao correceptor, receptor 5 de quimiocina (CCR5) ou receptor 4 de quimiocina (CXCR4) na superfície da célula (MURAKAMI; ONO, 2021). A ligação de gp120 a CD4 e CCR5 desencadeia uma mudança adicional na conformação de gp120 e subsequente, em gp4. O terminal N da gp41 forma um canal e, por ser hidrofóbico, se insere na membrana plasmática da célula alvo (XIAO; CAI; CHEN, 2021).

A fusão das membranas viral e celular ocasiona a translocação do capsídeo viral para o citoplasma da célula. O capsídeo então é absorvido pelo endossomo, e uma mudança de pH no fagossomo impulsiona a liberação do material do capsídeo no citoplasma. A enzima transcriptase reversa transcreve o RNA do HIV de fita simples em DNA complementar (cDNA). O DNA proviral é sintetizado e transportado através de nucléoporos para o núcleo da célula onde forma um complexo que consiste em integrase (IN) e DNA proviral circular. A integrase insere de forma aleatória o genoma proviral do HIV no genoma da célula hospedeira humana. Essa integração do DNA proviral finaliza a infecção por HIV da célula estabelecendo uma infecção persistente (KATZ; SKALKA, 1994).

A infecção do HIV pode ser dividida em três fases distintas: fase aguda, que se desenvolve entre duas a quatro semanas após a ocorrência da infecção, é caracterizada pela alta replicação do HIV e aparecimento de sintomas semelhantes a uma gripe (febre, cefaleia, fadiga, edema ganglionar e em alguns casos, aparecimento de manifestações cutâneas), nessa fase aparecem os anticorpos anti-HIV, sendo denominados de soroconversão; na fase crônica ou período de latência, o vírus possui baixa replicação, acarretando o desaparecimento dos sintomas iniciais (período assintomático), esse estágio pode perdurar em até 12 anos, e à partir de aí ocorrer a evolução para a doença; a última fase, é definida como a forma mais grave da doença, a qual há depleção e comprometimento dos mecanismos homeostáticos, imunológicos e aparecimento de infecções oportunistas, essa fase ocorre de 10 a 12 anos após a infecção primária (CHRISTO, 2008).

2.4.4 Epidemiologia mundial do HIV/Aids

Até o ano de sua descoberta (1980), não havia dados epidemiológicos registrados de indivíduos infectados com HIV e conseqüentemente em AIDS (BOMFIM, 2018). A partir disso, a AIDS ganhou destaque no cenário de doenças infectocontagiosas mais prevalentes e passou a ser considerada uma patologia de notificação compulsória, fornecendo periodicamente dados epidemiológicos por meio de sistemas de vigilância.

De acordo com as estatísticas globais sobre o HIV publicadas pelo UNAIDS em 2021, cerca de 84,2 milhões de indivíduos foram infectados pelo HIV desde o início da epidemia. Atualmente, estima-se que aproximadamente 38,4 milhões de pessoas no mundo vivem com HIV, das quais, 36,7 milhões são adultos, 1,7 milhões menores de 15 anos e 650 mil pessoas foram à óbito por doenças relacionadas à AIDS (UNAIDS, 2022).

2.4.5 Epidemiologia no Brasil

No Brasil, a infecção pelo HIV é um sério problema de saúde pública. Dados emitidos pelo Boletim Epidemiológico HIV/Aids, demonstraram que de 2007 até junho de 2021 foram notificados ao Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) 381.793 casos de HIV e que, somente no ano de 2020, foram diagnosticados 32.701 novos casos. Em relação aos casos de AIDS, em 2020 foram registrados 29.917 casos, com taxa de incidência de 14,1/100 mil habitantes (Figura 4) (MINISTÉRIO DA SAÚDE). Na região Norte, nesse mesmo período foram notificados 36.218 casos de infecção, e 19,8% do total de casos de AIDS.

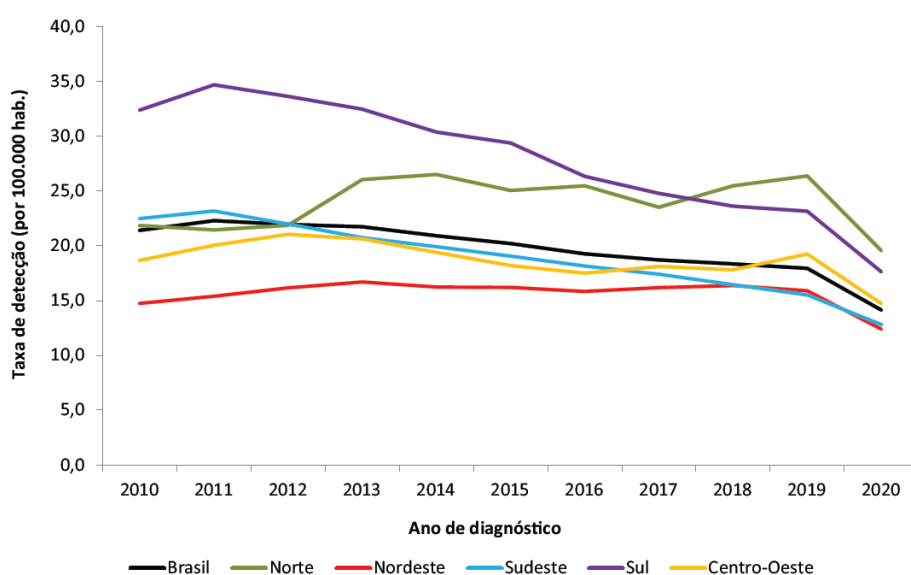


Figura 04: Detecção de casos de AIDS (por 100.000 habitantes), por região e ano de diagnóstico.
Fonte: Boletim epidemiológico HIV/Aids, Número Especial, dez 2021.

No Amazonas, segundo dados de indicadores e dados básicos do HIV/Aids nos municípios brasileiros, foram notificados 21.695 casos de AIDS desde o início da epidemia, de 2009 a 2020 foram registrados 3.360 casos de óbitos por AIDS (Figura 5). Em 2021 foram registrados 749 novos casos de infecção (MINISTÉRIO DA SAÚDE). Na Fundação de Medicina Tropical, dados emitidos pelo *VigWeb* demonstraram que entre o período de 2016 a 2021, foram notificados 3.378 casos de infecção pelo HIV e 2.661 casos de AIDS, para este mesmo período, foram registrados 1.360 casos de óbitos por AIDS (VIGWEB, FMT-HVD).

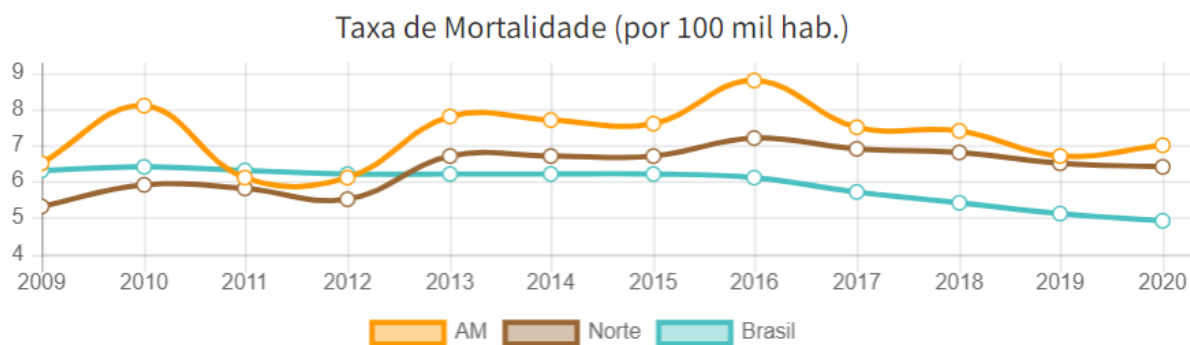


Figura 05: Taxa de mortalidade por AIDS no Amazonas (100/habitantes) no período de 2009 a 2020. **Fonte:** Indicadores e Dados Básicos do HIV/Aids nos Municípios Brasileiros/ Ministério da Saúde.

2.4.6 HIV no Sistema Nervoso Central

O HIV pode afetar o Sistema Nervoso (SN) na infecção primária e causar danos diretamente no cérebro, meninges, medula espinhal, nervos periféricos e músculos. A síndrome neurológica é a primeira manifestação sintomática da infecção por HIV em aproximadamente 10 – 20% dos indivíduos e cerca de 60% dos pacientes com HIV avançado apresentam evidência clínica de disfunção neurológica grave durante a doença (THAKUR et al., 2019).

A infecção do HIV no SNC ocorre por diferentes formas, o mecanismo descrito na literatura como “Cavalo de Troia” é o mais relatado. Nesse mecanismo, o HIV invade o SNC cruzando a BHE através de monócitos e linfócitos infectados derivados do sangue durante a imunovigilância (KOYUNCU; HOGUE; ENQUIST, 2013). Os monócitos infectados se diferenciam em macrófagos residentes e estabelecem replicação de baixo nível, infectando micróglia próximas. Os astrócitos também podem ser alvos suscetíveis à infecção (THAKUR, 2020). O HIV também pode cruzar a BHE rompida em ambientes com alta carga viral, a replicação viral de baixo nível ocorre intracelularmente e outras micróglia são infectadas (PARUK; BHIGJEE, 2021). Esse processo desencadeia uma resposta imunológica e inflamatória com a liberação de neurotoxinas que causam danos a outras células e ao parênquima cerebral, e o desenvolvimento de patologias neurológicas (BALCOM et al., 2019).

O HIV pode infectar qualquer parte do neuro eixo de forma isolada ou simultânea através de uma ou mais etiologias. As doenças que se desenvolvem

no estágio inicial da infecção podem ocorrer devido à reposta imune exacerbada, ao passo que, as infecções oportunistas se tornam mais prevalentes devido à imunodepressão avançada (PARUK; BHIGJEE, 2021).

Apesar da introdução da Terapia Antirretroviral (TARV) em 1987, as infecções oportunistas do SNC continuam sendo uma das principais causas de morbidade e mortalidade em pessoas que vivem com HIV/Aids (PVHA) (BOWEN et al., 2016). Vários são os fatores que contribuem para esse cenário, como a infecção por HIV desconhecida pelo indivíduo, resistência aos medicamentos antirretrovirais, bem como sua baixa adesão e uso de drogas ilícitas que além de aumentar o risco de infecção pelo HIV, afeta os mecanismos de depuração das drogas antirretrovirais e expõe o indivíduo a outras infecções (BOWEN et al., 2016).

No contexto de infecções oportunistas em PVHA, os vírus possuem capacidade de causar infecções graves no SNC. Podem infectar de forma direta o SNC, ou em alguns casos podem se reativar devido à imunodepressão, no caso de infecção viral latente (KENNEDY, 2020). Os herpesvírus humanos são causas comuns de infecção no SNC e a literatura mostra que todos os herpesvírus podem ocasionar doenças neurológicas, seja por infecção primária ou por reativação de infecção latente, relacionadas a idade e estado imunológico do indivíduo (BHARUCHA; HOULIHAN; BREUER, 2019).

2.5 Herpesvírus

A família *Herpesviridae* é composta por vírus que estão associados a infecção em seres humanos. É subdividida em três subfamílias de acordo com as propriedades biológicas e características, sendo *Alphaherpesvirinae*, *Betaherpesvirinae* e *Gammaherpesvirinae* (*International Committee on Taxonomy of Viruses – ICTV*). A subfamília *Alphaherpesvirinae*, possui vírus que são capazes de infectar vários hospedeiros, estabelecer latência em nervos sensoriais e um ciclo de replicação rápido e eficiente (*Alphaherpesvirus humano 3 – VZV, Alphaherpesvirus humano 1 – HSV-1, Alphaherpesvirus humano 2 – HSV-2*). A subfamília *Betaherpesvirinae*, possui poucos hospedeiros, replicação lenta e latência em glândulas secretórias, alguns tecidos (*Betaherpesvirus humano 5 – CMV, Betaherpesvirus humano 6 – HHV6, Betaherpesvirus humano*

7 – HHV7) e a subfamília *Gammaherpesvirinae* cujo vírus possuem predileção por células linfoides e estabelecem latência (*Gammaherpesvirus humano 4* – EBV, *Gammaherpesvirus humano 8* – HHV8) (ROIZMAN; KNIPE; WHITLEY, 2007) (Tabela 1).

Tabela 1: Classificação dos vírus da família *Herpesviridae* de acordo com o ICTV.

Classificação	Sinônimo	Subfamília	Abreviatura
<i>Alphaherpesvírus humano 1</i>	Herpes simples vírus tipo 1	α	HSV-1/HHV-1
<i>Alphaherpesvírus humano 2</i>	Herpes simples vírus tipo 2	α	HSV-2/HHV-2
<i>Alphaherpesvírus humano 3</i>	Varicela zoster vírus	α	VZV/HHV-3
<i>Betaherpesvírus humano 5</i>	Citomegalovírus	β	CMV/HHV-5
<i>Betaherpesvírus humano 6</i>	Herpes vírus humano 6	β	HHV-6
<i>Betaherpesvírus humano 7</i>	Herpes vírus humano 7	β	HHV-7
<i>Gammaherpesvírus humano 4</i>	Epstein-Barr vírus	γ	EBV/HHV-4
<i>Gammaherpesvírus humano 8</i>	Herpes vírus humano 8	γ	SKHV/HHV-8

α (*Alphaherpesvirinae*), β (*Betaherpesvirinae*), γ (*Gammaherpesvirinae*).

2.5.1 Estrutura viral, biologia, patogênese

A família *Herpesviridae* possui vírus esféricos envelopados, que consistem em estruturas complexas. Sua estrutura básica é formada por um nucleocapsídeo simétrico icosaedro que contém o DNA viral, um envelope contendo as glicoproteínas virais e o tegumento viral composto por proteínas que estão presentes entre o nucleocapsídeo e o envelope (Figura 6) (SCIASCIA DO OLIVAL et al., 2013). O genoma é constituído de DNA fita dupla linear, com 125 a 241 pares de bases, contendo 70 a 170 genes que codificam proteínas, destas, 43 são compartilhadas entre todos da família, evidenciando um processo de replicação comum (GATHERER et al., 2021).

Os Herpesvírus possuem tropismo celular amplo e as vias de acesso a células dependem do tipo celular ou determinantes virais. A entrada dos

herpesvírus na célula hospedeira ocorre por meio da interação coordenada de várias glicoproteínas presentes na superfície do vírus. A ligação inicial do vírus a célula estimula mudanças conformacionais nas glicoproteínas virais que sinalizam para a proteína de fusão viral (gG), esta, por sua vez, executa a fusão da membrana, seguida de redobramento para unir as células e a membrana viral o que permite que o capsídeo viral acesse o citoplasma celular e seja transportado para o núcleo (CONNOLLY; JARDETZKY; LONGNECKER, 2021). A partir de então, inicia-se o processo de replicação no núcleo com a expressão de genes iniciais que codificam proteínas relacionadas ao processo de regulação gênica para a etapa de transcrição. Em seguida, são expressos genes que codificam as proteínas relacionadas ao genoma viral e por último são expressos genes que codificam genes estruturais. No núcleo, os capsídeos são formados, o DNA viral é empacotado formando os nucleocapsídeos e ocorre a liberação da partícula viral através da membrana nuclear pelo processo de brotamento (PALUDAN et al., 2011) .

Após a infecção primária os Herpesvírus são capazes de estabelecer latência ao longo da vida devido à expressão gênica viral limitada ou replicação crônica de baixo nível (SCIASCIA DO OLIVAL et al., 2013). O desenvolvimento de doença grave em sua maioria, está relacionada à transmissão vertical e ocorre em recém-nascidos, no entanto, casos graves também podem ocorrer em pacientes imunocomprometidos, sobretudo quando relacionado a reativação do vírus latente (GATHERER et al., 2021).

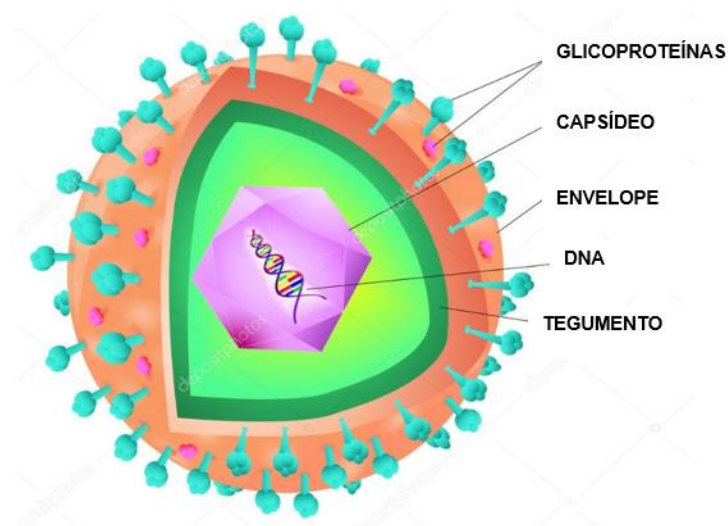


Figura 06: Estrutura da partícula viral dos Herpesvírus.

Fonte: <https://br.depositphotos.com/13784480/stock-illustration-herpes-virus-structure.html>
(Adaptado)

2.5.2 Infecção por Herpesvírus em PVHA

Os Herpesvírus são onipresentes e possuem elevada prevalência em populações de alto risco, principalmente em PVHA, causando aumento da morbimortalidade nesses pacientes. Estes vírus estão associados a infecções oportunistas graves e sua reativação está quase sempre relacionado a desfechos ruins (REN et al., 2020). No âmbito de doenças no SNC, as infecções por Herpesvírus podem apresentar manifestações neurológicas graves. Nesse contexto, o diagnóstico e tratamento apropriados imediatos, conhecimento da sintomatologia, bem como das complicações neurológicas secundárias são essenciais para prevenção da morbidade e mortalidade (WHITLEY, 2019).

Os Herpesvírus entram no SNC por dois mecanismos principais: através da via hematogênica ou propagação neuronal. A rota da infecção depende de fatores relativos ao mecanismo de entrada de cada vírus e do local de exposição, e o sucesso da patogênese depende de fatores ambientais, suscetibilidade imunológica do hospedeiro e variação genética (WHITLEY, 2019).

2.5.3 *Alpha*herpesvírus humano 1 – HSV-1

O HSV-1 é um dos principais agentes que causam infecções neurológicas no mundo e o principal agente identificado em casos de encefalite esporádica, sendo onipresente e altamente neurotrópico (BHARUCHA; HOULIHAN;

BREUER, 2019). Estimativas epidemiológicas atuais demonstram que aproximadamente 3,7 milhões de pessoas no mundo entre 0 e 49 anos estão infectadas pelo HSV-1, e ainda que, fatores como aumento da idade, baixo nível socioeconômico e localização geográfica estão associados a maior risco de infecção. O HSV-1 causa infecção latente e dessa forma a infecção neurológica pode ocorrer tanto a infecção primária quanto pela reativação do vírus latente (WHITLEY, 2019).

A infecção pelo HSV-1 é caracterizada pelo desenvolvimento de encefalite e meningoencefalite, sendo os sintomas agudos mais comumente relatados é febre, cefaleia, confusão mental e alteração da consciência, em alguns casos pode haver déficits neurológicos focais, hemiparesia, disfagia, afasia e paralisia do nervo craniano (WHITLEY, 2006). A infecção do SNC por HSV-1 pode evoluir com apresentações clínicas específicas por isso, requer um alto índice de suspeita e início do tratamento precoce. O diagnóstico é baseado na análise do LCR, o qual geralmente apresenta pleocitose linfocítica, glicose normal e proteína levemente elevada e PCR para detecção do DNA no LCR, sendo o diagnóstico padrão altamente sensível e específico (BALDWIN; CUMMINGS, 2018; WHITLEY, 2006).

2.5.4 *Alphaherpesvírus humano 2 – HSV-2*

O HSV-2 é responsável por infectar cerca de 417 milhões de pessoas com idade entre 15 e 49 anos em todo o mundo. Na maioria das infecções, as manifestações clínicas se desenvolvem nos órgãos genitais, mas, o vírus pode invadir o SNC e causar manifestações neurológicas graves principalmente em PVHA. A infecção neurológica cursa com o desenvolvimento de encefalite em aproximadamente 5 a 10% dos casos, em geral, as apresentações clínicas incluem cefaleia recorrente, meningite aguda ou recorrente e, raramente meningoencefalite e mielite transversa. Apenas 10 a 20% dos casos apresentam lesões genitais visíveis como na apresentação clínica (BALDWIN; CUMMINGS, 2018).

2.5.5 *Alphaherpesvírus humano 3 – VZV*

A infecção pelo VZV está associada a duas síndromes clínicas distintas: a infecção primária denominada de varicela (catapora) doença infantil autolimitada com poucas complicações, e herpes zoster, ocasionada pela reativação do VZV latente nos nervos cranianos e gânglios da raiz dorsal (ALVAREZ et al., 2020). O declínio da imunidade observado em idosos e indivíduos imunocomprometidos é um fator de risco importante para a reativação do VZV, sobretudo quando essa reativação ocorre em PVHA. A infecção do SNC apresenta-se como meningite, encefalite, cerebelite e mielopatia com ou sem erupção cutânea, podem se desenvolver tanto na infecção primária quanto na reativação (NAGEL; NIEMEYER; BUBAK, 2020). É uma das causas de doenças infecciosas neurológicas mais comuns, sendo o segundo vírus que mais causa encefalite e/ou meningite (SKRIPULETZ et al., 2018).

2.5.6 *Gammaherpesvirus humano 4 – EBV*

A infecção por EBV acomete principalmente crianças e o curso clínico na maioria dos casos é benigno. Os sintomas são leves ou não se manifestam, estima-se que 90% da população mundial adulta está infectada pelo EBV. A manifestação clínica mais comum é a mononucleose infecciosa, com febre, linfadenopatia, faringite e diarreia (WANG; YANG; WEN, 2022). O EBV pode infectar tanto o SNC quanto o Sistema Nervoso Periférico (SNP), causando um conjunto de síndromes clínicas. As infecções ocorrem em sua maioria devido à reativação do vírus latente, sobretudo em pacientes imunossuprimidos. As manifestações neurológicas cursam como encefalite, meningite, cerebelite aguda, neurite craniana ou periférica e mielite transversa, radiculites agudas (KENNEDY, 2021). Os sintomas são heterogêneos, com presença de cefaleia, vertigem, hemiplegia, confusão mental, crises convulsivas e alterações visuais (WHITLEY, 2019). Complicações neurológicas pós-infecção por EBV podem ser observadas como doenças desmielinizantes, incluindo a Síndrome de Guillain-Barré (SGB), mielite transversa e polirradiculomielite (WANG; YANG; WEN, 2022).

2.5.7 *Betaherpesvirus humano 5 – CMV*

O CMV é o membro da família *Herpesviridae* com o maior genoma conhecido, é a principal causa infecciosa relacionada a doenças congênitas, com transmissão uterina de 0,7% das gestações no mundo todo. A soroprevalência em adultos está estimada em 60% da população, a qual representa um sério problema para indivíduos imunocomprometidos, particularmente PVHA, nos quais a infecção pode variar de assintomática a fatal. A infecção neurológica por CMV cursa geralmente com encefalite aguda ou crônica, os sintomas são confusão mental, desorientação, crises convulsivas e sinais neurológicos focais. Podem ser observados casos de mononeurite múltipla e mielorradiculopatia (KENNEDY, 2021).

2.6 *Toxoplasma gondii*

Toxoplasma gondii é um protozoário intracelular obrigatório do filo Apicomplexa. Possui a capacidade de infectar uma grande variedade de animais endotérmicos e estabelecer latência ao longo da vida (MENDEZ; KOSHY, 2017a). Os seres humanos são infectados pela ingestão de cistos encontrados em carnes cruas ou malcozidas, água ou alimentos contaminados com oocistos presentes em fezes de felinos, ou por transmissão vertical. O *T. gondii* apresenta três formas morfológicas: taquizoítos, formas livres de rápida multiplicação; bradizoítos, cistos teciduais que se alojam nos tecidos por prolongado período; e esporozoítos, oocistos infectantes presentes nos felídeos (MENDEZ; KOSHY, 2017b).

Na infecção inicial, o *T. gondii* infecta vários tipos de células e ocorre a multiplicação rápida de taquizoítos no hospedeiro, à medida que a infecção progride, o parasita transforma-se em bradizoítos de replicação lenta, que por sua vez, encista causando infecção crônica (DUBEY, 2008). Na maioria dos casos de infecção em indivíduos imunocompetentes, a infecção primária é assintomática ou provoca sintomas leves, contudo, em infecções congênitas pode ocasionar a morte do feto ou dano cerebral, e em indivíduos imunocomprometidos, os sintomas podem ser graves, sobretudo quando relacionados a reativação de cistos no SNC (ELSHEIKHA; MARRA; ZHU, 2020; WANG et al., 2017).

2.6.1 Infecção por *T. gondii* em PVHA

A neurotoxoplasmose é uma doença oportunista comum que ocorre quando há a reativação de cistos latentes no SNC. É uma doença grave que ocupa o terceiro lugar entre as doenças fatais no mundo e em indivíduos imunocomprometidos está entre as infecções do SNC mais prevalentes. A literatura relata que a soro prevalência mundial de *T. gondii* em PVHA varia de 26% em países desenvolvidos a aproximadamente 50% em países em desenvolvimento, sendo a infecção oportunista mais comumente associada com encefalite focal ou difusa e outras lesões cerebrais. Os fatores de risco para o desenvolvimento de neurotoxoplasmose em PVHA, incluem baixas contagens de células T CD4+ (<200/ μ l), ausência de tratamento profilático (Trimetoprima + Sulfametaxazol) e acesso a TARV limitado ou inexistente (ELSHEIKHA; MARRA; ZHU, 2020).

As manifestações neurológicas variam de cefaleia de início subagudo, alteração da função motora e sensorial, déficit neurológico focal, rebaixamento do nível de consciência e crises convulsivas (GRAHAM et al., 2021). Pode ocasionar ainda lesões nos gânglios basais em ambos os hemisférios cerebrais.

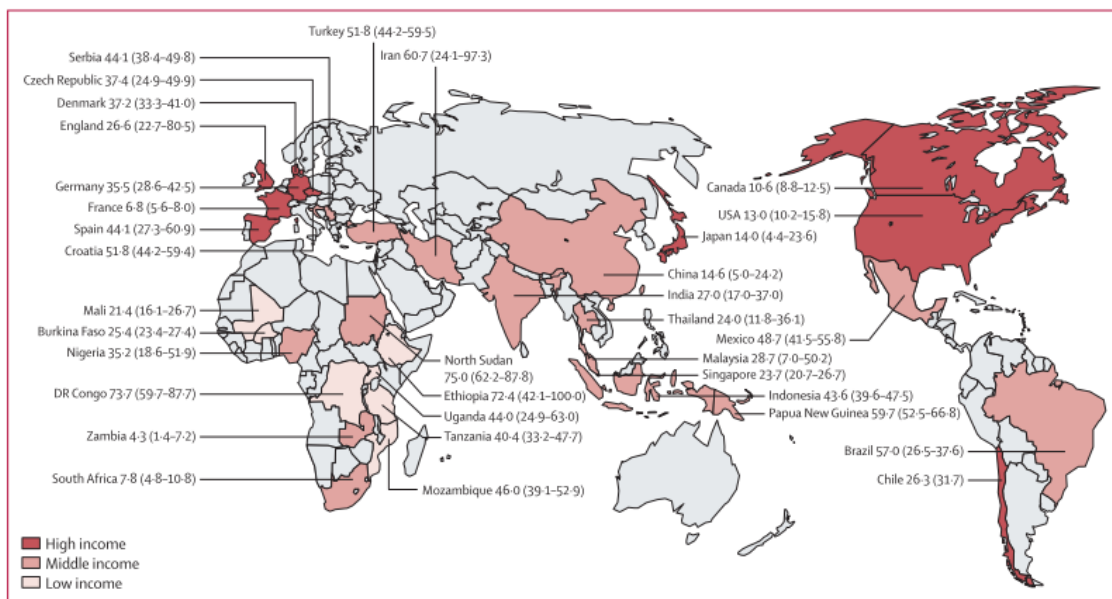


Figura 07: Distribuição mundial da infecção por *T. gondii* em pessoas infectadas pelo HIV.
Fonte: WANG et al., 2017 (Adaptado).

O diagnóstico presuntivo de neurotoxoplasmose é realizado inicialmente por meio da observação de múltiplas lesões cerebrais focais hipodensas e com realce de contraste com efeito de massa presentes em exames de neuroimagem. O Ensaio Imunoenzimático (ELISA) é comumente utilizado para detecção de anticorpos da classe IgM marcador de infecção aguda, e IgG marcador de infecção crônica, cujo, títulos permanecem altos por toda a vida (ELSHEIKHA; MARRA; ZHU, 2020). Na análise do LCR, podem ser observados um predomínio de células mononucleares e proteína elevada, a detecção molecular de DNA de *T. gondii* por meio de PCR é específica, e a sensibilidade depende do tempo de tratamento empírico empregado antes da realização do teste.

2.7 Vírus Linfotrópico de Células T Humanas (HTLV-1/2)

O Vírus Linfotrópico de Células T Humanas (HTLV) foi primeiramente isolado em 1980, a partir de estudos com linfócitos de um indivíduo portador de Linfoma Cutâneo de Células T Humanas, sendo denominado HTLV-1 (POIESZ et al., 1980). Então, em 1982, o mesmo grupo de pesquisa que descreveu HTLV-1 identificou um vírus em células do baço associado à Tricoleucemia (Leucemia de Células T Pilosas) que devido à similaridade genômica com o HTLV-1 foi nomeado de HTLV-2 (MARTINEZ; SALEEM; GREEN, 2019).

O HTLV é um vírus oncogênico pertencente à família *Retroviridae*, subfamília *Orthoretrovirinae* e gênero *Deltaretrovirus* (ICTV). É um vírus esférico com cerca de 80 a 100 nanômetros de diâmetro. A partícula do vírus consiste em um envelope lipídico, um nucleocapsídeo icosaedro, transcriptase reversa, integrase e protease, além de proteínas estruturais como a gp46 e a gp21 (LOPES; PROIETTI, 2008). Possui genoma de RNA de fita simples de sentido positivo com cerca de 8,5 quilobases (kb) de comprimento. O RNA é transcrito de forma reversa em células infectadas em fita dupla (ds) DNA, sendo integrado no genoma da célula hospedeira. O DNA integrado inclui repetições terminais longas com cerca de 800 pb, o qual regulam o início e o fim da síntese de RNA viral (RATNER, 2020). O genoma contém regiões *gag* que codificam proteínas estruturais virais; a região *pol* codifica a transcriptase reversa viral, protease e integrase; a região *env* codifica as proteínas de envelope viral e a região *px*

(semelhante ao gene *tat* do HIV) responsável pela regulação da transcrição (MARTINEZ; AL-SALEEM; GREEN, 2019).

O HTLV infecta principalmente linfócitos T CD4⁺. Contudo, pode infectar linfócitos TCD8⁺, linfócitos B, células endoteliais, células mieloides e fibroblastos (HANANIYA et al., 2019). O processo de infecção ocorre primeiramente por meio da adsorção do vírus à membrana da célula hospedeira, que acontece quando a proteína de superfície gp46 interage com o receptor celular. Após a adsorção, o HTLV interage com receptores resultando na formação de um complexo. Em seguida, ocorre o processo de fusão de membrana, em qual o capsídeo contendo o genoma viral e as proteínas virais são liberados no citoplasma da célula alvo (MARTIN et al., 2016). Uma vez liberados, ocorre o desnudamento do capsídeo, com a liberação do genoma, sendo transcrito em DNA de dupla fita pela enzima transcriptase reversa (SANTOS; LIMA et al., 2005). Em seguida, o DNA viral é transportado para o núcleo da célula e inserido novamente no genoma da célula hospedeira pela enzima integrase, passando ser denominado de provírus. A partir daí ocorre o processo síntese de RNA viral, tendo como molde o provírus integrado. As novas partículas virais serão compostas pelos RNAs transcritos processados em mRNAs e em genomas. Em seguida ocorre a síntese das proteínas estruturais da partícula viral. Ao fim do processo de síntese, ocorre o início da montagem e brotamento das partículas virais (SANTOS; LIMA et al., 2005).

As infecções pelo HTLV-1/2 são mundialmente distribuídas, com alta endemicidade em regiões específicas. Estima-se que existam entre 15 e 20 milhões de pessoas infectadas em todo mundo com o HTLV-1/2 (MORENO et al., 2013). No Brasil, cerca de 2,5 milhões de pessoas estão infectadas com o HTLV-1/2, sendo na região Nordeste, o HTLV-1 mais prevalente e na região Norte, o HTLV-2 (HANANIYA et al., 2019; LAURENTINO et al., 2005). A transmissão do HTLV-1/2 ocorre através do contato com células infectadas, por via vertical, sanguínea e sexual (GESSAIN; CASSAR, 2012). O diagnóstico da infecção é realizado pela detecção de anticorpos específicos pelo teste de ELISA e, quando há amostras reagentes, a confirmação é feita por meio da técnica de Western Blot (WB) e PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) (MORENO et al., 2013).

A literatura relata que a coinfeção HTLV/HIV é comum em áreas endêmicas devido a esses retrovírus compartilharem formas de infecção semelhantes (RIBEIRO et al., 2019). No Brasil, estima-se que as taxas de prevalência dessa coinfeção variam de 2,25 a 21,11%. No contexto de PVHA, indivíduos coinfectados possuem maior probabilidade de desenvolver doenças neurológicas (RIBEIRO et al., 2019). O HTLV possui capacidade de infectar com sucesso o SNC. Contudo, a infecção permanece assintomática ao longo da vida e em apenas 5% dos casos os indivíduos infectados podem apresentar alguma manifestação neurológica. Quando presentes, se manifestam principalmente a Mielopatia associada ao HTLV-1/Paraparesia Espástica Tropical (HAM/PST), caracterizada por lesão na medula espinhal (ROSADAS; PUCCIONI-SOHLER, 2015).

2.8 Líquido Cefalorraquidiano

O Líquido cefalorraquidiano é um importante fluido que reflete as condições do sistema nervoso, sendo assim, é o principal fluido utilizado no diagnóstico de infecções neurológicas. A punção lombar é indicada para o diagnóstico de processos infecciosos do SNC e seus envoltórios (meninges), como infecções oportunistas, coinfeções, meningite por HIV, quantificação da carga viral do HIV e análise da compartimentalização do HIV no SNC (ALMEIDA, 2015). Em condições normais, este fluido contém concentrações de proteína abaixo de 45 mg/dL, e glicose variando entre 45-80 mg/dL, com celularidade até 5 células/mm³ (SOHLER-PUCCIONI et al., 2008).

A integridade da BHE pode ser avaliada por meio da relação de albumina no LCR/soro. A albumina é sintetizada no fígado e sua concentração no LCR deriva do soro por meio de difusão. Em condições normais, a proteína está presente no LCR em baixas concentrações. No entanto, a desregulação na permeabilidade vascular na BHE, permite um influxo aumentado de proteínas para o LCR. Outro fator observado é à síntese intratecal de imunoglobulinas. Além disso, as meningites, distúrbios metabólicos, tumores do SNC, hemorragias subaracnóideas, são alguns dos fatores relacionados ao aumento nas concentrações de proteínas no LCR (SOHLER-PUCCIONI et al., 2008).

A concentração de glicose no LCR está relacionada à concentração de glicose sistêmica e de todo seu metabolismo no cérebro. Os níveis normais de glicose no LCR são de 2/3 da glicose no soro e para esta avaliação, a dosagem de glicose deve ser realizada simultaneamente no LCR e soro. A diminuição dos níveis de glicose no LCR, geralmente está associada a casos de meningite bacteriana, fúngica e tuberculosa (CANUTO; PUCCIONI-SOHLER, 2007). Em relação ao lactato, os mecanismos relacionados ao aumento da concentração deste fluido no LCR de pacientes com meningite ainda não estão bem definidos, mas geralmente estão associados ao metabolismo anaeróbico da glicose no tecido cerebral devido à diminuição do fluxo sanguíneo e da captação de oxigênio (HUY et al., 2010). Os níveis de lactato no LCR não têm relação com a concentração sanguínea, e sim, com sua própria produção no SNC, indicando aumento da glicose anaeróbica (SOHLER-PUCCIONI et al., 2008). Os leucócitos circulantes no LCR são derivados da circulação sanguínea. Em condições normais, o LCR pode apresentar até 5 células por mm³, e menos frequente, são observadas células derivadas do plexo coroide e leptomeninges. Por outro lado, em condições patológicas, podem ser encontrados macrófagos, neutrófilos, eosinófilos e basófilos (SOHLER-PUCCIONI et al., 2008).

A contagem de leucócitos, os níveis de proteínas, glicose e lactato são úteis no diagnóstico e diferenciação de infecções causadas por diferentes patógenos (GOMES, 2022). O perfil líquórico alterado, podem indicar um processo inflamatório no SNC, e dessa forma, pode ser considerado um indicador sensível de inflamação, importante na orientação da decisão diagnóstica e tratamento adequado (EGELUND et al., 2017).

3. JUSTIFICATIVA

A Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD) é um centro de referência para o atendimento de pacientes HIV/Aids no Amazonas. Dessa forma, o estabelecimento de um fluxo para monitoramento de infecções neurológicas contribuirá com dados importantes sobre o estado neurológico das PVHA, assim como a relação das infecções oportunistas (patógenos infecciosos) e a presença do próprio HIV no sistema nervoso (infecção direta), podendo repercutir positivamente sobre as ações e condutas clínicas. Adicionalmente, o monitoramento da etiologia, da dispersão e do comportamento das doenças neurológicas de origem infecciosa, pode contribuir para o desenvolvimento de políticas regionalizadas, prevenção e controle deste agravo, impactando na melhoria das ações de saúde para este grupo de pacientes afetados, reduzindo a letalidade (curto prazo) e sequelas da doença (médio e longo prazos), diminuindo custos com hospitalização, exames complementares e reabilitação.

4. OBJETIVOS

4.1 Geral

Estudar o líquido cefalorraquidiano do paciente com HIV com manifestações neurológicas em um hospital de referência em doenças infecciosas, na cidade de Manaus, Amazonas.

4.2 Específicos

- Investigar no líquido cefalorraquidiano a presença de agentes oportunistas como: *Toxoplasma gondii*, HTLV-1/2 e *Herpesvirus* relacionados a complicações neurológicas;
- Detectar no líquido cefalorraquidiano os níveis de RNA do HIV e correlacionar com os níveis presentes no plasma.

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Desenho do Estudo

Estudo descritivo, observacional, retrospectivo realizado em um hospital de referência.

5.2 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, e Centro de Testagem e Aconselhamento (CTA). Um hospital que oferece serviços de internação e ambulatório, além de possuir um laboratório que faz parte da Rede Nacional de Laboratórios para Quantificação da Carga Viral e genotipagem do HIV, e possuir um centro cirúrgico com ambulatório de LCR sob coordenação de neurologistas.

5.3 População e período do estudo

A população de estudo foi constituída por pacientes ≥ 18 anos de idade de ambos os sexos, portadores de HIV ou HIV/Aids que evoluíram com quadro de manifestações neurológicas do sistema nervoso central e/ou periférico e que foram submetidos à punção lombar no período de janeiro de 2015 a dezembro de 2021.

5.4 Critérios de inclusão

- Idade superior ou igual a 18 anos;
- Apresentação de quaisquer sintomas neurológicos (cefaleia, crise convulsiva, rebaixamento do nível de consciência, entre outros);
- Diagnóstico confirmado de infecção por HIV e/ou Aids;
- Amostra de LCR com volume suficiente para as análises (2 mL).

5.5 Amostras do estudo

As amostras de LCR para análise diagnóstica foram coletadas de pacientes internados na unidade hospitalar Dr. Nelson Antunes (FMT-HVD) que evoluíram com manifestações neurológicas de acordo com critérios médicos. Após a coleta, as amostras foram requisitadas ao Laboratório de Bacteriologia/Virologia da FMT-HVD onde foram devidamente armazenadas em freezer -80 °C para análises posteriores.

5.6 Coleta de dados

As informações relevantes ao estudo tais como variáveis sociodemográficas, informações clínicas (sinais e sintomas), tipos de infecções, esquema terapêutico (TARV), carga viral, contagens de linfócitos T CD4+/CD8+, tempo de internação, exames laboratoriais e perfil liquorico foram obtidas através dos prontuários eletrônicos (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*.

5.7 Diagnóstico molecular

5.7.1 Extração de Ácido nucleico

A extração do Ácido Nucléico (RNA ou DNA) das amostras de LCR foi realizada utilizando 200µl de amostra com o Kit (Promega *ReliaPrep*™) seguindo o protocolo estabelecido pelo fabricante (Anexo 8.1).

5.7.2 Reação em Cadeira da Polimerase convencional (cPCR)

Para detecção dos vírus da família *Herpesviridae* foi realizado cPCR multiplex seguindo as condições propostas por Markoulatos; Sifakas; Moncany

(2002). O gene humano B-actina foi utilizado como controle interno de extração na reação.

5.7.3 Visualização em gel de agarose

A visualização do produto de cPCR (*amplicons*) para *Herpesvirus*, foi realizada por eletroforese em gel de agarose a 2% em solução tampão TBE 1X (89 Mm Tris, 89 Mm Ácido bórico, 2mM EDTA). A comparação das bandas foi feita pelo marcador de peso molecular 100pb (*Invitrogen Life Technologies*).

5.7.4 Detecção de HIV

Para a detecção do HIV em LCR foi utilizada a metodologia PCR em Tempo Real/*Abbot Alinity M HIV-1* recomendada pelo Ministério da Saúde. Todas as etapas seguiram o protocolo do fabricante.

5.7.5 Detecção de HTLV-1/2

A detecção de HTLV-1/2 foi realizada para as amostras daqueles pacientes com suspeita de infecção pelo vírus mediante solicitação médica. O diagnóstico foi realizado em duas etapas: a primeira consistiu na triagem sorológica por meio de Ensaio Imunoenzimático (Kit ELISA HTLV I + II Murex® DiaSorin *Technical Assay*), seguindo o protocolo descrito pelo fabricante (Anexo 8.2).

A segunda etapa consistiu na confirmação da infecção em amostras reagentes na primeira etapa. Foi realizado RT-qPCR utilizando iniciadores mostrados na tabela abaixo e seguindo o protocolo descrito por Alencar et al., (2020).

Tabela 2: Sequência de oligonucleotídeos para HTLV 1/2 utilizados RT-qPCR.

Primers	Sequência	Alvo
HTLV-1F	5'- GAACGCTCTAATGGCATTCTTAAAACC- 3'	
HTLV-1R	5'-GTGGTTGATTGTCCATAGGGCTAT-3'	HTLV-1
Sonda	FAM-5'-ACAAACCCGACCTACCC-3'-BHQ	
HTLV-2F	5'-CAACCCCACCAGCTCAGG-3'	
HTLV-2R	5'-GGGAAGGTTAGGACAGTCTAGTAGATA-3'	HTLV-2
Sonda	FAM-5'-TCGAGAGAACCAATGGTATAAT-3'-BHQ	

5.7.6 Detecção de *Toxoplasma gondii*

A detecção de *T. gondii* foi realizada utilizando os iniciadores descritos na tabela abaixo seguindo o protocolo de RT-qPCR validado e descrito por Lin et al., (2000).

Tabela 3: Sequência de oligonucleotídeos para *T. gondii* utilizados qPCR.

Primers	Sequência	Alvo
Toxo-F	5'- TCCCCTCTGCTGGCGAAAAGT- 3'	
Toxo-R	5'-AGCGTTCGTGGTCAACTATCGATTG-3'	<i>T. gondii</i>
Sonda	FAM-5'-TCTGTGCAACTTTGGTGTATTCGCAG-3'- TAMRA	

5.7.7 *Cryptococcus sp.* e *Mycobacterium tuberculosis*

Após revisão dos prontuários das PVHA, informações sobre o diagnóstico de *Cryptococcus sp.* e *M. tuberculosis*, foram coletadas e incluídas no banco de dados do *RedCap*. Foi considerado caso positivo para neurotuberculose aquele com diagnóstico confirmado por Teste Rápido Molecular para Tuberculose (TRM-TB) e cultura. Para neurocriptococose, aquele com diagnóstico confirmado por cultura, CrAg (Antígeno criptocócico) e coloração com tinta Nankin.

5.8 Análise Estatística

Foi realizada a análise descritiva dos dados. As variáveis contínuas foram expressas como valores medianos e as categóricas foram expressas como frequência absoluta e relativa. Para correlação entre as cargas virais plasmáticas e líquóricas foi utilizado o teste de correlação de *Spearman* e regressão linear. Para a comparação entre dois grupos ou mais, os dados foram verificados quanto a normalidade pelo teste de D' Agostino, os quais apresentaram distribuição não normal, dessa forma, as análises foram feitas pelo teste de *Kruskal-Wallis* com comparação de mediana pelo método de Dunn. O nível de significância estatística definido foi $p < 0,05$.

5.9 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 de parecer 4.478.655 seguindo o que está disposto na Resolução 466/2012 (Anexo 8.3).

6. RESULTADOS

Durante o período do estudo, foram analisadas 246 amostras de LCR de PVHA com suspeita de infecção no SNC que evoluíram com manifestações neurológicas. Destas, um paciente foi excluído por ter idade <18 anos, totalizando 245 pacientes enquadrados nos critérios de inclusão propostos para o estudo.

6.1 Características dos pacientes

Em relação as características sociodemográficas, o sexo masculino foi prevalente em 58% (142/245) e a idade mediana da população foi de 37 anos. As manifestações neurológicas predominantes foram cefaleia em 61% (136/245), crise convulsiva em 24,7% (55/245), rebaixamento do nível de consciência em 23,8 % (53/245), confusão mental em 22,4% (50/245), seguida de paresia de membros inferiores com 20,2% (45/245). Em relação ao uso de antirretrovirais, 46,7% dos pacientes relataram utilizar os medicamentos de forma regular (113/245), 26% eram virgens de tratamento (63/245), 18,6% disseram fazer o uso irregular (45/245) e 7,4% abandonaram o tratamento (18/245) (Tabela 4).

No que se refere ao estágio de infecção por HIV (Classificação do *Centers for Disease Control and Prevention*), 64% dos pacientes foram classificados no estágio 3 (T CD4+ <200 células/mm³), 18,5% no estágio 2 (T CD4+ 200 a 499 células/mm³), 10,6% tinham estágio desconhecido (ausência de informações sobre contagem de T CD4+) e 6,9% no estágio 1 (T CD4+ ≥500 células/mm³). A carga viral plasmática foi detectada em 78,6% dos pacientes, com mediana de 86.015 cópias/ml (intervalo: 14.22 – 6.290.232). Óbito foi observado em 27,8% da população (67/245) (Tabela 4). Na análise do perfil liquórico, houve discreto aumento na proteína (Md 69 mg/dL) variando de 8 - 1.558 mg/dL, glicose normal (Md 54 mg/dL) variando de 8 – 164 mg/dL e celularidade levemente alterada (Md 16 células/mm³) variando de 0 – 3.925 células/mm³. Quanto ao diagnóstico de HIV, a mediana de tempo de infecção foi de 2 anos (intervalo: 1 – 21), caracterizando uma infecção recente na maioria dos pacientes.

Tabela 4: Frequência absoluta e relativa das características sociodemográficas e clínicas das PVHA com suspeita de infecção no SNC e manifestações neurológicas atendidas na Fundação de Medicina Tropical no período de janeiro de 2015 a dezembro de 2021.

Características sociodemográficas	Total (n=245)	(%)
Sexo		
Masculino	142	58,0
Feminino	103	42,0
Manifestações neurológicas*		
Cefaleia	136	61,0
Crise convulsiva	55	24,7
Rebaixamento do nível de consciência	53	23,8
Confusão mental	50	22,4
Paresia de MMII	45	20,2
Uso de TARV	45	20,2
Regular	113	46,7
Virgens	63	26,0
Irregular	45	18,6
Abandono	18	7,4
Não reportado	6	2,4
Estágio de infecção por HIV/TCD4+		
Estágio 1	17	6,9
Estágio 2	45	18,5
Estágio 3	157	64,0
Estágio desconhecido	26	10,6
Carga viral plasmática		
Detectável	168	78,5
Não detectável	46	21,5
Não reportado	31	12,7
Desfecho clínico		
Óbito	67	27,8
Não óbito	178	72,6

* Os valores da frequência absoluta e relativa estão sujeitos a variações devido um mesmo paciente apresentar mais de uma manifestação neurológica e outras manifestações menos frequentes não estarem expressas na

TARV – Terapia antirretroviral

MMII – Membros inferiores

6.2 Patógenos detectados no LCR de PVHA

Das 245 amostras de LCR de PVHA com manifestações neurológicas analisadas, foram detectados 90 (36,7%) patógenos, dentre estes, o *Cryptococcus sp.* em 7,7%, EBV em (5,3%), CMV, VZV e JCV (4,0%), respectivamente. HSV-1 e *M. tuberculosis* em (0,8%), HSV-2 e BKV em (0,4%) (Tabela 5). Coinfecção com 2 patógenos foi observada em 7 pacientes (18,5%),

sendo, duas por VZV/CMV, duas por CMV/EBV, uma por VZV/EBV, uma por HSV-1/HSV-2 e uma por JCV/BK.

Em relação ao diagnóstico molecular do *T. gondii*, este foi realizado em 72 casos com diagnóstico presuntivo de neurotoxoplasmose baseado em critérios clínicos, achados de imagem e resposta terapêutica. Destas, o DNA do *T. gondii* foi confirmado em 22 (30,5%) amostras, sendo o patógeno mais detectado. No que se refere a detecção de HTLV-1/2, o diagnóstico foi realizado para os casos com suspeita de infecção mediante solicitação médica. Dentre as amostras de LCR suspeitas de HTLV-1/2, duas apresentaram anticorpos anti-HTLV-1/2 pelo ensaio Imunoenzimático ELISA. No entanto, o DNA do HTLV-1/2 não foi detectado em nenhuma das amostras suspeitas.

Tabela 5: Frequência absoluta e relativa dos patógenos detectados em 245 amostras de LCR de PVHA com suspeita de infecção no SNC e manifestações neurológicas atendidas na Fundação de Medicina Tropical no período de janeiro de 2015 a dezembro de 2021.

Patógeno	Prevalência individual/N	(%)
<i>T. gondii</i>	22/72	30,5
<i>Cryptococcus sp.</i>	19/245	7,7
EBV	13/245	5,3
CMV	10/245	4,0
VZV	10/245	4,0
JCV	10/245	4,0
HSV-1	2/245	0,8
<i>M. tuberculosis</i>	2/245	0,8
HSV-2	1/245	0,4
BKV	1/245	0,4
Total	90	36,7

Com relação às características dos pacientes com patógeno detectado, o sexo mais prevalente foi o masculino (45%) com idade mediana de 37 anos. As manifestações neurológicas mais relatadas fora cefaleia (50%), rebaixamento do nível da consciência (38,9%) e confusão mental (33,3%) (Tabela 6).

No grupo de pacientes com Herpesvirus confirmado, observamos um perfil liquórico inflamado, com celularidade elevada, mediana de 85.5 células/mm³ (intervalo: 0 – 3.925), aumento significativo na proteína, mediana de 116.1 mg/dL (intervalo: 42.6 – 1.558), glicose normal, mediana de 61.5 mg/dL (intervalo: 8 – 123) e. Para o grupo de pacientes com Poliomavírus, foi observado

um perfil liquórico dentro da normalidade, proteína (M_d , 45.8 mg/dL), glicorraquia (M_d , 55 mg/dL) e citometria <5 células/mm³.

Tabela 6: Frequência absoluta e relativa das características sociodemográficas e clínicas dos pacientes com patógenos detectados no LCR de acordo com a família viral atendidos na Fundação de Medicina Tropical no período de janeiro de 2015 a dezembro de 2021.

Variável	Herpesvírus n=30 (%)	Poliomavírus n=10 (%)	Coinfecção n= 7 (%)
Sexo			
Masculino	16 (53,3)	2 (20)	4 (57,1)
Feminino	14 (46,7)	8 (80)	3 (42,9)
Manifestações neurológicas*			
Cefaleia	16 (59,3)	2 (28,6)	2 (33,3)
Confusão mental	11 (40,7)	1 (14,3)	2 (33,3)
Rebaixamento do nível de consciência	11 (40,7)	3 (42,9)	2 (33,3)
Paresia de MMII	8 (29,6)	2 (28,6)	3 (50,0)
Uso de TARV			
Regular	9 (30)	2 (20)	3 (42,9)
Irregular	4 (13,3)	5 (50)	1 (14,3)
Virgem	12 (40)	2 (20)	3 (42,9)
Abandono	5 (16,7)	1 (10)	0
Carga viral plasmática			
Detectado	23 (85,2)	8 (80)	6 (85,7)
Não detectado	4 (14,8)	2 (20)	1 (14,3)
Desfecho clínico			
Óbito	10 (33,3)	5 (50)	2 (28,6)
Não óbito	20 (66,6)	5 (50)	5 (71,4)

* Os valores da frequência absoluta e relativa estão sujeitos a variações devido um mesmo paciente apresentar mais de uma manifestação neurológica e outras manifestações menos frequentes não estarem

TARV – Terapia antirretroviral

MMII – Membros inferiores

6.3 Carga viral do HIV no LCR

Para a investigação da carga viral do HIV no líquido cefalorraquidiano, foram testadas 55,1% (135/245) das amostras, aquelas com volume suficiente para as análises. O RNA do HIV foi detectado em 68,8% (93/135) das amostras. Nessa população, houve prevalência de 61,3% do sexo masculino (57/93) e a idade mediana foi de 35 anos. As manifestações neurológicas mais frequentes fora cefaleia (70,1%), rebaixamento do nível da consciência (26,4%), confusão mental (23%) seguido de crise convulsiva (21,8%). 42,9% (39/93) dos pacientes relataram fazer o uso regular de TARV e 30,8% (28/93) eram virgens de tratamento antirretroviral. De acordo com o estágio de infecção HIV

(Classificação do *Centers for Disease Control and Prevention*), 70% dos pacientes foram classificados no estágio 3 (T CD4+ <200 células/mm³). 30% (28/93) pacientes foram a óbito (Tabela 7). Em relação ao perfil liquórico desses pacientes, houve elevação na proteína (Md, 84,7 mg/dL) variando de 8 – 396 mg/dL, glicose normal (Md, 53 mg/dL) variando de 8 – 148 mg/dL e celularidade levemente elevada (Md, 17 cel./mm³) variando de 0 – 874 células/mm³. Quanto a carga viral de RNA do HIV no LCR a mediana foi de 79,639 cópias/mL (intervalo: 1,14-20.000.000). Em seis pacientes com supressão viral plasmática, a carga viral do HIV no LCR foi detectada. Nos pacientes discordantes, os níveis medianos de RNA do HIV no LCR foram de 138 cópias/mL (intervalo: 52-540), quatros desses pacientes estavam em uso regular de TARV.

Tabela 7: Frequência absoluta e relativa das características sociodemográficas e clínicas dos pacientes com HIV detectado no LCR atendidos na Fundação de Medicina Tropical no período de janeiro de 2015 a dezembro de 2021.

Características sociodemográficas	Total (n=93)	(%)
Sexo		
Masculino	57	61,3
Feminino	36	38,7
Manifestações neurológicas*		
Cefaleia	61	70,1
Rebaixamento do nível de consciência	23	26,4
Confusão mental	20	23,0
Crise convulsiva	19	21,8
Uso de TARV		
Regular	39	42,9
Virgem	28	30,8
Irregular	18	19,8
Abandono	5	5,5
Não reportado	1	1,1
Carga viral plasmática		
Detectado	70	84,3
Não detectado	13	15,7
Estágio de infecção por HIV/T CD4+		
Estágio 1	6	6,4
Estágio 2	14	15,0
Estágio 3	65	70
Estágio desconhecido	8	8,6
Desfecho clínico		
Não óbito	65	69,9
Óbito	28	30,1

* Os valores da frequência absoluta e relativa estão sujeitos a variações devido um mesmo paciente apresentar mais de uma manifestação neurológica.

6.4 Correlação entre a carga viral do HIV no LCR/Plasma

Das 93 amostras com carga viral líquórica, 89 tiveram resultados pareados com a carga viral plasmática. Foi possível observar uma correlação fraca, com tendência a significância estatística ($r=0.210$, $p=0.056$) entre os níveis de cargas virais plasmática e líquórica, à medida que a carga viral plasmática aumenta, observa-se também, aumento na carga viral líquórica (Figura 8).

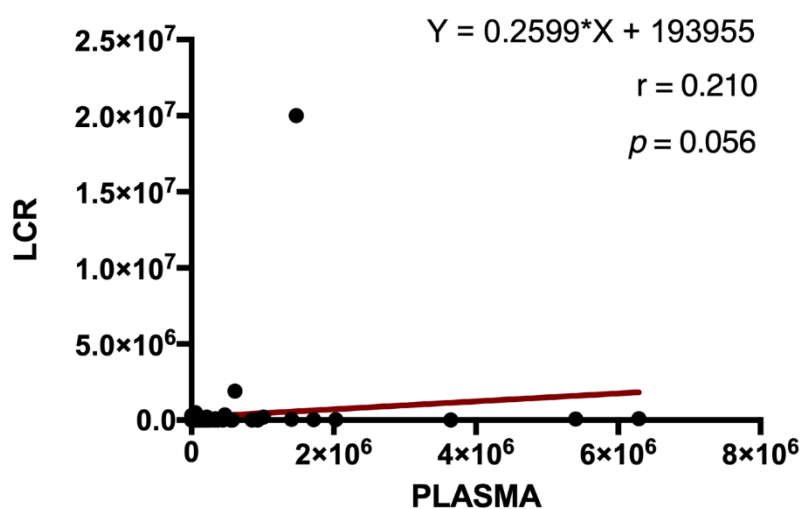


Figura 08: Gráfico de correlação entre as cargas virais plasmática e líquórica das PVHA com RNA do HIV detectado no LCR.

Os grupos de pacientes que tiveram agente detectado foram classificados de acordo com o estágio de infecção pelo HIV. Em todos, a maior prevalência de infecção foi no estágio 3, caracterizando os pacientes em estado de AIDS. No grupo de Poliomavírus, os dez pacientes estavam em estágio de infecção avançada (Tabela 8).

Tabela 8: Frequência absoluta e relativa da classificação do estágio de infecção do HIV para os grupos de vírus detectado.

Estágio de Infecção	Herpesvírus n=30 (%)	Poliomavírus n=10 (%)	HIV/LCR n=93 (%)	Coinfecção n=7 (%)
Estágio 1	1 (3,3)	-	6 (6,4)	-
Estágio 2	6 (20)	-	14 (15)	3 (43)
Estágio 3	18 (60)	10 (100)	65 (69)	4 (57)
Estágio desconhecido	5 (16,6)	-	8 (8,6)	-

Os parâmetros líquóricos dos pacientes que tiveram detecção de patógenos foram comparados entre os grupos. Proteína e citometria foram estatisticamente significativas ($p < 0.05$) no grupo Herpesvirus quando comparado ao grupo HIV (Tabela 9).

Tabela 9: Comparação do perfil líquórico entre os grupos de pacientes com agentes virais detectados no LCR atendidos na Fundação de Medicina Tropical no período de janeiro de 2015 a dezembro de 2021.

	Herpesvírus (Grupo 1) n=30 (M _d)	Poliomavírus (Grupo 2) n=10 (M _d)	HIV no LCR (Grupo 3) n=93 (M _d)	<i>p</i>		
				1 x 2	1 x 3	2 x 3
Proteína (mg/dL)	116.10 (42-1.558)	45.80 (14-201)	850 (80-3.960)	< 0.05	< 0.05	ns
Glicose (mg/dL)	61.50 (8-123)	55 (40-68)	53 (8-148)	ns	ns	ns
Lactato (mg/dL)	7.20 (1.5-50)	10.4 (1.6-19.7)	3.10 (0.6-74)	ns	ns	ns
Citometria (cel./mm ³)	104 (0-3.925)	0 (0-5)	17 (0-874)	ns	< 0.05	ns

ns (não significativo)

7. DISCUSSÃO

Com a introdução da TARV, a incidência de infecções oportunistas no SNC diminuiu significativamente. No entanto, ainda representam um desafio para o diagnóstico e tratamento, sendo importante causa de morbimortalidade, sobretudo em indivíduos com infecção pelo HIV não tratada ou que desconhecem sua infecção. Neste estudo retrospectivo, descrevemos os principais patógenos encontrados no LCR, assim como a correlação entre os níveis de RNA do HIV plasmático e líquido de PVHA atendidos em um hospital referência em doenças infecciosas na cidade de Manaus, Amazonas.

Em pessoas vivendo com HIV, o status de AIDS está mais associado a infecções oportunistas que podem causar doenças neurológicas. Embora a TARV seja distribuída gratuitamente no Brasil, ainda há uma importante prevalência de doenças neurológicas oportunistas (TELLES et al., 2021). Em nosso estudo, verificamos que 36,7% dos patógenos oportunistas estavam presentes em amostras de líquido cefalorraquidiano de pacientes com manifestações neurológicas que têm HIV. Os vírus da família *Herpesviridae* foram os mais comuns, representando 12,2% das amostras. O *Toxoplasma gondii* foi o próximo, com 8,9%, seguido pelo *Cryptococcus sp.* em 7,7%. O poliomavírus representou 4% e o *Mycobacterium tuberculosis* representou 0,8%. Nossos achados enfatizam a importância do diagnóstico molecular como ferramenta na identificação de agentes oportunistas causadores de infecção no SNC de PVHA, independente do status de uso da TARV.

Os herpesvírus podem causar doenças no SNC durante a infecção primária ou reativação, e têm uma alta prevalência em populações de alto risco, especialmente em PVHA. Isso porque causam aumento da morbidade e mortalidade (BALDWIN; CUMMINGS, 2018; REN et al., 2020). Estes vírus, estão fortemente associados a infecções graves, e sua reativação está quase sempre relacionada a desfechos ruins (MEYDING-LAMADÉ; STRANK, 2012; REN et al., 2020). Em nosso estudo, verificamos que os herpesvírus foram responsáveis por 12,2% dos casos de infecções oportunistas no SNC em PVHA. Inferior ao descrito na literatura. Yang e colaboradores (2017), identificaram que o herpesvírus foi responsável por 26,6% dos casos de doença neurológica. Gaeta

e colaboradores (2009), relataram que o DNA dos herpesvírus foi detectado em 33,5% amostras de LCR analisadas. Provavelmente, este baixo percentual pode ter sido devido ao uso prévio do antiviral, que pode ter levado à eliminação dos vírus e resultando na ausência do ácido nucleico detectável.

O vírus Epstein-Barr tem uma distribuição mundial, e as estimativas sugerem que a prevalência de infecção na população adulta é de aproximadamente 90%. As complicações da infecção por EBV são raramente observadas no SNC e variam de 0,5 a 7,5% como a primeira ou única manifestação neurológica (WANG; YANG; WEN, 2022). Evidências sugerem que a detecção de DNA do EBV no LCR pode estar relacionada à replicação ativa do vírus em linfócitos B e a um risco aumentado de morte (YANG et al., 2017). No entanto, outros autores observaram que a detecção de EBV no LCR pode ser limitada porque é incerto se a presença do vírus no LCR representa uma replicação ativa ou um vírus latente em células B, transportadas durante a vigilância imunológica e processos inflamatórios (WANG, YANG; WEN, 2022).

Em nosso estudo, o DNA do EBV foi detectado em 5,3% (13/245) das amostras. Neste grupo de pacientes, observou-se um perfil do líquido cefalorraquidiano inflamado com índices elevados de proteína ($M_d, 173 \text{ mg/dL}$) e celularidade ($M_d, 122 \text{ células/mm}^3$). Wang et al., (2007) descreveram que a concentração de proteína no LCR foi significativamente maior nos pacientes com EBV detectado em comparação aos que não tiveram detecção de EBV. Opitan et al., (2017) encontraram alta prevalência de EBV em 45,2% (38/84) das amostras testadas, mas não apresentaram dados sobre o perfil liquorico para esses pacientes. Em contrapartida, em um estudo realizado por Benjamin et al., (2012) no Malawi, foi observada uma alta incidência de EBV (36%) nos pacientes HIV positivos, mesmo naqueles com perfil liquorico normal. Além disso, encontramos EBV em três coinfeções, duas com CMV e uma com VZV. Especula-se que o EBV também possa ser detectado concomitantemente com outros agentes, indicando replicação ativa ou reativação devido à presença de agentes oportunistas (WANG; YANG; WEN, 2022).

A reativação do vírus da varicela zoster no sistema nervoso central está associada a várias complicações graves e potencialmente letais que geralmente ocorrem com a meningoencefalite aguda. Nas PVHA, essa reativação é mais comum quando comparado a pacientes imunocompetentes e está associada

principalmente à baixa contagem de células T CD4+ e ao aparecimento de lesões cutâneas anteriores ao envolvimento neurológico (CORTI et al., 2015). Grey et al., (1994) relataram que a reativação do VZV ocorreu em mais de 4% dos pacientes com AIDS. Em nosso estudo, o DNA de VZV foi detectado em 4% das amostras. Um estudo realizado na Zâmbia analisou amostras de 331 pacientes com HIV, e a prevalência de detecção de VZV nessa população foram 3,9% (13/331) (SIDDIQI et al., 2014).

O citomegalovírus é difundido em todo o mundo, e a infecção geralmente não causa sintomas graves na população imunocompetente. Contudo, quando presente em pacientes imunocomprometidos, particularmente PVHA, pode causar doenças graves e morte (ZHAO et al., 2020). Com o advento da TARV, as complicações neurológicas relacionadas ao CMV diminuíram. No entanto, o CMV permanece presente, e alguns fatores podem contribuir para esse cenário, como a falta de adesão ao uso de TARV ou resistência antirretrovirais. O diagnóstico tardio do HIV também pode ser um fator contribuinte (SILVA et al., 2010). As complicações neurológicas são mais frequentes em pacientes com baixas contagens de células T CD4+ (<50 células/mm³) e muitas vezes se apresentam simultaneamente com o aparecimento de sintomas em outros locais do corpo.

Em nosso estudo, o DNA do CMV foi detectado em 4% das amostras (10/245). Nesses pacientes, a mediana de células T CD4+ foi de 84 células/mm³ (intervalo: 6 – 461) e a carga viral plasmática detectável foi encontrada em 80% dos pacientes com mediana de 60.962 cópias/mL (intervalo: 176 –1.186.064). 40% (6) desses pacientes morreram. A prevalência de detecção de citomegalovírus foi de 2,4% (6/248), em estudo realizado em um centro de referência em São Paulo. Esses pacientes tinham uma contagem de células T CD4+ <50 células/mm³ e foram definidos como portadores de encefalite por CMV. Os autores também enfatizam que a encefalite por CMV é comum entre as PVHA hospitalizadas com doenças neurológicas oportunistas (LUCAS JUNIOR; BOGONI; SCHNEIDER, et al., 2022). Outro estudo de coorte observacional prospectivo, também realizado em um centro de saúde terciário brasileiro, incluiu 105 PVHA. O citomegalovírus foi o terceiro patógeno mais frequente (11,5%), sendo responsável por causar encefalite, polirradiculite e/ou retinite (TELLES et al., 2021).

A Leucoencefalopatia Multifocal Progressiva (LEMP) é uma doença desmielinizante, subaguda ou crônica causada pela reativação do vírus JC em pacientes imunocomprometidos, particularmente em PVHA (MEZA et al., 2022). A LEMP geralmente é caracterizada por déficits neurológicos focais, como hemiparesia, distúrbios de marcha e distúrbios visuais, bem como transtornos mentais (PANPALIA; ONKARAPPA; NAIK, 2020). As doenças neurológicas associadas ao HIV são uma condição oportunista importante que afeta até 5% dos pacientes com HIV sem tratamento. É classificada como condição definidora da AIDS (ABRÃO et al., 2021). Embora a incidência de LEMP entre PVHA em uso de TARV tenha diminuído, ainda é a quarta complicação neurológica mais frequente nessa população no Brasil (LOPES et al., 2019; PIZA et al. 2012).

Em nosso estudo, a frequência de detecção do JCV foi de 4% (10/245). Achados semelhantes foram relatados por Vidal et al., (2008) em um estudo realizado em São Paulo, que identificou doze (6%) casos de LEMP entre 219 pacientes com doença neurológica. Outro estudo brasileiro realizado em Goiás com 45 pacientes HIV positivos suspeitos de LEMP, confirmou a presença do vírus JC no LCR de cinco pacientes (11,1%). A contagem média de células T CD4+ foi de 54 células/mm³ e a mediana da carga viral do HIV foi de 91.984 cópias/mL. Apenas dois pacientes apresentaram resultados anormais na análise do LCR, exibindo pleocitose de 20 a 288 células/mm³ e um caso com elevação da proteína (ABRÃO et al., 2021).

Uma alta taxa de mortalidade de 50% foi observada nos pacientes que tiveram JC detectado em nosso estudo. Houve predomínio de infecções em mulheres, com 80% delas tendo o vírus JC detectado. 80% dos pacientes estavam em imunodepressão grave, com a contagem mediana de células T CD4+ de 120 células/mm³ (intervalo: 31–378) e alta carga viral plasmática do HIV com mediana de 4.551 cópias/ml (variação: 8–542,71). O líquido cefalorraquidiano desses pacientes foi normal, com mediana proteica de 45 mg/dL, mediana de glicose de 55 mg/dL e mediana de celularidade de 0 células/mm³. Esses achados enfatizam a importância da realização de um diagnóstico diferencial molecular nos casos de suspeita de LEMP, mesmo quando se observa um perfil normal do LCR. Além disso, observamos que o uso irregular da TARV foi relatado em 50% dos casos, o que pode ter contribuído para a alta taxa de mortalidade nesse grupo, uma vez que a LEMP não possui

tratamento específico e que a melhora clínica do paciente pode estar diretamente relacionada ao uso regular da TARV (GASNAUT et al. 2011; MOULIGNIER; LECLER, 2021).

As causas mais comuns de encefalite esporádica entre adultos imunocompetentes em todo o mundo são herpes simplex tipo 1 e 2. No entanto, eles raramente causam encefalite em pacientes com HIV (LI; SAX, 2009). Em nosso estudo, o HSV-1 foi detectado em apenas dois pacientes (0,8%) e o HSV-2 foi detectado em uma coinfeção com HSV-1. Resultados semelhantes foram observados por Benjamin et al., (2012), que encontraram dois casos de HSV-1 e nenhum caso de HSV-2 em suspeitos de meningite viral. A literatura indica que o HSV-1 possui uma predileção pelos lobos frontal e temporal, de modo que as manifestações neurológicas mais comuns provavelmente são emocionais e comportamentais. Por outro lado, o HSV-2 é geralmente associado a meningite (BALDWIN; CUMMINGS, 2018). Em nosso estudo, as manifestações observadas nos casos de encefalite herpética foram rebaixamento do nível da consciência, confusão mental e rigidez de nuca. Esses achados coincidem com os dados prévios da literatura.

A neurotoxoplasmose é a doença oportunista mais comum que causa lesões cerebrais em PVHA com imunodepressão avançada que não tiveram tratamento profilático (VIDAL. 2019). É causada pela reativação do protozoário *Toxoplasma gondii*, que é latente em cistos teciduais, e ocorre em 3 a 40% das PVHA (AOVTSEVAZ et al., 2020; GRAHAM et al., 2021). Em nosso estudo, apenas 72 pacientes apresentaram diagnóstico clínico de neurotoxoplasmose baseado em critérios clínicos, achados de imagem e resposta terapêutica. O DNA do *T. gondii* foi confirmado em 30,5% (22/72) das amostras de LCR, sendo o patógeno mais detectado. Semelhante a nossos achados, um estudo realizado em Gana relatou que 25% (21/84) dos pacientes HIV-positivos testaram positivo para *T. gondii* por diagnóstico molecular (OPITAN et al., 2017). Telles et al., (2021) encontraram que o *T. gondii* foi o patógeno mais detectado em amostras de LCR (36%) em estudo realizado em São Paulo. As manifestações neurológicas mais frequentes em pacientes com DNA de *T. gondii* confirmado foram cefaleia (66,7%), paresia de membros (28,5%), rebaixamento do nível de consciência e afasia (23,8%), seguida de convulsão (19%). Em nosso estudo, a mediana de contagem de células T CD4+ foi de 78 células/mm³ (intervalo: 21-

1.128) e a carga viral plasmática do HIV foi detectada em 89% com mediana de 130.070 cópias/ml (intervalo: 43-3.671.298). Estudos têm relatado que a frequência de neurotoxoplasmose está aumentada em PVHA que têm uma contagem de células T CD4+ abaixo de 100 células/mm³ (GRAHAM et al., 2021; WANG et al. 2017).

A prevalência de infecções neurológicas oportunistas nas PVHA varia de acordo com o estado imunológico, a adesão ao tratamento antirretroviral e fatores geográficos. Os sinais e sintomas podem ser inespecíficos, dificultando o diagnóstico clínico ou laboratorial. Portanto, é essencial conhecer os agentes responsáveis pelas infecções nas PVHA. Nosso estudo apresentou algumas limitações importantes. Devido à natureza retrospectiva, fomos limitados pela ausência de algumas informações clínicas e laboratoriais dos pacientes. A falta de acompanhamento impossibilitou a avaliação do impacto de nossos achados na história dos pacientes.

7.1 Carga viral do HIV no LCR e plasma

O HIV pode infectar vários sistemas do corpo, e o sistema nervoso é um dos alvos clinicamente mais relevantes (ZAYYAD; SPUDICH, 2015). A invasão do sistema nervoso central pelo HIV ocorre durante a infecção primária e pode ser detectada no líquido cefalorraquidiano da maioria das pessoas com HIV não tratadas ou inadequadamente tratadas (EDÉN et al., 2010). A replicação do HIV no sistema nervoso central desencadeia complicações neurológicas importantes. Portanto, é necessário compreender a evolução da replicação viral do HIV no SNC e suas consequências no contexto das doenças neurológicas nas PVHA. Neste estudo retrospectivo, encontramos evidências de RNA do HIV em 68,8% das amostras neurossintomáticas do LCR e demonstramos que 70% dos indivíduos apresentaram carga viral no LCR >50 cópias/mL.

A avaliação da carga viral do HIV no sistema nervoso central (SNC) para o controle da replicação tem sido abordada por vários motivos, incluindo o diagnóstico de distúrbios do SNC, distúrbios cognitivos que continuam a ocorrer apesar do uso de terapia antirretroviral (TARV), controle da replicação viral no SNC que pode resultar em danos neurológicos contínuos, e, conseqüentemente, neuroinflamação (WISTON et al., 2019). Em nosso estudo, a carga viral do HIV

no líquido cefalorraquidiano foi avaliada apenas como um marcador virológico, não como um marcador diagnóstico para distúrbios neurocognitivos associados ao HIV e ao controle da replicação.

Distúrbios neurológicos agudos e subagudos estão frequentemente relacionados à infecção direta pelo HIV no sistema nervoso central. Podem se apresentar como meningite aguda, especialmente na infecção primária, mielite e transtorno neurocognitivo associado ao HIV (HAND), que estão relacionados a lesões crônicas do SNC (CANESTRI et al., 2010). Apesar da oferta gratuita de medicamentos antirretrovirais no Brasil, os distúrbios neurológicos continuam prevalentes (CHISTO et al., 2005). Em nosso estudo, apesar da detecção do RNA do HIV no líquido cefalorraquidiano, não foi possível classificar os distúrbios neurocognitivos nesse grupo de pacientes, uma vez que essa classificação exige, além da detecção do HIV no LCR, os sintomas relatados pelos pacientes e as anormalidades observadas na realização de testes neuropsicológicos (SPUDICH; ANCES, 2011).

A carga viral do HIV representa replicação viral sistêmica, no entanto, no SNC essa replicação pode ocorrer independentemente da infecção sistêmica. (CHISTO et al., 2005). Embora a supressão da carga viral do HIV no plasma esteja bem controlada, isso nem sempre é o caso no SNC (FERRETI et al., 2015; WISTON et al. 2019). Em contraste, a carga viral do LCR e do plasma nem sempre está correlacionada e, em alguns pacientes, a carga viral no LCR pode ser maior do que a do plasma (BOIKO et al., 2022).

Em nosso estudo, a carga viral do HIV foi detectada no líquido cefalorraquidiano de seis pacientes, apesar da supressão viral plasmática. Em pacientes com status de HIV discordante, o nível mediano de RNA do HIV no LCR foi de 138 cópias/mL (variação: 52–540), e quatro desses pacientes estavam em TARV regular. A literatura mostra que a presença de RNA do HIV no compartimento do sistema nervoso central em concentrações acima do plasma é geralmente chamada de escape e/ou discordância viral, podendo evoluir para cepas resistentes ao tratamento antirretroviral (NIGHTINAGELE et al., 2016; WISTON et al., 2019). Ferreti et al., (2015) sugeriram que o escape viral pode ser observado em pacientes que não apresentam supressão prolongada durante a TARV. Nesses pacientes, o HIV plasmático resistente a antirretrovirais pode infectar o SNC e se replicar, levando a discordância. Os

mesmos autores também sugeriram que a imunodepressão avançada facilita a entrada do HIV no sistema nervoso central e sua consequente replicação.

A penetração de drogas antirretrovirais no compartimento do sistema nervoso central é limitada pela presença da BHE. Nesse contexto, tem sido abordado como um possível fator de fuga do vírus para a TARV e, conseqüentemente, o desenvolvimento de um reservatório para persistência viral e evolução de mutações de resistência (EDEN et al., 2010). Neste estudo, não correlacionamos a detecção do HIV no LCR com a eficácia da penetração antirretroviral; portanto, não podemos assumir se o escape do HIV no SNC está associado ao regime de TARV utilizado pelos pacientes. Embora os fatores associados ao escape do HIV no líquido cefalorraquidiano sejam pouco compreendidos, a literatura aponta como possíveis fatores que favorecem esse escape, baixa contagem de células T CD4+, dependência inadequada da TARV, tratamento com drogas com baixa penetração do SNC, mutações associadas à resistência aos antirretrovirais (DRAVID et al., 2018). Outro fator importante a ser destacado é a coinfeção com outros vírus; no entanto, mais pesquisas são necessárias para elucidar isso.

Nosso estudo teve algumas limitações relevantes. Devido à natureza retrospectiva, fomos limitados pela ausência de algumas informações clínicas e laboratoriais dos pacientes. Em algumas amostras de LCR não foi possível realizar todas as análises para detecção da carga viral do HIV devido volume insuficiente e isso pode ter subestimado o real número de detecção. Não pudemos avaliar o impacto clínico de nossos achados na história dos pacientes devido à ausência de acompanhamento. Apesar da ampla investigação diagnóstica, houve limitações no número patógenos específicos pelo diagnóstico de PCR, dessa forma, pode ser que existam outros patógenos associados a infecções neurológicas oportunistas nesta população.

Em resumo, este estudo destaca a importância do conhecimento epidemiológico dos agentes infecciosos frequentemente identificados no SNC de PVHA com manifestações neurológicas. Demonstra que o diagnóstico molecular sensível e disponível é imprescindível para identificar os agentes neurológicos oportunistas e dessa forma contribuir para melhor decisão clínica e terapia adequada para estes pacientes. Por outro lado, ressalta que apesar da detecção do RNA do HIV no LCR e sua aplicação na prática clínica continuarem limitadas,

esta pode ser uma importante ferramenta e deve estar disponível na rotina clínica para o diagnóstico de transtornos neurológicos associados ao HIV, avaliação de mutações de resistência e eficácia da terapia empregada, assim como na exclusão de outras doenças que acometem o SNC.

8. CONCLUSÃO

- Patógenos oportunistas foram detectados em 36,7% das amostras de LCR de PVHA com manifestações neurológicas;
- *T. gondii* é o agente oportunista mais frequente em PVHA com manifestações neurológicas;
- *Cryptococcus sp.* é o segundo patógeno mais frequente em PVHA com manifestações neurológicas;
- Os herpesvírus são frequentemente detectados nesta população e importantes causas de alterações no perfil liquórico;
- 64% dos pacientes foram classificados no estágio 3 de infecção pelo HIV;
- A carga viral do HIV no LCR foi detectada em 68,8% das PVHA;
- Existe uma baixa correlação positiva entre o nível de RNA do HIV no LCR e plasma no grupo de pacientes de nosso estudo;
- Apesar do uso de TARV, infecções oportunistas do SNC continuam prevalentes nessa população.

9. REFERÊNCIAS

1. ABRÃO, Carolina de Oliveira; SILVA, Lissa Rodrigues Machado da; SOUZA, Luiz Carlos Silva; BISSO, Nathalia de Mello; TURCHI, Marília Dalva; GUILARDE, Adriana Oliveira. AIDS-related progressive multifocal leukoencephalopathy. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [S.L.], v. 54, p. 1-4, 25 ago. 2020. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0252-2020>.
2. ALAHMARI, Abeer. Blood-Brain Barrier Overview: structural and functional correlation. **Neural Plasticity**, [S.L.], v. 2021, p. 1-10, 6 dez. 2021. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2021/6564585>.
3. ALENCAR, Samira Peixoto; SOUZA, Marlinda de Carvalho; FONSECA, Ricardo Roberto de Souza; MENEZES, Cláudia Ribeiro; AZEVEDO, Vânia Nakauth; RIBEIRO, Andre Luis Ribeiro; LIMA, Sandra Souza; LAURENTINO, Rogério Valois; BARBOSA, Maria dos Anjos de Abreu Pina; FREITAS, Felipe Bonfim. Prevalence and Molecular Epidemiology of Human T-Lymphotropic Virus (HTLV) Infection in People Living With HIV/AIDS in the Pará State, Amazon Region of Brazil. **Frontiers In Microbiology**, [S.L.], v. 11, p. 11-23, 22 out. 2020. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2020.572381>.
4. ALMEIDA, Sérgio Monteiro de. Cerebrospinal fluid analysis in the HIV infection and compartmentalization of HIV in the central nervous system. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, [S.L.], v. 73, n. 7, p. 624-629, jul. 2015. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/0004-282x20150071>.
5. ALVAREZ, J. C. et al. Varicella-Zoster Virus Meningitis and Encephalitis: An Understated Cause of Central Nervous System Infections. [s.d.].

6. AYELE, Biniyam A.; AMOGNE, Wondwossen. Central Nervous System Tuberculosis (CNS-TB) in treated HIV-infected adults in Tikur Anbessa Specialized Hospital, Ethiopia: a cross sectional study. **Journal Of Clinical Tuberculosis And Other Mycobacterial Diseases**, [S.L.], v. 24, p. 100252, ago. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jctube.2021.100252>.
7. AZOVTSEVA, O. V.; VIKTOROVA, E. A.; BAKULINA, E. G.; SHELOMOV, A. S.; TROFIMOVA, T. N.. Cerebral toxoplasmosis in HIV-infected patients over 2015–2018 (a case study of Russia). **Epidemiology And Infection**, [S.L.], v. 148, p. 1-6, 29 abr. 2020. Cambridge University Press (CUP). <http://dx.doi.org/10.1017/s0950268820000928>.
8. BACELLAR, H.; MUNOZ, A.; MILLER, E. N.; COHEN, B. A.; BESLEY, D.; SEINES, O. A.; BECKER, J. T.; MCARTHUR, J. C.. Temporal trends in the incidence of HTV-1-related neurologic diseases: multicenter aids cohort study, 1985-1992. **Neurology**, [S.L.], v. 44, n. 10, p. 1892-1892, 1 out. 1994. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1212/wnl.44.10.1892>.
9. BALCOM, Ef; RODA, Wc; COHEN, Ea; LI, My; POWER, C. HIV-1 persistence in the central nervous system: viral and host determinants during antiretroviral therapy. **Current Opinion In Virology**, [S.L.], v. 38, p. 54-62, out. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.coviro.2019.06.004>
10. BALDWIN, Kelly J.; CUMMINGS, Christopher L.. Herpesvirus Infections of the Nervous System. **Continuum: Lifelong Learning in Neurology**, [S.L.], v. 24, n. 5, p. 1349-1369, out. 2018. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1212/con.0000000000000661>.
11. BENJAMIN, L. A.; KELLY, M.; COHEN, D.; NEUHANN, F.; GALBRAITH, S.; MALLEWA, M.; HOPKINS, M.; HART, I. J.; GUIVER, M.; LALLOO, D. G.. Detection of herpes viruses in the cerebrospinal fluid of adults with suspected viral meningitis in Malawi. **Infection**, [S.L.], v. 41, n. 1, p. 27-

- 31, 14 jul. 2012. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s15010-012-0292-z>.
12. BHARUCHA, Tehmina; HOULIHAN, Catherine F.; BREUER, Judith. Herpesvirus Infections of the Central Nervous System. **Seminars In Neurology**, [S.L.], v. 39, n. 03, p. 369-382, jun. 2019. Georg Thieme Verlag KG. <http://dx.doi.org/10.1055/s-0039-1687837>.
13. BOMFIM. Q.R.M et al. Revista Ceuma Perspectivas, vol. 31, 2018. ISSN Eletrônico: 2525-5576. v. 31, p. 86–100, 2018.
14. BORON, W. F. Fisiologia médica / Walter F. Boron, Emile L. Boulpaep; [tradução Daniella do Carmo [et al.]. - 2 ed. - Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.
15. BOWEN, Lauren N.; SMITH, Bryan; REICH, Daniel; QUEZADO, Martha; NATH, Avindra. HIV-associated opportunistic CNS infections: pathophysiology, diagnosis and treatment. **Nature Reviews Neurology**, [S.L.], v. 12, n. 11, p. 662-674, 27 out. 2016. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nrneurol.2016.149>.
16. BRASIL. Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico HIV/AIDS/ Número Especial Dez 2021. **Ministério da Saúde**, 2021. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2021/boletim-epidemiologico-hivaid-2021>. Acesso em: 13/05/2022.
17. BRASIL. Ministério da Saúde. Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para manejo da infecção pelo HIV em adultos. **Ministério da Saúde**, 2013.
18. BRODT, H Reinhard; KAMPS, Bernd S.; GUTE, Peter; KNUPP, Bernhard; STASZEWSKI, Shlomo; HELM, Eilke B.. Changing incidence of AIDS-

- defining illnesses in the era of antiretroviral combination therapy. **Aids**, [S.L.], v. 11, n. 14, p. 1731-1738, nov. 1997. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/00002030-199714000-00010>.
19. CANESTRI, Ana; LESCURE, François-Xavier; JAUREGUIBERRY, Stephane; MOULIGNIER, Antoine; AMIEL, Corinne; MARCELIN, Anne Geneviève; PEYTAVIN, Gilles; TUBIANA, Roland; PIALOUX, Gilles; KATLAMA, Christine.
20. Discordance Between Cerebral Spinal Fluid and Plasma HIV Replication in Patients with Neurological Symptoms Who Are Receiving Suppressive Antiretroviral Therapy. **Clinical Infectious Diseases**, [S.L.], v. 50, n. 5, p. 773-778, mar. 2010. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1086/650538>.
21. CANUTO, R.; PUCCIONI-SOHLER, M. In: PUCCIONI-SOHLER, M. Fundamentos do exame do líquido cefalorraquidiano Diagnóstico laboratorial das infecções do sistema nervoso central. **Biblioteca Nacional**, v. 11, p. 15-010615-V04, 2007.
22. CDC, *Centers for Disease Control and Prevention*. Revised surveillance case definition for HIV infection--United States, 2014. *MMWR Recomm Rep*. 2014 Apr 11;63(RR-03):1-10. PMID: 24717910.
23. CHRISTO, P. P. *Aids e Sistema Nervoso*. p. 729–741, 2008.
24. CHRISTO, Paulo Pereira. Alterações cognitivas na infecção pelo HIV e Aids. **Revista da Associação Médica Brasileira**, [S.L.], v. 56, n. 2, p. 242-247, 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1590/s0104-42302010000200027>.
25. CONNOLLY, Sarah A.; JARDETZKY, Theodore S.; LONGNECKER, Richard. The structural basis of herpesvirus entry. **Nature Reviews Microbiology**, [S.L.], v. 19, n. 2, p. 110-121, 21 out. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41579-020-00448-w>.
26. CORTI, Marcelo; VILLAFANE, María F.; VITTAR, Natalia; BANCO, María C.; PRIARONE, Maia; MAMMANA, Lilia; GILARDI, Leonardo. Meningoencephalitis due to Varicella Zoster Virus in AIDS patients. Report of eleven cases and review of the literature. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, [S.L.], v. 57, n. 6, p. 505-508, dez.

2015. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0036-46652015000600007>.
27. COSTA, Bruna Klein da; SATO, Douglas Kazutoshi. Viral encephalitis: a practical review on diagnostic approach and treatment. **Jornal de Pediatria**, [S.L.], v. 96, p. 12-19, mar. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jped.2019.07.006>.
28. DANDO, Samantha J.; MACKAY-SIM, Alan; NORTON, Robert; CURRIE, Bart J.; JOHN, James A. St.; EKBERG, Jenny A. K.; BATZLOFF, Michael; ULETT, Glen C.; BEACHAM, Ifor R.. Pathogens Penetrating the Central Nervous System: infection pathways and the cellular and molecular mechanisms of invasion. **Clinical Microbiology Reviews**, [S.L.], v. 27, n. 4, p. 691-726, out. 2014. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/cmr.00118-13>.
29. DANEMAN, R; PRATA, A. The blood-brain barrier. **Cold Spring Harb Perspect Biol.** 2015 Jan 5;7(1):a020412. doi: 10.1101/cshperspect.a020412.
30. DASGUPTA, Krishnakali; JEONG, Juhee. Developmental biology of the meninges. **Genesis**, [S.L.], v. 57, n. 5, p. 23288, 13 mar. 2019. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/dvg.23288>.
31. DOMÍNGUEZ-GIL, Marta; ARTERO, Arturo; OTEO, José Antonio; EIROS, José María. Virología: diagnóstico sindrómico de meningitis y encefalitis. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, [S.L.], v. 38, p. 19-23, jan. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2020.02.004>.
32. DRAVID, Ameet N.; NATRAJAN, Kartik; KULKARNI, Milind M.; SARAF, Chinmay K.; MAHAJAN, Uma S.; KORE, Sachin D.; RATHOD, Niranjan M.; MAHAJAN, Umakant S.; WADIA, Rustom S.. Discordant CSF/plasma HIV-1 RNA in individuals on virologically suppressive antiretroviral therapy in Western India. **Medicine**, [S.L.], v. 97, n. 8, p. 9969, fev. 2018. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/md.0000000000009969>.
33. DUBEY JP. The history of *Toxoplasma gondii*--the first 100 years. **J Eukaryot Microbiol.** 2008 Nov-Dec;55(6):467-75. doi: 10.1111/j.1550-7408.2008.00345.x. PMID: 19120791.

34. EDÉN, Arvid; FUCHS, Dietmar; HAGBERG, Lars; NILSSON, Staffan; SPUDICH, Serena; SVENNERHOLM, Bo; PRICE, Richard W.; GISSLÉN, Magnus. HIV-1 Viral Escape in Cerebrospinal Fluid of Subjects on Suppressive Antiretroviral Treatment. **The Journal Of Infectious Diseases**, [S.L.], v. 202, n. 12, p. 1819-1825, 15 dez. 2010. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1086/657342>.
35. EGELUND, Gertrud Baunbæk; ERTNER, Gideon; KRISTENSEN, Kristina Langholz; JENSEN, Andreas Vestergaard; BENFIELD, Thomas L.; BRANDT, Christian T.. Cerebrospinal fluid pleocytosis in infectious and noninfectious central nervous system disease. **Medicine**, [S.L.], v. 96, n. 18, p. 6686, maio 2017. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/md.0000000000006686>.
36. ELSHEIKHA, H. M.; MARRA, C. M.; ZHU, X. Q. Epidemiology, pathophysiology, diagnosis, and management of cerebral toxoplasmosis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 34, n. 1, p. 1–28, 2020.
37. FERREIRA, Roberta Costa Santos; RIFFEL, Alessandro; SANT'ANA, Antônio Euzébio Goulart. HIV: mecanismo de replicação, alvos farmacológicos e inibição por produtos derivados de plantas. **Química Nova**, [S.L.], v. 33, n. 8, p. 1743-1755, 2010. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422010000800023>.
38. FERRETTI, Francesca; GISSLEN, Magnus; CINQUE, Paola; PRICE, Richard W.. Cerebrospinal Fluid HIV Escape from Antiretroviral Therapy. *Current Hiv/Aids Reports*, [S.L.], v. 12, n. 2, p. 280-288, 10 abr. 2015. **Springer Science and Business Media LLC**. <http://dx.doi.org/10.1007/s11904-015-0267-7>.
39. GAETA, V.; CRISTINA, L.M; MANCINI, C; NAZZARI, C. Diagnosis of neurological herpesvirus infections: real time PCR in cerebral spinal fluid analysis. *New Microbiol.* 2009 Oct;32(4):333-40. PMID: 20128439.

40. GALLO, R. C. et al. Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and at risk for AIDS. *Science*, 1984.
41. GALLO, Robert C.; MONTAGNIER, Luc. The Discovery of HIV as the Cause of AIDS. **New England Journal Of Medicine**, [S.L.], v. 349, n. 24, p. 2283-2285, 11 dez. 2003. Massachusetts Medical Society. <http://dx.doi.org/10.1056/nejmp038194>.
42. GASNAULT, Jacques; COSTAGLIOLA, Dominique; HENDEL-CHAVEZ, Houria; DULIOUST, Anne; PAKIANATHER, Sophie; MAZET, Anne-Aurélie; HERVE, Marie-Ghislaine de Goer de; LANCAR, Rémi; LASCAUX, Anne-Sophie; PORTE, LYDIE. Improved Survival of HIV-1-Infected Patients with Progressive Multifocal
43. Leukoencephalopathy Receiving Early 5-Drug Combination Antiretroviral Therapy. **Plos One**, [S.L.], v. 6, n. 6, p. 20967, 30 jun. 2011. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0020967>.
44. GATHERER, D. et al. ICTV virus taxonomy profile: Herpesviridae 2021. **Journal of General Virology**, v. 102, n. 10, p. 1–2, 2021.
45. GELDERBLOM HR. Assembly and morphology of HIV: potential effect of structure on viral function. **AIDS**. 5:617–637, 1991.
46. GOMES, Hélio Rodrigues. Cerebrospinal fluid analysis: current diagnostic methods in central nervous system infectious diseases. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, [S.L.], v. 80, n. 51, p. 290-295, maio 2022. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/0004-282x-anp-2022-s114>.
47. GRAHAM, Alice K.; FONG, Crystal; NAQVI, Asghar; LU, Jian-Qiang. Toxoplasmosis of the central nervous system: manifestations vary with immune responses. **Journal Of The Neurological Sciences**, [S.L.], v. 420, p. 117223, jan. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jns.2020.117223>.

48. GREENE, Warner C.; PETERLIN, B. Matija. Charting HIV's remarkable voyage through the cell: basic science as a passport to future therapy. **Nature Medicine**, [S.L.], v. 8, n. 7, p. 673-680, jul. 2002. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nm0702-673>.
49. GRAY, F.; BÉLEC, L.; LESCS, M. C.; CHRÉTIEN, F.; CIARDI, A.; HASSINE, D.; FLAMENT-SAILLOUR, M.; TRUCHIS, P. de; CLAIR, B.; SCARAVILLI, F.. Varicella-zoster virus infection of the central nervous system in the acquired immune deficiency syndrome. **Brain**, [S.L.], v. 117, n. 5, p. 987-999, 1994. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/brain/117.5.987>.
50. GUZMÁN-DE-VILLORIA, J.A.; FERNÁNDEZ-GARCÍA, P.; BORREGO-RUIZ, P.J.. Urgencias neurológicas en el paciente inmunosuprimido no VIH. **Radiología**, [S.L.], v. 59, n. 1, p. 2-16, jan. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rx.2016.09.007>.
51. HANANIYA, H. S.; ELLA, E. E.; AMINU, M.; ANYANWU, N. C. J.. Prevalence of human T-cell lymphotropic virus and the socio-demographic and risk factors associated with the infection among post-natal clinics women in Zaria,
52. Nigeria. **Journal Of Immunoassay And Immunochemistry**, [S.L.], v. 40, n. 5, p. 485-494, 24 jul. 2019. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/15321819.2019.1636817>.
53. HUY, Nguyen T; THAO, Nguyen Th; DIEP, Doan Tn; KIKUCHI, Mihoko; ZAMORA, Javier; HIRAYAMA, Kenji. Cerebrospinal fluid lactate concentration to distinguish bacterial from aseptic meningitis: a systemic review and meta-analysis. **Critical Care**, [S.L.], v. 14, n. 6, p. 240, 2010. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/cc9395>.
54. ICVT. *International Committee on Taxonomy of Viruses*. Disponível em: <https://ictv.global/taxonomy>. Acesso em: 27/11/2022.
55. JOSEPHSON, S.; RICHIE, Megan. A Practical Approach to Meningitis and Encephalitis. **Seminars In Neurology**, [S.L.], v. 35, n. 06, p. 611-620, 23

- nov. 2015. Georg Thieme Verlag KG. <http://dx.doi.org/10.1055/s-0035-1564686>.
56. KADRY, H.; NOORANI, B.; CUCULLO, L. A blood-brain barrier overview on structure, function, impairment, and biomarkers of integrity. **Fluids Barriers CNS**, v. 17, p. 69, 2020.
57. KATZ, Richard A.; SKALKA, Anna Marie. THE RETROVIRAL ENZYMES. **Annual Review Of Biochemistry**, [S.L.], v. 63, n. 1, p. 133-173, jun. 1994. Annual Reviews. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.bi.63.070194.001025>.
58. KENNEDY, Peter G. E.. An overview of viral infections of the nervous system in the immunosuppressed. **Journal Of Neurology**, [S.L.], v. 268, n. 8, p. 3026-3030, 13 out. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00415-020-10265-z>.
59. KOYUNCU, Orkide O.; HOGUE, Ian B.; ENQUIST, Lynn W.. Virus Infections in the Nervous System. **Cell Host & Microbe**, [S.L.], v. 13, n. 4, p. 379-393, abr. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chom.2013.03.010>.
60. LAURENTINO, Rv; LOPES, Igl; AZEVEDO, Vn; MACHADO, Lfa; MOREIRA, Mrc; LOBATO, L; ISHAK, Mog; ISHAK, R; VALLINOTO, Acr. Molecular characterization of human T-cell lymphotropic virus coinfecting human immunodeficiency virus 1 infected patients in the Amazon region of Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [S.L.], v. 100, n. 4, p. 371-376, jul. 2005. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0074-02762005000400006>.
61. LEVY JA. *HIV e a Patogênese da AIDS*. 3ª edição. Washington: ASM Press; 2007.

62. LI, JZ, SAX, PE. HSV-1 encephalitis complicated by cerebral hemorrhage in an HIV-positive person. **AIDS Read**. 2009 Apr;19(4):153-5. PMID: 19388182.
63. LIN MH, Chen TC, Kuo TT, Tseng CC, Tseng CP. Real-time PCR for quantitative detection of *Toxoplasma gondii*. *J Clin Microbiol*. 2000;38(11):4121-4125. doi:10.1128/JCM.38.11.4121-4125.2000.
64. LOPES, Cesar Castello Branco; CRIVILLARI, Murillo; PRADO, José Carlos Mann; FERREIRA, Cristiane Rubia; SANTOS, Pedro José dos; TAKAYASU, Vilma; LABORDA, Lorena Silva. Progressive multifocal leukoencephalopathy: a challenging diagnosis established at autopsy. **Autopsy And Case Reports**, [S.L.], v. 9, n. 1, p. 1-6, 2019. Editora Cubo. <http://dx.doi.org/10.4322/acr.2018.063>.
65. LOPES, M. S. S. N.; PROIETTI, A. B. F. C. Transfusion-transmitted HTLV-1 /2 and hemovigilance: The contribution of look-back studies [HTLV-1/2 transfusional
66. e hemovigilância: A contribuição dos estudos de look-back]. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, 2008.
67. LUCAS JÚNIOR, Rodovaldo M; BOGONI, Giuliane; SCHNEIDER, Gustavo A Reis; SOUZA, Nidyanara F Castanheira de; CARVALHO, Maria Kassab; VIDAL, José Ernesto. AIDS-related cytomegalovirus encephalitis in the late ART era: a retrospective cohort study at a referral center in brazil. **International Journal Of Std & Aids**, [S.L.], p. 095646242211246, 6 set. 2022. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1177/09564624221124697>.

68. LUCIWIW PA. Human immunodeficiency viruses and their replication. In: Fields BN, editor. **Virology**. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1996. pp. 1881–1952.
69. LUPIA, Tommaso; MILIA, Maria Grazia; ATZORI, Cristiana; GIANELLA, Sara; AUDAGNOTTO, Sabrina; IMPERIALE, Daniele; MIGHETTO, Lorenzo; PIRRIATORE, Veronica; GREGORI, Gabriella; LIPANI, Filippo. Presence of Epstein–Barr virus DNA in cerebrospinal fluid is associated with greater HIV RNA and inflammation. **Aids**, [S.L.], v. 34, n. 3, p. 373-380, 1 mar. 2020. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/qad.0000000000002442>.
70. MALDONADO, G. C. et al. Estudo clínico de sarcoma de Kaposi em pacientes com HIV/AIDS, de 1985-1994 e 2005-2014. **Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto**, v. 14, n. 0, p. 36–41, 2015.
71. MARKOULATOS, P.; SIAFAKAS, N.; MONCANY, M.. Multiplex polymerase chain reaction: a practical approach. **Journal Of Clinical Laboratory Analysis**, [S.L.], v. 16, n. 1, p. 47-51, 2002. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jcla.2058>.
72. MARTIN, Jessica; MALDONADO, José; MUELLER, Joachim; ZHANG, Wei; MANSKY, Louis. Molecular Studies of HTLV-1 Replication: an update. **Viruses**, [S.L.], v. 8, n. 2, p. 31, 27 jan. 2016. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/v8020031>.
73. MARTINEZ, Michael P.; AL-SALEEM, Jacob; GREEN, Patrick L.. Comparative virology of HTLV-1 and HTLV-2. **Retrovirology**, [S.L.], v. 16, n. 1, p. 16-21, 7 ago. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12977-019-0483-0>.
74. MATINELLA, Angela; LANZAFAME, M.; BONOMETTI, M. A.; GAJOFATTO, A.; CONCIA, E.; VENTO, S.; MONACO, S.; FERRARI, S.. Neurological complications of HIV infection in pre-HAART and HAART era: a retrospective study. **Journal Of Neurology**, [S.L.], v. 262, n. 5, p.

- 1317-1327, 1 abr. 2015. Springer Science and Business Media LLC.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00415-015-7713-8>.
75. MELHUIH, A.; LEWTHWAITE, P. Natural history of HIV and AIDS. **Medicine (United Kingdom)**, v. 46, n. 6, p. 356–361, 2018.
76. MENDEZ, Oscar A.; KOSHY, Anita A.. Toxoplasma gondii: entry, association, and physiological influence on the central nervous system. **Plos Pathogens**, [S.L.], v. 13, n. 7, p. 1006351, 20 jul. 2017. Public Library of Science (PLoS).
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1006351>.
77. MEYDING-LAMADÉ, Uta; STRANK, Cornelia. Herpesvirus infections of the central nervous system in immunocompromised patients. **Therapeutic Advances In Neurological Disorders**, [S.L.], v. 5, n. 5, p. 279-296, set. 2012. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1177/1756285612456234>.
78. MEZA, L.F.; WALIA, R.; BUDDHDEV, B.; MULEY, S.; TOKMAN, S. Progressive Multifocal Leukoencephalopathy Presenting as Expressive Aphasia in a Lung Transplant Recipient. **The Journal Of Heart And Lung Transplantation**, [S.L.], v. 41, n. 4, p. 281, abr. 2022. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.healun.2022.01.690>.
79. MORENO, C. et al. Diagnóstico serológico de HTLV-1/2: Combinación de técnicas de tamizaje para definir el estatus serológico en donantes de sangre. **Revista Argentina de Microbiología**, v. 45, n. 3, p. 165–168, 2013.
80. MOULIGNIER, A.; LECLER, A. Complications neurologiques de l'infection par le virus JC: revue générale. **La Revue de Médecine Interne**, [S.L.], v.

- 42, n. 3, p. 177-185, mar. 2021. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.revmed.2020.08.021>.
81. MURAKAMI, Tomoyuki; ONO, Akira. HIV-1 entry: duels between env and host antiviral transmembrane proteins on the surface of virus particles. **Current Opinion In Virology**, [S.L.], v. 50, p. 59-68, out. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.coviro.2021.07.005>.
82. NAGEL, Maria A.; NIEMEYER, Christy S.; BUBAK, Andrew N.. Central nervous system infections produced by varicella zoster virus. **Current Opinion In Infectious Diseases**, [S.L.], v. 33, n. 3, p. 273-278, jun. 2020. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health).
<http://dx.doi.org/10.1097/qco.0000000000000647>.
83. NIGHTINGALE, Sam; GERETTI, Anna Maria; BELOUKAS, Apostolos; FISHER, Martin; WINSTON, Alan; ELSE, Laura; NELSON, Mark; TAYLOR, Stephen; USTIANOWSKI, Andrew; AINSWORTH, Jonathan. Discordant CSF/plasma HIV-1 RNA in patients with unexplained low-level viraemia. **Journal Of Neurovirology**, [S.L.], v. 22, n. 6, p. 852-860, 18 maio 2016. Springer Science and Business Media LLC.
<http://dx.doi.org/10.1007/s13365-016-0448-1>.
84. OLIVAL, Guilherme Sciascia do; LIMA, Bruna Mendonca; SUMITA, Laura M.; SERAFIM, Vitor; FINK, Maria Cristina; NALI, Luis Henrique; ROMANO, Camila Malta; THOMAZ, Rodrigo Barbosa; CAVENAGHI, Vitor Breseghello; TILBERY, Charles Peter. Multiple sclerosis and herpesvirus interaction. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, [S.L.], v. 71, n. 9, p. 727-730, set. 2013. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/0004-282x20130160>.
85. OPINTAN, A, Japheth; AWADZI, Benedict K; BINEY, Isaac J K; GANU, Vincent; DOE, Richard; KENU, Ernest; ADU, Rita F; OSEI, Mary M; AKUMWENA, Amos; GRIGG, Michael e. High rates of cerebral toxoplasmosis in HIV patients presenting with meningitis in Accra,

- Ghana. **Transactions Of The Royal Society Of Tropical Medicine And Hygiene**, [S.L.], v. 111, n. 10, p. 464-471, 1 out. 2017. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/trstmh/trx083>.
86. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Definições de casos de HIV da OMS de 2007 para vigilância e estadiamento clínico revisado e classificação imunológica de doenças relacionadas ao HIV em adultos e crianças. <https://www.who.int/hiv/pub/guidelines/HIVstaging150307.pdf> . Acesso em 12 de outubro de 2022.
87. PALUDAN, Søren R.; BOWIE, Andrew G.; HORAN, Kristy A.; FITZGERALD, Katherine A.. Recognition of herpesviruses by the innate immune system. **Nature Reviews Immunology**, [S.L.], v. 11, n. 2, p. 143-154, 25 jan. 2011. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nri2937>.
88. PANG, Wenwen; SHANG, Pengcheng; LI, Qingfeng; XU, Jiao; BI, Lei; ZHONG, Jing; PEI, Xiaofang. Prevalence of Opportunistic Infections and Causes of Death among Hospitalized HIV-Infected Patients in Sichuan, China. **The Tohoku Journal Of Experimental Medicine**, [S.L.], v. 244, n. 3, p. 231-242, 2018. Tohoku University Medical Press. <http://dx.doi.org/10.1620/tjem.244.231>.
89. PANPALIA, Nikhilg; ONKARAPPA, Sarojaa; NAIK, Karkalr. Retrospective Hospital-based Study of Opportunistic Neuroinfections in HIV/AIDS. **Neurology India**, [S.L.], v. 68, n. 4, p. 875, 2020. Medknow. <http://dx.doi.org/10.4103/0028-3886.293440>.
90. PARUK, Hoosain Faruk; BHIGJEE, Ahmed Iqbal. Review of the neurological aspects of HIV infection. **Journal Of The Neurological Sciences**, [S.L.], v. 425, p. 117453, jun. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jns.2021.117453>.
91. PIZA, F, Fink MC; NOGUEIRA, GS,; PANNUTI CS, Oliveira AC; VIDAL JE. JC virus-associated central nervous system diseases in HIV-infected patients in Brazil: clinical presentations, associated factors with mortality

- and outcome. *Braz J Infect Dis.* 2012 Mar-Apr;16(2):153-6. PMID: 22552457.
92. POIESZ, Bernard J.; RUSCETTI, Francis W.; GAZDAR, Adi F.; BUNN, Paul A.; MINNA, John D.; GALLO, Robert C.. Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous T-cell lymphoma. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, [S.L.], v. 77, n. 12, p. 7415-7419, dez. 1980. Proceedings of the National Academy of Sciences. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.77.12.7415>.
93. PRESAS-RODRÍGUEZ, S.; GRAU-LÓPEZ, L.; HERVÁS-GARCÍA, J.V.; MASSUET-VILAMAJÓ, A.; RAMO-TELLO, C.. Mielitis. Diferencias entre esclerosis múltiple y otras etiologías. **Neurología**, [S.L.], v. 31, n. 2, p. 71-75, mar. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nrl.2015.07.006>.
94. PUCCIONI-SOHLER, M. Diagnóstico de neuroinfecção com abordagem dos exames do líquido cefalorraquidiano e neuroimagem. Rio de Janeiro: Editora Rubio, 2008.
95. RATNER, Lee. Molecular biology of human T cell leukemia virus. **Seminars In Diagnostic Pathology**, [S.L.], v. 37, n. 2, p. 104-109, mar. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1053/j.semmp.2019.04.003>.
96. REINHOLD, A.; RITTNER, H. Barrier function in the peripheral and central nervous system—a review. **Pflugers Archiv European Journal of Physiology**, v. 469, n. 1, p. 123–134, 2017.
97. REN, Li; WANG, Binghui; MIAO, Zhijiang; LIU, Pan; ZHOU, Shiyi; FENG, Yun; YANG, Shuting; XIA, Xueshan; WANG, Kunhua. A correlation analysis of HHV infection and its predictive factors in an HIV-seropositive population in Yunnan, China. **Journal Of Medical Virology**, [S.L.], v. 92, n. 3, p. 295-301, 18 nov. 2019. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jmv.25609>.

98. RIBEIRO, M. L. et al. HTLV 1/2 prevalence and risk factors in individuals with HIV/AIDS in Pernambuco, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 52, n. June 2018, p. 0–2, 2019.
99. ROIZMAN, B.; KNIPE, D. M.; WHITLEY, R. J. Herpes Simplex Viruses. In: KNIPE, D. M. e HOWLEY, P. M. (Ed.). **Fields Virology**. fifth. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, v.2, 2007. p.2502–2601.
100. ROSADAS, C.; PUCCIONI-SOHLER, M. Relevance of retrovirus quantification in cerebrospinal fluid for neurologic diagnosis. **Journal of Biomedical Science**, v. 22, n. 1, p. 1–6, 2015.
101. SANTOS, Edwiges Motta; SILVA, Marcus Tullius T.; LIMA, Marco Antonio. Progressive multifocal leukoencephalopathy in a HIV/HTLV co-infected patient. **Journal Of The Neurological Sciences**, [S.L.], v. 325, n. 1-2, p. 174-175, fev. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jns.2012.12.010>.
102. SHARP, P. M.; HAHN, B. H.. Origins of HIV and the AIDS Pandemic. **Cold Spring Harbor Perspectives In Medicine**, [S.L.], v. 1, n. 1, p. 006841-006841, 1 set. 2011. Cold Spring Harbor Laboratory. <http://dx.doi.org/10.1101/cshperspect.a006841>.
103. SIDDIQI, O. K.; GHEBREMICHAEL, M.; DANG, X.; ATADZHANOV, M.; KAONGA, P.; KHOURY, M. N.; KORALNIK, I. J.. Molecular Diagnosis of Central Nervous System Opportunistic Infections in HIV-Infected Zambian Adults. **Clinical Infectious Diseases**, [S.L.], v. 58, n. 12, p. 1771-1777, 25 mar. 2014. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/cid/ciu191>.
104. SILVA, Camila Almeida; OLIVEIRA, Augusto C. Penalva de; VILASBOAS, Lucy; FINK, Maria Cristina D.s.; PANNUTI, Cláudio S.; VIDAL, José E.. Neurologic cytomegalovirus complications in patients with AIDS: retrospective review of 13 cases and review of the literature. **Revista do**

- Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, [S.L.], v. 52, n. 6, p. 305-310, dez. 2010. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0036-46652010000600004>.
105. SKRIPULETZ, T. et al. Varicella zoster virus infections in neurological patients: A clinical study. **BMC Infectious Diseases**, v. 18, n. 1, p. 1–11, 2018.
106. SOUSA JUNIOR, Ivanildo Pedro de; MACHADO, Raiana Scerni; BURLANDY, Fernanda Marcicano; SILVA, Edson Elias da. Detection and characterization of a coxsackievirus B2 strain associated with acute meningoencephalitis, Brazil, 2018. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Rio de Janeiro, v. 54, n. 20190499, p. 13-54, 24 ago. 2020. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0499-2019>.
107. SPUDICH SS, ANCES BM. Central nervous system complications of HIV infection. **Top Antivir Med**. 2011 May-Jun;19(2):48-57. PMID: 21868822; PMCID: PMC6148949.
108. TELLES, J. P; FERNANDES, R; BARROS, T.D; MAESTRI, A; VITORIANO, T; BORGES, L; TEIXEIRA, R; MARCUSSO, R; HAZIOT, M; DE OLIVEIRA, A. P; VIDAL, J.E. Neurological manifestations in people living with HIV/AIDS in the late cART era: a prospective observational study at a tertiary healthcare center in São Paulo, Brazil. **HIV Res Clin Pract**. 2021 Aug;22(4):87-95. Epub 2021 Sep 16. PMID: 34529920.
109. THAKUR, Kiran T.. CNS infections in HIV. **Current Opinion In Infectious Diseases**, [S.L.], v. 33, n. 3, p. 267-272, jun. 2020. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/qco.0000000000000652>.
110. THAKUR, Kiran T.; BOUBOUR, Alexandra; SAYLOR, Deanna; DAS, Mitashee; BEARDEN, David R.; BIRBECK, Gretchen L.. Global HIV neurology. **Aids**, [S.L.], v. 33, n. 2, p. 163-184, 1 fev. 2019. Ovid

Technologies (Wolters Kluwer Health).
<http://dx.doi.org/10.1097/qad.0000000000001796>.

111. TUMANI, H.; HUSS, A.; BACHHUBER, F. **The cerebrospinal fluid and barriers – anatomic and physiologic considerations**. 1. ed. [s.l.] Elsevier B.V., 2017. v. 146.
112. UNAIDS. Estatísticas globais sobre o HIV/AIDS. Ministério da Saúde. Disponível em: <https://unaid.org.br/estatisticas/>. Acesso em: 13/05/2022.
113. VIDAL, J.E.; PENALVA DE OLIVEIRA, A.C.; FINK, M.C.D.S.; PANNUTI, C.S. & TRUJILLO, J.R. - AIDS-related progressive multifocal leukoencephalopathy: a retrospective study in a referral center in São Paulo, Brazil. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 50(4): 209-212, 2008.
114. VIDAL, José Ernesto. HIV-Related Cerebral Toxoplasmosis Revisited: current concepts and controversies of an old disease. **Journal Of The International Association Of Providers Of Aids Care (Jiapac)**, [S.L.], v. 18, p. 232595821986731, 1 jan. 2019. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1177/2325958219867315>.
115. VIGWEB. Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado. **FMT-HVD**, 2022. Disponível em: http://www.fmt.am.gov.br/layout2011/vigiweb/vg_2022/CustomView1list.asp. Acesso em: 13/05/2022.
116. VINNARD, Christopher; MACGREGOR, Rob Roy. Tuberculous meningitis in HIV-infected individuals. **Current Hiv/Aids Reports**, [S.L.], v. 6, n. 3, p. 139-145, 14 jul. 2009. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11904-009-0019-7>.
117. WANG, J; A OZZARD, NATHAN, M; ATKINS, M; NELSON, M; GAZZARD, B; BOWER, M. The significance of Epstein Barr virus detected in the cerebrospinal fluid of people with HIV infection. **Hiv Medicine**, [S.L.]

- v. 8, n. 5, p. 306-311, jul. 2007. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1468-1293.2007.00475.x>.
118. WANG, Yanli; YANG, Jun; WEN, Ying. Lessons from Epstein-Barr virus DNA detection in cerebrospinal fluid as a diagnostic tool for EBV-induced central nervous system dysfunction among HIV-positive patients. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [S.L.], v. 145, p. 112392, jan. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112392>.
119. WANG, Ze-Dong; WANG, Shu-Chao; LIU, Huan-Huan; MA, Hong-Yu; LI, Zhong-Yu; WEI, Feng; ZHU, Xing-Quan; LIU, Quan. Prevalence and burden of Toxoplasma gondii infection in HIV-infected people: a systematic review and meta-analysis. **The Lancet HIV**, [S.L.], v. 4, n. 4, p. 177-188, abr. 2017. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s2352-3018\(17\)30005-x](http://dx.doi.org/10.1016/s2352-3018(17)30005-x).
120. WHITLEY, R. Herpesvirus infections of the central nervous system. **Herpes**, v. 11, n. SUPPL. 2, 2019.
121. WHITLEY, Richard J.. Herpes simplex encephalitis: adolescents and adults. **Antiviral Research**, [S.L.], v. 71, n. 2-3, p. 141-148, set. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.antiviral.2006.04.002>.
122. WINSTON, Alan; ANTINORI, Andrea; CINQUE, Paola; FOX, Howard S.; GISSLEN, Magnus; HENRICH, Timothy J.; LETENDRE, Scott; PERSAUD, Deborah; PRICE, Richard W.; SPUDICH, Serena. Defining cerebrospinal fluid HIV RNA escape. **Aids**, [S.L.], v. 33, n. 2, p. 107-111, 1 dez. 2019. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/qad.0000000000002252>.
123. XIAO, Tianshu; CAI, Yongfei; CHEN, Bing. HIV-1 Entry and Membrane Fusion Inhibitors. **Viruses**, [S.L.], v. 13, n. 5, p. 735, 23 abr. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/v13050735>.
124. YANG, Rongrong; ZHANG, Hong; XIONG, Yong; GUI, Xien; ZHANG, Yongxi; DENG, Liping; GAO, Shicheng; LUO, Mingqi; HOU, Wei; GUO, Deyin. Molecular diagnosis of central nervous system opportunistic infections and mortality in HIV-infected adults in Central China. **Aids**

Research And Therapy, Wuhan, v. 14, n. 1, p. 14-27, 2 maio 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12981-017-0150-2>.

125. ZAYYAD, Zaina; SPUDICH, Serena. Neuropathogenesis of HIV: from initial neuroinvasion to hiv-associated neurocognitive disorder (hand). **Current Hiv/Aids Reports**, [S.L.], v. 12, n. 1, p. 16-24, 22 jan. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11904-014-0255-3>.
126. ZEICHNER, S.L. The molecular biology of HIV. Insights into pathogenesis and targets for therapy. **Clin Perinatol**, v. 21, p. 39-73, 1994.
127. ZHAO, Min; ZHUO, Chuanshang; LI, Qinguang; LIU, Lijuan. Cytomegalovirus (CMV) infection in HIV/AIDS patients and diagnostic values of CMV-DNA detection across different sample types. **Annals Of Palliative Medicine**, [S.L.], v. 9, n. 5, p. 2710-2715, set. 2020. AME Publishing Company. <http://dx.doi.org/10.21037/apm-20-1352>.

10. ANEXOS

10.1 Protocolo de Extração de DNA/RNA

ReliaPrep™ Viral Total Nucleic Acid Purification Kit, Custom Protocolo:

1. Descrição

Para purificação total de ácidos nucleicos a partir de amostras biológicas líquidas incluindo: Sangue, Plasma, Urina, Fluidos livres de células, sobrenadantes de cultura, entre outras. Até 300ul de líquido pode ser processada por purificação e a eluição realizada com até 50ul para maior concentração dos ácidos nucleicos.

2. Coleta e armazenamento das amostras antes da purificação:

Se for utilizar o sangue total, coletar em tubo de EDTA ou ACD- anti coagulação da Vacutainer®. Evitar tubo de heparina, isto pode inibir as amplificações gerais são para preparar e estocar amostras de soro e plasma. Separar o plasma das células dentro 1 hora de sangue extraído por centrifugação a 1.500xg por 20 minutos a 25°C, em seguida, transferir o plasma para um tubo limpo. Separar o soro do sangue coagulado por centrifugação de 1.000xg durante 10 minutos 25°C, depois transferir o soro para um tubo limpo. Armazenar amostras de plasma e soro na 2-8°C por até 24 horas, ou congelar amostras que não serão processadas dentro de 24 horas a -20°C por até 5 dias. Evite ciclos repetitivos de congelamento e descongelamento e não armazene podem variar dependendo do vírus isolado.

3. Protocolo

Materiais que o usuário necessita ter:

- Mixer para ressuspensão do sangue total, opcional dependendo da amostra utilizada.
- Vórtex
- Tubo 1,5 ml para micro centrifuga
- Banho Maria
- Micro centrifuga com capacidade de 14,000 x g

1- Misture cuidadosamente a amostra durante 10 minutos pelo menos em um agitador à temperatura ambiente. Se amostra tiver sido congelada, descongelar completamente antes de misturar bem.

2- Adicione 20ul da solução de Proteinase K (PK) em um tubo 1,5ml de microcentrifuga.

3- Adicione 200ul da amostra líquida no tubo que contém a Proteinase K (PK) e agite brevemente.

Nota: Até 300ul de amostra pode ser utilizada, para fazer Cell Lysis Buffer (CDL) e Proteinase K deverá aumentar para 300ul e 30ul respectivamente. Também, no passo 8 e 9 duas cargas de sequências de 440ul são necessárias para evitar o transbordamento da coluna.

4- Adicione 200ul de Cell Lysis Buffer (CDL) no tubo. Feche o tubo e vortexe por pelo menos 10 segundos.

Nota: Se for utilizada um controle para extração, pode ser adicionado ao lisado depois do passo 4. Controles internos são oferecidos nesse kit.

5- Incubar a 56°C por 10 minutos em banho maria ou bloco térmico.

Nota: Amostras contendo vírus como Hepatite B e C, como por exemplo, requerem manter incubação a 80°C para recuperação ótima de ácidos nucleicos devido as estruturas secundárias do genoma viral.

6- Enquanto a amostra é incubada, coloque a Relia prep™ Binding Column em tubo de coleta.

7- Remova o tubo de banho maria ou bloco térmico, adicione 250ul de Binding Buffer (BBA), feche o tubo e vortexe por 10 segundos.

8- Adicione o conteúdo do tubo para Relia Prep™ Binding Column, feche e coloque em uma microcentrifuga.

9- Centrifugue por 1 minuto em máxima velocidade. Confira as colunas e tenha certeza que todo lisado passou por uma membrana. Se o lisado continuar visível em cima da membrana, centrifugue por mais 1 minuto.

10- Remova o tubo de coleta o sobrenadante e descarte em um lixo infectante.

11- Coloque a coluna em um tubo novo. Adicione 500ul de Column Wash Solution (CWD) na coluna e centrifugue por 3 minutos na velocidade máxima. Descarte o sobrenadante.

12- Repita o passo 11 duas vezes para um total de 3 lavagens.

13- Coloque a coluna em um tubo de microcentrifuga de 1.5ml.

14- Adicione entre 50-200ul de Nuclease-free Water na coluna. Centrifugue por 1 minuto em máxima velocidade.

15- Descarte o Relia Prep™ Binding Column e guarde o eluído. Não reutilize as colunas de ligação ou tubos de coletas.

4- Armazenamento o ácido nucléico eluído

Se as amostras não são processadas imediatamente, estocar o eluído de DNA viral no gelo ou até - 4°C por máximo de 24 horas. Para períodos maiores, congelar a -20°C ou -70°C. RNA viral é bem menos estável e é preferivelmente realizar o ensaio após a extração. Alternativamente, estocar o eluído de RNA a -70°C.

10.2 Protocolo de ELISA

SEMI AUTOMATED PROCESSING

Step 1	Reconstitute and mix the Conjugate, prepare the Substrate Solution and Wash Fluid .	
Step 2	Use only the number of wells required for the test.	
Step 3	Add 50 µl of Sample Diluent to each well.	50 µl
Step 4	Add 50 µl of Samples or 50 µl Controls to the wells. For each plate use the first column of wells for the assay Controls. Add the Controls to the designated wells after dispensing the samples. Pipette 50 µl of the Negative Control into each of three wells A1 to C1 and 50 µl of the anti-HTLV Positive Control into well D1. Use of a white background will aid visualisation of sample addition.	50 µl
Step 5	Cover the wells with the lid and incubate for 30 minutes at 37°C ±1°C under humid conditions.	30 mins
Step 6	At the end of the incubation time wash the plate as described under Wash Procedures .	
Step 7	Immediately after washing the plate, add 50 µl of Conjugate to each well.	50 µl
Step 8	Cover the wells with the lid and incubate for 30 minutes at 37°C ±1°C under humid conditions.	30 mins
Step 9	At the end of the incubation time wash the plate as described under Wash Procedures .	
Step 10	Immediately after washing the plate, add 100 µl of Substrate Solution to each well.	100 µl
Step 11	Cover the wells with a lid and incubate for 30 minutes at 37°C ±1°C under humid conditions. Keep away from direct sunlight. A purple colour should develop in wells containing reactive samples.	30 mins
Step 12	Add 50 µl of Stop Solution (0.5M to 2M sulphuric acid) to each well.	50 µl
Step 13	Within 15 minutes read the absorbance at 450 nm using 620 nm to 690 nm as the reference wavelength if available. Blank the instrument on air (no plate in the carriage).	450 nm

WASH PROCEDURES

Protocols for recommended washers and procedures for verifying washers and analysers can be obtained from your representative. The following protocol is recommended.

a) Protocol for automated microplate stripwasher

Perform 5 wash cycles using working strength Wash Fluid. Ensure, where possible, that:

- Flow-through washing with a fill volume of 500 µl/well is used with instrumentation supplied by DiaSorin. When using other instrumentation for which this is not possible, ensure that the well is completely filled.
- The dispense height is set to completely fill the well with a slight positive meniscus, without causing an overflow.
- The time taken to complete one aspirate/wash/soak cycle is approximately 30 seconds.
- Ensure that no liquid is left in the well (by use of a double aspirate step in the final cycle where possible).
- After washing is completed, invert the plate and tap out any residual Wash Fluid onto absorbent paper.

b) Protocol for Manual Washer

- Aspirate the first row of wells.
- Completely fill this row with working strength Wash Fluid.
- Repeat this procedure for each row of wells in turn.
- Ensure that each row of wells is left to soak for 30 seconds.
- Repeat (i) to (iv) a further 4 times.
- Aspirate the contents of the wells. It is recommended that the wells are inverted and tapped dry on paper towel or tissue after the last wash.

NOTE: Do not allow the wells to become dry during the assay procedure.

Washers must be rinsed with distilled water at the end of the test to avoid blockage and corrosion.

FULLY AUTOMATED MICROPLATE PROCESSORS

Contact your representative for details of currently available validated protocols. For instrumentation without established validated protocols, the following guidelines are recommended:

- Do not programme times shorter than specified in the procedure.
- For each incubation at 37°C, programmed times may be increased by up to 5 minutes.
- Wells containing either Sample Diluent or Sample Diluent and Sample Control may be left at room temperature for up to 30 minutes before starting **Step 4** and **5** respectively.
- Ensure all '**Analytical Precautions**' are followed.
Protocols written following these guidelines must be fully validated prior to use according to local procedures.

RESULTS

CALCULATION OF RESULTS

Each plate must be considered separately when calculating and interpreting results of the assay. Approved software may be used for calculation and interpretation of results.

Negative Control

Calculate the mean absorbance of the Negative Controls.

Example:

Well 1	-	0.084	Well 2	-	0.086	Well 3	-	0.070
Total	-	0.240						
Mean Negative Control	-	0.240/3						- 0.080

If one of the Negative Control Wells has an absorbance more than 0.15 above the mean of all three, discard that value and calculate the new Negative Control mean from the two remaining replicates.

Cut-Off Value

Calculate the Cut-Off Value by adding 0.2 to the mean of the Negative Control replicates (see above).

Example:

Mean Negative Control	-	0.080						
Cut-Off Value	-	0.080	+	0.200	-			0.280

QUALITY CONTROL

Results of an assay are valid if the following criteria for the controls are met:

Negative Control

The mean absorbance is less than 0.2.

Positive Control

The absorbance of the Positive Control is more than 0.8 above the mean absorbance of the Negative Control.

Assays which do not meet these criteria should be repeated.

In the unlikely event of the results repeatedly failing to meet either the Quality Control criteria or the expected performance of the test, please contact your representative.

INTERPRETATION OF RESULTS

Non-reactive Results

Samples giving an absorbance less than the Cut-Off Value are considered non-reactive in Murex HTLV I+II.

Reactive Results

Samples giving an absorbance greater than or equal to the Cut-Off Value are considered reactive in the assay (see **Limitations of the Procedure**). Unless local procedures state otherwise such samples must be retested in duplicate using the original source. Samples that are reactive in at least one of the duplicate retests are considered repeatedly reactive in Murex HTLV I+II and are presumed to contain antibodies against HTLV-I or HTLV-II. Such samples must be further investigated and the results from this assay considered with any other clinical and/or assay information. Samples that are non-reactive in both wells on retest must be considered non-reactive against HTLV antibodies.

No sample addition

For wells where the sample has been omitted but all the reagents have been added, absorbance values significantly higher than the Negative Control may be obtained.

10.3 Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP)

FUNDAÇÃO DE MEDICINA
TROPICAL "DOUTOR HEITOR
VIEIRA DOURADO"



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Análise do líquido cefalorraquidiano nas manifestações neurológicas de pacientes adultos infectados pelo HIV

Pesquisador: Michele de Souza Bastos Barrionuevo

Área Temática:

Versão: 6

CAAE: 03929618.8.0000.0005

Instituição Proponente: Diretoria de Ensino e Pesquisa - DENPE

Patrocinador Principal: MINISTERIO DA CIENCIA, TECNOLOGIA E INOVACAO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.478.655

Apresentação do Projeto:

Dados globais da infecção pelo HIV em 2017 revelaram aproximadamente 37 milhões de pessoas vivendo com o vírus da imunodeficiência humana (HIV); 1,8 milhões de novas infecções e aproximadamente 1 milhão de mortes relacionadas à doença e suas sequelas. O HIV tornou-se responsável por morbidade e mortalidade significativas devido à imunossupressão subjacente que leva a infecções oportunistas (IO) que ameaçam a vida durante o curso natural da doença. A literatura mostra que, cerca de 90% da morbidade e mortalidade relacionadas ao HIV são causadas por IOs comparados a 7% devido a cânceres e 3% devido a outras causas. Além do monitoramento da carga viral do HIV no sistema nervoso, identificar com precisão as infecções oportunistas em indivíduos infectado pelo HIV é crucial por várias razões. As IOs levam a morbimortalidade, que reduz o tempo de vidas das pessoas infectadas e requer tratamentos onerosos em países em desenvolvimento. Segundo, identificar condições atualmente tratáveis proporciona ao paciente à oportunidade de participar de um número crescente de abordagens terapêuticas. Além disso, a avaliação diagnóstica juntamente com um fluxo contínuo para o tratamento reduz falhas terapêuticas proporcionando cuidados de baixo custo, permitindo uma sobrevida maior para as pessoas infectadas pelo HIV, como também ajuda a impedir a transmissão destas infecções para comunidade. Diante do exposto, pretende-se estudar o líquido cefalorraquidiano do paciente HIV com manifestações neurológicas.

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@fimt.am.gov.br

Página 01 de 06

FUNDAÇÃO DE MEDICINA
TROPICAL "DOUTOR HEITOR
VIEIRA DOURADO"



Continuação do Parecer: 4.478.655

Trata-se de uma EMENDA 2, no projeto de pesquisa intitulado Análise do líquido cefalorraquidiano nas manifestações neurológicas de pacientes adultos infectados pelo HIV", cuja pesquisadora principal é Michele de Souza Bastos Barrionuevo.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: Estudar o líquido cefalorraquidiano do paciente HIV com manifestações neurológicas em uma unidade de saúde referência em Manaus, Amazonas.

Objetivo Secundário: - Detectar no líquido cefalorraquidiano os níveis de RNA do HIV e correlacionar com os níveis presente no plasma. - Investigar no líquido cefalorraquidiano presença de agentes oportunista como: Toxoplasma gondii; vírus JC e BK; HTLV-1, Herpesvírus e Arbovírus, relacionados a complicações neurológicas. - Investigar o perfil inflamatório dos casos com agente detectado X não detectado.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: É possível que, durante a coleta da amostra o senhor/a senhora/você/seu filho/seu familiar experimente algum desconforto, principalmente relacionado à coleta do líquido cefalorraquidiano, a dor que acompanha a punção lombar é semelhante àquela da coleta do exame de sangue. Após submeter-se a punção lombar você deverá permanecer em REPOUSO deitado por algumas horas e beber muito líquido. Um número pequeno das pessoas, mesmo com esse cuidado, poderão sentir dor de cabeça. Essa dor pode ser forte, acontece ao levantar e melhora ao deitar. Se você tiver essa dor de cabeça, e somente se tiver essa dor, deverá ficar em repouso absoluto, deitado por dois dias seguidos de preferência na posição de barriga para baixo, tomando muita água e outras bebidas hidratantes. Não deverá tentar levantar antes de completar esses dois dias, caso contrário a dor de cabeça poderá voltar. Se a dor de cabeça voltar, será necessário ficar novamente em repouso pelos próximos dois dias, como se a punção tivesse sido feita naquele momento. Em casos muito 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. Estes efeitos serão monitorados por tanto tempo quanto necessário pelos médicos do estudo para garantir o seu bem-estar. Existe também um risco potencial de quebra de 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

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@fimt.am.gov.br

Página 02 de 06

FUNDAÇÃO DE MEDICINA
TROPICAL "DOUTOR HEITOR
VIEIRA DOURADO"



Continuação do Parecer: 4.478.655

possam ser relacionados ao estudo que você participa.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A proposta é relevante, e dentro do contexto, é plenamente factível, portanto, devidamente instruído, está apto para análise.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O protocolo deste estudo traz a documentação seguinte: 1. Folha de rosto da CONEP; Projeto gerado na Plataforma Brasil (PB); 2. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE); Documento justificando a EMENDA proposta; 3. Demais documentos apresentados e já analisados anteriormente. A folha de Rosto da CONEP está devidamente preenchida e assinada.

Justificativa da Emenda: Encaminho esta Emenda para solicitar a inclusão no método do projeto mais um grupo de pacientes no referido estudo, mais especificamente nos critérios de inclusão, quais sejam, os pacientes ambulatoriais na faixa etária entre 13 e 17 anos. Solicitamos ainda na etapa 1 do projeto, referente a seleção de amostras, a inclusão das análises de amostras de urina, de relevante importância para diagnóstico clínico-laboratorial e que possui método de coleta simples e de forma não invasiva. Solicitamos também o acréscimo de mais um ano no tempo do estudo janeiro de 2019 a dezembro de 2021.

No protocolo da pesquisa relacionado a EMENDA, necessita da inclusão do Assentimento Livre e Esclarecido.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

PENDÊNCIA/SOLICITAÇÃO visando atender ao que dispõe a Resolução nº 466/2012, CNS/MS e suas complementares.

PENDÊNCIA 1. No protocolo da pesquisa em análise, não consta o Assentimento Livre e Esclarecido para grupo etário (13 a 17 anos) mencionado na EMENDA. Solicita-se incluir no protocolo da pesquisa, o Assentimento Livre e Esclarecido para atender a Resolução nº 466/2012, CNS/MS, item

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@fimt.am.gov.br

Página 03 de 06

FUNDAÇÃO DE MEDICINA
TROPICAL "DOUTOR HEITOR
VIEIRA DOURADO"



Continuação do Parecer: 4.478.655

II - DOS TERMOS E DEFINIÇÕES. II.2, II.2.4.

RESPOSTA DA PESQUISADORA: Conforme solicitado, o Termo de Assentimento Livre e Esclarecido foi incluído a esta PB, atendendo a Resolução CNS 466/2012.

ANÁLISE: A pesquisadora atendeu com a inclusão do Termo de Assentimento Livre e Esclarecido no protocolo de pesquisa em análise, mas observou-se o seguinte no primeiro parágrafo "Estamos convidando você/seu filho/seu familiar..." No item Alguns riscos relacionados ao estudo podem ser observados, consta: "... durante a coleta da amostra o senhor/a senhora/você/seu filho/seu familiar...", no item Armazenamento de amostras foi mencionado "Os materiais coletados sangue e líquido cefalorraquidiano do senhor/a senhora/sua/de seu filho/de seu familiar ...", e no item Participação voluntária, "... é voluntária e se o senhor/a senhora/você/seu filho/seu familiar...". Solicita-se readequação do pronome de tratamento para os participantes do estudo na faixa etária de 13 a 17 anos. **PENDÊNCIA PARCIALMENTE ATENDIDA.**

RESPOSTA DA PESQUISADORA: Conforme solicitado, o Termo de Assentimento Livre e Esclarecido foi corrigido e incluído a esta PB, atendendo a Resolução CNS 466/2012.

ANÁLISE: Verificou-se que a pesquisadora atendeu conforme a solicitação. Diante disso, **PENDÊNCIA ATENDIDA.**

Diante do exposto sugere-se que o protocolo referente a EMENDA, seja **APROVADO** pela pesquisadora ter atendido a solicitação.

S.M.J. É o parecer.

Considerações Finais a critério do CEP:

O presente projeto está **APROVADO** e os interessados ficam informados de apresentar a este CEP os relatórios, parciais e o 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.

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@fimt.am.gov.br

Página 04 de 06

Continuação do Parecer: 4.478.655

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_166115_4_E2.pdf	15/12/2020 00:15:17		Aceito
Outros	CartarespostaCEP141220.pdf	15/12/2020 00:14:26	Michele de Souza Bastos Barrionuevo	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TALE_V1_141220.pdf	14/12/2020 16:33:07	Michele de Souza Bastos Barrionuevo	Aceito
Outros	Respostapendencias_071220.docx	07/12/2020 15:17:36	Michele de Souza Bastos Barrionuevo	Aceito
Outros	Emenda_091120.pdf	09/11/2020 17:20:27	Michele de Souza Bastos Barrionuevo	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_V3_091120.docx	09/11/2020 17:07:16	Michele de Souza Bastos Barrionuevo	Aceito
Brochura Pesquisa	DocPrincpalV4.docx	09/11/2020 16:59:54	Michele de Souza Bastos Barrionuevo	Aceito
Outros	Emenda_CEP1405.pdf	14/05/2019 12:40:31	Michele de Souza Bastos Barrionuevo	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Proposta_principal_V3.pdf	14/05/2019 12:38:08	Michele de Souza Bastos Barrionuevo	Aceito
Outros	Carta_Resposta_CEP.pdf	19/12/2018 13:32:40	Michele de Souza Bastos Barrionuevo	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	For_Armazenamento_Mat_biologico.pdf	19/12/2018 13:32:23	Michele de Souza Bastos Barrionuevo	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_UNI_V2.pdf	19/12/2018 13:07:05	Michele de Souza Bastos Barrionuevo	Aceito
Outros	TCUD_Uni18.pdf	29/11/2018 12:28:32	Michele de Souza Bastos Barrionuevo	Aceito
Outros	Anuencia_Bac.pdf	29/11/2018 12:28:15	Michele de Souza Bastos Barrionuevo	Aceito
Outros	Anuencia_DAM.pdf	29/11/2018 12:27:51	Michele de Souza Bastos Barrionuevo	Aceito
Folha de Rosto	folhaDeRostoUni18.pdf	29/11/2018 10:33:41	Michele de Souza Bastos Barrionuevo	Aceito

Endereço: Av. Pedro Teixeira, 25
Bairro: D. Pedro I CEP: 66.040-000
UF: AM Município: MANAUS
Telefone: (92)2127-3572 Fax: (92)2127-3572 E-mail: cep@fmt.am.gov.br

Página 05 de 06

Continuação do Parecer: 4.478.655

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

MANAUS, 21 de Dezembro de 2020

Assinado por:
Márlaine Martins
(Coordenador(a))

Endereço: Av. Pedro Teixeira, 25
Bairro: D. Pedro I CEP: 66.040-000
UF: AM Município: MANAUS
Telefone: (92)2127-3572 Fax: (92)2127-3572 E-mail: cep@fmt.am.gov.br

Página 06 de 06

11. APÊNDICES

11.1 Instrumento de coleta de dados

Dados Gerais de Neuroinfecções Page 2

Dados Gerais

Record ID _____

ID: _____

Prontuário _____

Tipo de amostra LCR
 Urina
 Soro
 Outros

Outros _____

Data de coleta da urina _____

Data de coleta do soro _____

Data de coleta de LCR _____

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

Data do desfecho _____

Tempo de internação entre admissão e desfecho _____

Coorte: Prospectiva
 Retrospectiva

Sexo de nascimento: Feminino
 Masculino

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

Idade: _____
(Em anos)

Bairro _____

21/06/2022 12:47pm projectredcap.org REDCap

Page 2

Unidade de Saúde FMT
 Outro

Transferência de outro Hospital? SIM
 NÃO

Qual? _____

Unidade de Atendimento Pronto Atendimento/Urgência
 UTI Adulto
 UTI Pediátrica
 Ambulatório
 DIP/Clinica
 Enfermaria de Pediatria
 Enfermaria Masculina
 Enfermaria Feminina
 Enfermaria de Dermatologia
 Enfermaria de Apoio PA
 Isolamento
 Outro

Outra unidade _____

Paciente COVID-19? Sim
 Não

Hipótese diagnóstica Sim
 Não

Qual? _____

21/06/2022 12:47pm projectredcap.org REDCap

Page 3

Sinais e Sintomas

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)
 Astenia (fraqueza muscular)
 Fadiga
 Alteração cutânea
 Prurido
 Exantema
 Mialgia
 Altralgia
 Calafrio
 Taquipneia
 Taquicardia
 Hipotensão
 Perda de Memória
 Tontura
 Náuseas
 Dorsoalgia
 Cervicalgia

Tempo do início dos sintomas em dias: _____

Manifestações Neurológicas

Cefaleia
 Paresia de MMII (força)
 Paresia de MMSS
 Parestesia
 Distúrbios do movimento
 Rebaixamento do nível de consciência (topor)
 Confusão mental
 Déficit neurológico
 Coma
 Rigidez de nuca
 Neuropatia periférica
 Perda de Memória
 Disartria
 Fotofobia
 Crise convulsiva
 Sonolência
 Afasia
 Acatísia (agitação)
 Irritabilidade

Qual neuropatia? _____

21/06/2022 12:47pm projectredcap.org REDCap

Page 4

Antibioticoterapia:

Penicilina (ex: penicilina G, amoxicilina) Sim

Aminoglicosídeos (ex: gentamicina, amicacina)

Cefalosporinas de 1ª geração (ex: cefalexina, cefazolina)

Cefalosporinas de 2ª geração (ex: cefoxitina, cefuroxime)

Cefalosporinas de 3ª geração (ex: ceftriaxona, cefotaxime)

Cefalosporinas de 4ª geração (ex: ceftepime)

Fluoroquinolonas (ex: ciprofloxacina, levofloxacina)

Carbapenem (ex: meropenem, ertapenem)

Sulfonamidas (ex: sulfadiazina, STX+TMP)

Tetraciclina (ex: tetraciclina, doxiciclina)

Lincosamidas (ex: clindamicina, lincomicina)

Macrolídeos (ex: azitromicina, eritromicina)

Monobactâmicos (ex: meropenem)

Outros (PPT, CFZ+SUB)

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)

Exame de imagem Sim
 Não

21/06/2022 12:47pm projectredcap.org REDCap

Qual?	<input type="checkbox"/> Tomografia (TC) <input type="checkbox"/> Ressonância Magnética (RM) <input type="checkbox"/> Raio X
Qual achado?	_____
Histórico de doenças crônicas:	<input type="checkbox"/> Hipertensão Arterial Sistêmica <input type="checkbox"/> Diabetes Mellitus <input type="checkbox"/> Hepatopatia crônica <input type="checkbox"/> Obesidade <input type="checkbox"/> Asma <input type="checkbox"/> Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica <input type="checkbox"/> Doença cardiovascular <input type="checkbox"/> Doença cerebrovascular <input type="checkbox"/> Insuficiência renal crônica <input type="checkbox"/> Tuberculose <input type="checkbox"/> Outra
Qual:	_____
HIV:	<input type="radio"/> SIM <input type="radio"/> NÃO
Tempo do diagnóstico de HIV em anos:	_____
Uso de TARV :	<input type="radio"/> Uso regular <input type="radio"/> Uso Irregular <input type="radio"/> Virgem de tratamento <input type="radio"/> Abandono <input type="radio"/> Não reportado
Tempo de uso da TARV:	_____ (Em dias, meses ou anos)
Esquema:	<input type="radio"/> Preferencial <input type="radio"/> Alternativo <input type="radio"/> Resgate/Falha
Combinação da TARV:	<input type="checkbox"/> Lamivudina (3TC), Tenofovir (TDF), Dolutegravir (DTG) (tratamento inicial para adulto) <input type="checkbox"/> Lamivudina (3TC), Tenofovir (TDF), Efavirenz (EFZ) (3 em 1) <input type="checkbox"/> Outra
Qual?	_____

21/06/2022 12:47pm

projectredcap.org



Investigação Diagnóstica:	<input type="checkbox"/> HTLV I/II <input type="checkbox"/> Citomegalovírus (CMV) <input type="checkbox"/> Herpes Zoster (VZV) <input type="checkbox"/> HSV-1 <input type="checkbox"/> HSV-2 <input type="checkbox"/> Epstein-Bar (EBV) <input type="checkbox"/> Parvovirus B19 <input type="checkbox"/> Dengue <input type="checkbox"/> ZIKA <input type="checkbox"/> Chikungunya <input type="checkbox"/> JCV <input type="checkbox"/> Enterovírus <input type="checkbox"/> Herpesvírus 6 (HHV-6) <input type="checkbox"/> Herpesvírus 7 (HHV-7) <input type="checkbox"/> Herpesvírus 8 (HHV-8) <input type="checkbox"/> BK <input type="checkbox"/> Toxoplasma <input type="checkbox"/> Mayaro (MAYV) <input type="checkbox"/> Oropouche (OROV) <input type="checkbox"/> West Nile (WNV) <input type="checkbox"/> Sars-CoV-2
Método de diagnóstico	<input type="checkbox"/> qPCR <input type="checkbox"/> IgM <input type="checkbox"/> IgG
Resultado	<input type="radio"/> Não detectado <input type="radio"/> Detectado
Investigação HIV no LCR	<input type="radio"/> Não detectado <input type="radio"/> Detectado
Carga viral do HIV	_____
Agente detectado	<input type="checkbox"/> HTLV I/II <input type="checkbox"/> Citomegalovírus (CMV) <input type="checkbox"/> Herpes Zoster (VZV) <input type="checkbox"/> HSV-1 <input type="checkbox"/> HSV-2 <input type="checkbox"/> Epstein-Bar (EBV) <input type="checkbox"/> Parvovirus B19 <input type="checkbox"/> Dengue <input type="checkbox"/> ZIKA <input type="checkbox"/> Chikungunya <input type="checkbox"/> JCV <input type="checkbox"/> Enterovírus <input type="checkbox"/> Herpesvírus 6 (HHV-6) <input type="checkbox"/> Herpesvírus 7 (HHV-7) <input type="checkbox"/> Herpesvírus 8 (HHV-8) <input type="checkbox"/> BK <input type="checkbox"/> Toxoplasma <input type="checkbox"/> Mayaro (MAYV) <input type="checkbox"/> Oropouche (OROV) <input type="checkbox"/> West Nile (WNV) <input type="checkbox"/> Sars-CoV-2

21/06/2022 12:47pm

projectredcap.org



Coinfecção	<input type="checkbox"/> Toxoplasmose <input type="checkbox"/> Neurotoxoplasmose <input type="checkbox"/> Neurotuberculose <input type="checkbox"/> Tuberculose pulmonar <input type="checkbox"/> Criptococose <input type="checkbox"/> Neurocriptococose <input type="checkbox"/> Pneumocistose <input type="checkbox"/> Pneumonia bacteriana <input type="checkbox"/> Histoplasmose <input type="checkbox"/> Candidíase <input type="checkbox"/> Candidíase oral <input type="checkbox"/> Sífilis <input type="checkbox"/> Neurosífilis <input type="checkbox"/> Sarcoma de Kaposi <input type="checkbox"/> Cisticercose
Doença progressa (tratada):	<input type="checkbox"/> Toxoplasmose <input type="checkbox"/> Neurotoxoplasmose <input type="checkbox"/> Neurotuberculose <input type="checkbox"/> Tuberculose pulmonar <input type="checkbox"/> Criptococose <input type="checkbox"/> Neurocriptococose <input type="checkbox"/> Pneumocistose <input type="checkbox"/> Pneumonia bacteriana <input type="checkbox"/> HTLV <input type="checkbox"/> Citomegalovírus (CMV) <input type="checkbox"/> Herpes Zoster (VZV) <input type="checkbox"/> HSV-1 <input type="checkbox"/> HSV-2 <input type="checkbox"/> Epstein-Bar (EBV) <input type="checkbox"/> Parvovirus B19 <input type="checkbox"/> Histoplasmose <input type="checkbox"/> Candidíase <input type="checkbox"/> Sífilis <input type="checkbox"/> Sarcoma de Kaposi <input type="checkbox"/> Dengue <input type="checkbox"/> ZIKA <input type="checkbox"/> Chikungunya <input type="checkbox"/> JCV <input type="checkbox"/> Neurosífilis <input type="checkbox"/> Enterovírus
Uso de drogas lícitas:	<input type="checkbox"/> Etilismo <input type="checkbox"/> Tabagismo <input type="checkbox"/> Ex etilista <input type="checkbox"/> Ex tabagista
Admissão na UTI:	<input type="radio"/> SIM <input type="radio"/> NÃO
Uso de dispositivos médicos invasivos	<input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não (Ex: CVC, CVP, VM, IOT, SA)
Qual?	_____
Data de admissão na UTI:	_____ (ex: 01/01/2019)

21/06/2022 12:47pm

projectredcap.org



Desfecho primário:	<input type="radio"/> ALTA <input type="radio"/> ÓBITO <input type="radio"/> ACOMPANHAMENTO AMBULATORIAL
Data do desfecho primário:	_____ (ex: 01/01/2019)

21/06/2022 12:47pm

projectredcap.org



Coágulo:	<input type="radio"/> Presente <input type="radio"/> Ausente
Globulina:	<input type="radio"/> Negativa <input type="radio"/> Traços <input type="radio"/> 1 + <input type="radio"/> 2 ++ <input type="radio"/> 3+++
Glicorraquia:	<hr/> (VR: 50-80mg/dl)
Proteinorraquia:	<hr/> (VR: Adultos: 15-25mg/dl)
Cloretos:	<hr/> (VR: 115-130mmol/l)
Lactato:	<hr/> (VR: Neonatos: 10-60mg/dl/ 3-10 dias de idade: 10-25mg/dl/ Maior que 10 dias e adultos: 10-25mg/dl)
Citometria:	<hr/> (VR: < 5 cel/mm ³)
Citologia:	<hr/> (VR: (%))
Ziehl:	<input type="radio"/> Ausência da BAAR na amostra examinada <input type="radio"/> Presença de BAAR na amostra examinada
Nankin:	<input type="radio"/> Ausência de Cryptococcus na amostra examinada <input type="radio"/> Presença de Cryptococcus na amostra examinada
VDRL	<input type="radio"/> Não reagente <input type="radio"/> Reagente
Quanto?	<hr/>

Dados plasmáticos

Dados Gerais de Neuroinfecções
Page 1

Record ID	_____
Data do exame:	_____ (ex: 01/01/2019)
Hemácias:	_____ (VR: 4,2 a 5,5 milhões/mm ³)
Hemoglobina:	_____ (VR: 12,5 a 15,5 g/dl)
Hematócrito:	_____ (VR: 36,0 a 47,0 %)
VCM:	_____ (VR: 80,0 a 100,0 fl)
HCM:	_____ (VR: 27,0 a 32,0 pg)
CCHM:	_____ (VR: 32,0 a 36,0 g/dl)
RDW:	_____ (VR: 10,0 a 15,0 %)
Leucócitos:	_____ (VR: 4.000 a 10.000/mm ³)
Neutrófilos:	_____ (VR: 40,0 a 70,0%)
Eosinófilos:	_____ (VR: 1,0 a 6,0%)
Linfócitos:	_____ (VR: 25,0 a 40,0%)
Monócitos:	_____ (VR: 2,00 a 10,0%)

06/07/2022 3:21pm

projectredcap.org



Page 2

Plaquetas:	_____ (VR: 150.000 - 450.000/mm ³)
Glicose:	_____ (VR: 70 - 100 mg/dL)
Cálcio:	_____ (VR: 8,5 - 10,5 mg/dL)
Proteínas Totais:	_____ (VR: 6 a 8 g/dL)
Albumina:	_____ (VR: 3,5 - 5,0)
Globulina:	_____ (VR: 2 e 4 g/dL)
Uréia:	_____ (VR: 10 - 45 mg/dL)
Creatinina:	_____ (VR: 0,5 - 1,2 Mg/dL)
Bilirrubina Total:	_____ (VR: 0,01 - 1,3 mg/dL)
Bilirrubina Direta:	_____ (VR: 0,01 - 0,3 mg/dL)
Bilirrubina Indireta:	_____ (VR: 0,01 - 0,7 mg/dL)
Gama-GT:	_____ (VR: Homem =11 a 61 U/L Mulher = 5 a 36 U/L)
Fosfatase Alcalina:	_____ (VR:65 - 300 IU/L)
TGO:	_____ (VR: 2 - 38 U/L)

06/07/2022 3:21pm

projectredcap.org



Page 3

TGP:	_____ (VR: 2-44 U/L)
Sódio:	_____ (VR: 135 - 145 mmol/L)
Potássio:	_____ (VR: 3,6 - 5,2 mmol/L)
Magnésio:	_____
Troponina:	_____
CPK:	_____
D-dímero:	_____
TAP:	_____ (segundos/100% - INR = 1,0)
Lactato desidrogenase:	_____
Contagem de T CD4+:	<input type="radio"/> < 350 <input type="radio"/> > 350 (cel/mm ³)
T CD4+ (quantitativo)	_____ (cel/mm ³)
T CD8	_____ (cel/mm ³)
Carga Viral detectável?	<input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não
Quanto?	_____ (cópias/ml)

06/07/2022 3:21pm

projectredcap.org



11.2 Cronograma

	2020			2021				2022		
	03-08	09-10	11-12	01-03	04-06	07-09	10-12	01-05	06-08	09-12
Revisão + CEP	X									
Créditos	X	X	X	X	X	X		X		
Coleta de amostras					X	X	X	X		
Sorologia/qPCR (HTLV-1/2)									X	
qPCR Toxoplasmose									X	
Tabulação dos dados							X	X		
Análise dos dados								X	X	
Qualificação									X	
Redação de artigos									X	X
Defesa										X

11.3 Equipe executora

Nome	Função	Título	Instituição
Sabrina Araújo de Melo	Mestranda	Biomédica	FMT-HVD
Michele de Souza Bastos	Orientadora Farmacêutica Bioquímica	Doutor	FMT-HVD
Taynná Vernalha Rocha	Coorientadora	Doutor	Ministério da Saúde
Pablo Feitoza	Médico Neurologista	Mestre	FMT-HVD
Rossicléia Lins Monte	Farmacêutica Bioquímica Bacteriologista	Mestre	FMT-HVD
Reinam Brotas	Farmacêutico Bioquímico	Mestrando	FMT-HVD
Yonne Francis Chehuan Melo	Farmacêutica Bioquímica	Mestre	FMT-HVD
Sergio Damasceno Pinto	Farmacêutico Bioquímico	Especialista	FMT-HVD
Eveny Perlize Melo Marinho	Mestranda	Biomédica	FMT-HVD
Ewerton da Silva Ferreira	Mestrando	Farmacêutico	FMT-HVD
Valderjane Aprígio da Silva	Mestranda	Biomédica	FMT-HVD
Caio Cesar Leiva Bastos Barrionuevo	PAIC	Acadêmico	FMT-HVD

APÊNDICE

Versão preliminar do Artigo

SABRINA ARAÚJO DE MELO

MANAUS-AM
2022

11.4 Artigo

Molecular diagnosis of central nervous system opportunistic infections in HIV-infected adults in the city of Manaus, Amazonas

Sabrina Araújo de Melo¹, Sergio Damasceno Pinto², Ewerton da Silva Ferreira³, Reinan Brotas², Eveny Perlize Melo Marinho¹, Valderjane Aprigio¹, Rossicléia Lins Monte², Monique Freire Santana¹, Taynná V. Rocha Almeida^{1,4}, Luiz Carlos de Lima Ferreira¹, Michele de Souza Bastos^{1,2}.

1-Universidade Federal do Amazonas (UFAM) Manaus-AM, Brazil

2-Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD). Manaus-AM, Brazil

3-Programa de Formação em Emergências em Saúde Pública, Ministério da Saúde.

Abstract

Background: Knowledge regarding opportunistic infections of the central nervous system (CNS) in people with HIV/AIDS is essential, and this tertiary care center has limited resources.

Methods: Extensive real time PCR (qPCR) testing was performed to evaluate cerebrospinal fluid (CSF) for etiological agents. Primers to detect DNA from specific pathogens were used to assess the presence of cytomegalovirus (CMV), herpes simplex virus (HSV), varicella-zoster virus (VZV), Epstein-Barr virus (EBV), John Cunningham virus (JCV), *Toxoplasma gondii*, human T-cell lymphotropic virus types 1 and 2 (HTLV-1 and HTLV-2).

Results: Ninety pathogens (36.7%) were found in cerebrospinal fluid samples from patients with neurological manifestations of PLWHA. Among them, *Cryptococcus sp.* (7.7%), EBV (5.3%), CMV, VZV and JCV (4.0%) each. *T. gondii* was found in 22 (30.5%) samples, being the most frequently detected pathogen.

Conclusion: Opportunistic pathogens were detected in 36.7% of cerebrospinal fluid samples from people with HIV-associated neurological manifestations. *Toxoplasma gondii* is the most common opportunistic pathogen detected, and herpesviruses are important causes of changes in CSF profile in these patients. Despite the use of antiretroviral therapy, opportunistic central nervous system infections are still common in this population.

Keywords: HIV/AIDS; neurological manifestations; opportunistic infections; cerebrospinal fluid.

Introduction

The human immunodeficiency virus (HIV) is a type of retrovirus that was first discovered in 1980. Since then, it has continued to pose a significant global public health issue. It has been estimated that around 84.2 million people are currently infected with HIV. Almost 38 million people are living with HIV in the world (UNAIDS, 2021). HIV can infect many parts of the body, including the central nervous system (CNS) (CHRISTO, 2008). Between 40% to 70% of people living with HIV/AIDS suffer from neurological manifestations. Because the underlying immunosuppression leads to an increase in morbidity and mortality, it is likely that infections will develop in the central nervous system (NISSAPATORN et al., 2003; PANG et al., 2018).

Opportunistic infections (OI) are the leading causes of morbidity and mortality in patients with HIV compared to cancer (CHAKRABORTY; RAHMAN, SAHA, 2011). Furthermore, the lack of adherence to antiretroviral therapy and the abandonment of such therapy also favors the development of neurological disorders, leading to a poor prognosis and worse survival rates (BRODT et al., 1997; MATINELLA et al., 2015). *Toxoplasma gondii*, Cytomegalovirus, *Cryptococcus meningitis*, Progressive Multifocal Leukoencephalopathy (PML), and Primary Central Nervous System Lymphoma are the main agents related to OIs (BACELLAR et al., 1994; CROSS, SARAH J. LINKER, KAY E. LESLIE, 2016).

Since it is essential to be aware of opportunistic infections associated with neurological manifestations in PLWHA, this can help guide the appropriate choice of therapy, reduce morbidity and mortality, and prevent long-term sequelae. The aim of

this study is to describe the main causation agents of opportunistic infections in the central nervous system of PLWHA in a reference hospital in infectious diseases in the city of Manaus, Amazonas.

Material and Methods

Participants and Biological Samples

This descriptive observational study was carried out between January 2015 and December 2021 after submission and approval by the Ethical Committee from Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado, Manaus, Amazonas, Brazil (CAAE 03929618.8.0000.0005). The study included a non-probabilistic convenience sampling of 245 patients aged 18 years or above with confirmed HIV or AIDS. The patients were neurological symptoms according to the following eligibility criteria: (1) presentation of any neurological symptoms (headache, lowering of the level of consciousness, convulsive crisis, among others); (2) lumbar puncture performed.

Data Collect

Information such as sociodemographic, clinical, and laboratory variables were collected. The categories included signs and symptoms, types of infection, therapeutic regimen, viral load, CD4+/CD8+ T lymphocyte counts, hospitalization time, laboratory tests, and CSF profile. The diagnosis of *Cryptococcus* sp. and *M. tuberculosis* were also included. All data were obtained through the iDoctor System medical records and internal requests. The information was managed in a database using Software Research's Electronic Data Capture version 12.2.10—© 2022 Vanderbilt University.

Molecular diagnosis

Laboratorial diagnosis of OIs infection

Nucleic acid was extracted from 200µl of CSF sample using the ReliaPrep™ Viral TNA MiniPrep System (Promega, WI, USA). Molecular tests were performed using qPCR, which was carried out using the GoTaq® Probe 1-Step RT-qPCR System (Promega, WI, USA). All procedures were carried out following the manufacturer's instructions.

Primers and probes were used to amplify specific genes, such as Herpes simplex type 1 and 2 (HSV-1/2), Epstein-Barr virus (EBV), Varicella zoster virus (VZV), Cytomegalovirus (CMV), John Cunningham virus (JCV), BK virus (BKV), Toxoplasma gondii, and HTLV-1/2, according to the protocols described by WEIDMANN; ARMBRUSTER; HUFERT (2008); SIDDIQI et. al., (2014); FIGUEIREDO et al., 2017; LIN et. al (2000). GeneXpert® MTB/RIF (Cepheid, Sunnyvale, USA) was used to detect *Mycobacterium tuberculosis*. *Cryptococcus sp.* was detected by Cryptococci antigen (CrAg), Nankin ink staining, and culture.

Statistical analysis

A descriptive analysis of the data was conducted. Continuous variables were expressed as median values and categorical variables were expressed as frequencies, absolute numbers and relative for the comparison between two or more groups, the data were checked for normality using the D' Agostino test, which revealed a non-normal distribution. Therefore, the analyses were performed using the Kruskal-Wallis

test, with comparison of medians conducted using Dunn's method. The predetermined level of statistical significance was $p < 0.05$.

Results

Patient characteristics

In this study, 245 cerebrospinal fluid samples from PLWHA with suspected central nervous system infection and neurological manifestations were analyzed. The median age of this population was 37 years, and males were predominant in 58.4% (143/245) of the cases. The predominant neurological manifestations were the headache in 61% (136/245), convulsive crisis in 24.7% (55/245), lowering of consciousness level in 23.8% (53/245), mental confusion in 22.4% (50/245), and paresis of lower limb. Regarding the use of antiretroviral drugs, 46.7% of patients reported using the drugs regularly (113/245), 26% were virgin to treatment (63/245), 18.6% had irregular use (45/245) and 7.4% had abandoned treatment (18/245) (Table1). Considering the stage of HIV infection (CDC, 2014), 64% of patients were classified in stage 3 (CD4+ T <200 cells/mL), 18.5% in stage 2 (CD4+ T 200 to 499 cells/mL), and 6.9% in stage 1 (CD4+ T \geq 500 cells/mL). 10.6% had an unknown stage (no information was evaluated on their CD4+ T count). The plasma viral load was detected in 78.6% of patients, with a median of 86,015 copies/ml (range: 14.22–6,290,232). The observed death rate was 27.8% (67/245) (Table 1).

Pathogens detecting in CSF

Pathogens were detected in 90 (36.7%) CSF samples. *Toxoplasma gondii* was the most detected pathogen (30.5%), followed by *Cryptococcus sp.* (7.7%), EBV (5.3%), CMV,

VZV and JCV, (4.0%) respectively. (Table 2). HSV-1 and *M. tuberculosis* (0.8%), HSV-2 and BKV (0.4%) were also detected. There were coinfections between the following: EBV/CMV (2), EBV/VZV (1), VZV/CMV (2), HSV-1/2 (1) and JCV/BKV (1). The molecular diagnosis of *T. gondii* was performed in 72 cases with a presumptive diagnosis of neurotoxoplasmosis based on clinical criteria, imaging findings and therapeutic response. *T. gondii* DNA was confirmed in 22 (30.5%) samples, being the most detected pathogen.

Liquor parameters

Biochemical analysis and cytometry of cerebrospinal fluid were performed. Patients who had herpesviruses had an inflammatory CSF cell profile with high cellularity, median of 85.5 cells/mm³ and significant increase in protein, median of 116.1 mg/dL (42.6-1.558). For the group of patients with poliovirus infection, within the normal CSF profile, protein (median, 45.8 mg/dL), glucose (median, 55 mg/dL) and cytometry <5 cells/mm³) were observed.

Discussion

With the introduction of ART, the incidence of opportunistic CNS infections significantly decreased. However, they still represent a challenge for diagnosis and treatment, being an important cause of morbidity and mortality, especially in individuals with HIV who are unaware of their infection or are not being treated. In this retrospective study, we describe the main pathogens found in the cerebrospinal fluid of patients treated for HIV/AIDS at a reference hospital in infectious diseases in the city of Manaus, Amazonas.

In people living with HIV, AIDS status is more closely associated with opportunistic infections that can cause neurological disease. Although ART is freely distributed in Brazil, there is still an important prevalence of opportunistic neurological diseases (TELLES et al., 2021). In our study, we found that 36.7% of opportunistic pathogens were present in cerebrospinal fluid samples from patients with neurological manifestations who have HIV. The *Herpesviridae* family of viruses was the most common, representing 12.2% of the samples. The *Toxoplasma gondii* was next, at 8.9%, followed by *Cryptococcus sp.* at 7.7%. Poliovirus represented 4%, and *Mycobacterium tuberculosis* made up 0.8%. Our findings highlight the importance of molecular diagnosis as a tool in the identification of opportunistic agents causing infection in the central nervous system of PLWHA, regardless of the status of ART use.

Herpesviruses can cause CNS diseases during primary infection or reactivation, and have a high prevalence in high-risk populations, especially in PLWHA. This is because they cause increased morbidity and mortality (BALDWIN; CUMMINGS, 2018; REN et al., 2020). These viruses are strongly associated with serious infections, and their reactivation is almost always associated with negative outcomes. It is therefore essential to make an early and accurate diagnosis to identify this group of viruses (MEYDING-LAMADÉ; STRANK, 2012; REN et al., 2020). In our study, we found that herpesvirus accounted for 12.2% of cases of opportunistic CNS infections in PLWHA. It's lower than described in literature. Yang et al. (2017) found that Herpesvirus was responsible for 26.6% of cases of neurological disease. Gaeta et al. (2009) reported that herpesvirus DNA was detected in 33.5% of the CSF samples analyzed. The low percentage could be due to the previous use of antiretroviral drugs, which could have led to the elimination of the virus and resulted in a lack of detectable nucleic acid.

Epstein-Barr virus has a worldwide distribution, and estimates suggest that the prevalence of infection in the adult population is approximately 90%. EBV infection complications are rarely observed in the CNS and range from 0.5 to 7.5% as the first or only neurological manifestation (WANG; YANG; WEN, 2022). Evidence from the literature suggests that the detection of EBV DNA in CSF may be related to active replication of the virus in B lymphocytes and an increased risk of death (YANG et al., 2017). However, other authors have noted that the detection of EBV in CSF may be limited because it is uncertain whether the presence of the virus in CSF represents an active replication or latent virus in B cells transported during immune surveillance and inflammatory processes. (WANG, YANG; WEN, 2022).

In our study, EBV DNA was detected in 5.3% (13/245) of the samples. In this group of patients, we observed an inflamed cerebrospinal fluid profile with high protein (173 mg/dL) and cellularity (122 cells/mm³) indices. Wang et al. (2007) found that the protein concentration in CSF was significantly higher in patients with EBV detected compared to those who did not detect EBV. Opitan et al. (2017) found a high prevalence of EBV in 45.2% (38/84) of the samples tested but did not present data on the CSF profile for these patients. In contrast, in a study by Benjamin et al. (2012) in Malawi, a high incidence of EBV (36%) was observed in HIV-positive patients, even in those with normal CSF profile. Furthermore, we found EBV in three coinfections, two with CMV and one with VZV. It is speculated that EBV may also be detected concurrently with other agents, indicating active replication or reactivation due to the presence of opportunistic agents. (WANG; YANG; WEN, 2022).

The reactivation of varicella zoster virus in the central nervous system is associated with several serious and potentially lethal complications that usually occur

with acute meningoencephalitis. In PLWHA, this reactivation is more common when compared to immunocompetent patients and is mostly associated with low CD4+ T cell counts and the appearance of skin lesions preceding neurological involvement (CORTI et al., 2015). Grey et al. (1994) reported that reactivation of VZV occurred in more than 4% of AIDS patients. In our study, VZV DNA was detected in 4% of the samples. A study conducted in Zambia analyzed samples from 331 HIV patients, and the prevalence of VZV detection was 3.9% (13/331) (SIDDIQI et al., 2014).

Cytomegalovirus is widespread worldwide, and infection generally does not cause severe symptoms in the immunocompetent population. However, when present in immunocompromised patients, particularly PLWHA, it can cause serious illness and death (ZHAO et al., 2020). With the introduction of ART, neurological complications related to CMV have decreased. However, Cytomegalovirus remains present, and some factors may contribute to this scenario, such as a lack of adherence to the use of ART or antiretroviral resistance. Late diagnosis of HIV may also be a contributing factor (SILVA et al., 2010). Neurological complications are more frequent in patients with low CD4+ T counts (<50 cells/mm³) and often present simultaneously with the onset of symptoms elsewhere in the body.

In our study, CMV DNA was detected in 4% of the samples (10/245). In these patients, the median CD4+ T cell count was 84 cells/mm³ (6 – 461) and the detectable plasma viral load was found in 80% of patients with a median of 60.962 copies/mL (176 –1,186,064). 40% (6) of these patients died. The prevalence of Cytomegalovirus detection was 2.4% (6/248), in a study conducted at a reference center in São Paulo. These patients had a CD4+ T-cell count <50 cells/mm³ and were defined as having CMV encephalitis. The authors also emphasize that CMV encephalitis is common among

PLWHA hospitalized with opportunistic neurological diseases (JUNIOR; BOGONI; SCHNEIDER, et al., 2022). Another prospective observational cohort study, also conducted in a Brazilian tertiary health center, included 105 PLWHA. Cytomegalovirus was the third most frequent pathogen (12%), being responsible for causing encephalitis, polyradiculitis and/or retinitis. (TELLES et al., 2021).

Progressive Multifocal Leukoencephalopathy (PML) is a demyelinating, subacute or chronic disease caused by reactivation of JC virus in immunocompromised patients, particularly in PLWHA (MEZA et al., 2022). PML is usually characterized by focal neurological deficits such as hemiparesis, gait disturbance, and visual disorders, as well as mental disorders (PANPALIA; ONKARAPPA; NAIK, 2020). HIV-associated neurological diseases are an important opportunistic condition affecting up to 5% of HIV patients without treatment. It is classified as a defining condition of AIDS (ABRÃO et al., 2021). Although the incidence of PML among PLWHA using ART has decreased, it is still the fourth most frequent neurological complication in this population in Brazil (LOPES et al., 2019; PIZA et al. 2012).

In our study, the frequency of detection of JC virus was 4% (10/245). Similar findings were reported by Vidal et al., (2008) in a study conducted in São Paulo, which identified twelve (6%) cases of PML among 219 patients with neurological disease. Another Brazilian study, conducted in Goiás with 45 HIV-positive patients suspected of PML, confirmed the presence of JC virus in the CSF of five patients (11.1%). The mean CD4+ T-cell count was 54 cells/mm³, and the median HIV viral load was 91.984 copies/mL. Only two patients presented abnormal results in the CSF analysis, exhibiting pleocytosis from 20 to 288 cells/mm³ and one case with high protein (ABRÃO et al., 2021).

A high mortality rate of 50% was seen in our study, which showed a predominance of infections in females, with 80% of them having JC virus detected. 80% of the patients were in severe immunosuppression, with the median CD4+ T cell count of 120 cells/mm³ (range: 31–378) and high HIV plasma viral load with a median of 4,551 copies/ml (range: 8–542,71). The cerebral spinal fluid of these patients was normal, with a protein median of 45 mg/dL, glucose median of 55 mg/dL and cellularity median of 0 cells/mm³. These findings emphasize the importance of performing a molecular differential diagnosis in cases of suspected PML, even when a normal CSF profile is observed. Moreover, we observed that the irregular use of ART was reported in 50% of the cases, which may have contributed to the high mortality rate in this group, since the PML does not have specific treatment and that the clinical improvement of the patient may be directly related to the regular use of ART (GASNAUT et al. 2011; MOULIGNIER; LECLER, 2021).

The most common causes of sporadic encephalitis among immunocompetent adults worldwide are herpes simplex type 1 and 2. However, they rarely cause encephalitis in HIV patients. (LI; SAX, 2009). In our study, HSV-1 was detected in only two patients (0.8%) and HSV-2 was detected in a coinfection with HSV-1. Similar results were observed by Benjamin et al. (2012), who found two cases of HSV-1 and no cases of HSV-2 in suspected cases of viral meningitis. The literature indicates that HSV-1 prefers the frontal and temporal lobes, so the most common neurological manifestations are likely to be emotional and behavioral. Conversely, HSV-2 is typically associated with meningitis (BALDWIN; CUMMINGS, 2018). In our study, the manifestations observed in cases of herpetic encephalitis were decreased level of consciousness, mental confusion, and neck stiffness. These findings coincide with previous literature data.

Neurotoxoplasmosis is the most common opportunistic infection that causes brain lesions in people with advanced immunosuppression who did not have prophylactic treatment (VIDAL. 2019). It is caused by the reactivation of the protozoan *Toxoplasma gondii*, which is latent in tissue cysts, and occurs in 3 — 40% of PLWHA (AOVTSEVAZ et al., 2020; GRAHAM et al., 2021). In our study, only 72 patients had a clinical diagnosis of neurotoxoplasmosis based on clinical criteria, imaging findings and therapeutic response. *T. gondii* DNA was confirmed in 30.5% (22/72) of CSF samples, being the most detected pathogen. Similar to our findings, a study conducted in Ghana reported that 25% (21/84) of HIV-positive patients tested positive for *T. gondii* by molecular diagnosis (OPITAN et al., 2017). Telles et al. (2021) found that *T. gondii* was the most detected pathogen in CSF samples (36%) in a study conducted in São Paulo. The most frequent neurological manifestations in patients with confirmed *T. gondii* DNA were headache (66.7%), limbs paresis (28.5%), lowering of consciousness level and aphasia with (23.8%), followed by seizure (19%). In our study, the median CD4+ T cell count was 78 cells/mm³ (21-1,128) and the HIV plasma viral load was detected in 89% with a median of 130,070 copies/ml (43-3,671,298). Studies have reported that the frequency of neurotoxoplasmosis is increased in patients with HIV who have a CD4+ T cell count below 100 cells/mm³. (GRAHAM et al., 2021; WANG et al. 2017).

In this study, the overall mortality rate was 27.8%. This rate is lower than the 35.3% mortality rate reported in the study by Siddiq et al. (2014) in hospitalized patients. We emphasize that our study did not follow patients over the long term, so it is possible that more deaths occurred in the post-care period.

The prevalence of opportunistic neurological infections in PLWHA varies according to immune status, antiretroviral treatment adherence, and geographic factors. Signs and symptoms may be nonspecific, making a clinical or laboratory diagnosis difficult. It is therefore essential to know the agents responsible for infections in PLWHA. Our study had some important limitations. Due to the retrospective nature of our study, we were limited by the absence of some clinical and laboratory information from the patients. The lack of follow-up made it impossible to evaluate the impact of our findings on patients' history. Despite the extensive diagnostic investigation, there were limitations in the number of specific pathogens that could be diagnosed by qPCR in this population. Therefore, there may be other pathogens associated with opportunistic neurological infections in this population.

In conclusion, this study emphasizes the importance of knowledge about opportunistic agents related to nervous system infections in PLWHA. Despite the use of ART, the prevalence of opportunistic neurological diseases was high, at 36.8%. *Toxoplasma gondii* and herpesviruses were the most common causes of infection in the nervous system. Furthermore, 64% of these patients had advanced HIV infection. Using sensitive and fast techniques to maintain laboratory surveillance, it is essential to identify agents that cause neurological disease. This will contribute to better clinical decision-making and appropriate therapy for these patients.

References

1. ABRÃO, Carolina de Oliveira; SILVA, Lissa Rodrigues Machado da; SOUZA, Luiz Carlos Silva; BISSO, Nathalia de Mello; TURCHI, Marília Dalva; GUILARDE, Adriana Oliveira. AIDS-related progressive multifocal leukoencephalopathy. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [S.L.], v. 54, p. 1-4, 25 ago. 2020. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0252-2020>.
2. AGNIHOTRI SP. Central Nervous System Opportunistic Infections. **Semin Neurol**. 2019 Jun;39(3):383-390. doi: 10.1055/s-0039-1687842. Epub 2019 Aug 2. PMID: 31378873.
3. ALBARILLO F, O'KEEFE P. Opportunistic Neurologic Infections in Patients with Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS). **Curr Neurol Neurosci Rep**. 2016 Jan;16(1):10.
4. AZOVTSEVA, O. V.; VIKTOROVA, E. A.; BAKULINA, E. G.; SHELOMOV, A. S.; TROFIMOVA, T. N.. Cerebral toxoplasmosis in HIV-infected patients over 2015–2018 (a case study of Russia). **Epidemiology And Infection**, [S.L.], v. 148, p. 1-6, 29 abr. 2020. Cambridge University Press (CUP). <http://dx.doi.org/10.1017/s0950268820000928>.
5. BACELLAR, H.; MUNOZ, A.; MILLER, E. N.; COHEN, B. A.; BESLEY, D.; SEINES, O. A.; BECKER, J. T.; MCARTHUR, J. C.. Temporal trends in the incidence of HTV-1-related neurologic diseases: multicenter aids cohort study, 1985-1992. **Neurology**, [S.L.], v. 44, n. 10, p. 1892-1892, 1 out. 1994. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1212/wnl.44.10.1892>.
6. BALDWIN, Kelly J.; CUMMINGS, Christopher L.. Herpesvirus Infections of the Nervous System. **Continuum: Lifelong Learning in Neurology**, [S.L.], v. 24, n. 5, p. 1349-1369, out. 2018. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1212/con.0000000000000661>.
7. BENJAMIN, L. A.; KELLY, M.; COHEN, D.; NEUHANN, F.; GALBRAITH, S.; MALLEWA, M.; HOPKINS, M.; HART, I. J.; GUIVER, M.; LALLOO, D. G.. Detection of herpes viruses in the cerebrospinal fluid of adults with suspected viral meningitis in Malawi. **Infection**, [S.L.], v. 41, n. 1, p. 27-31, 14 jul. 2012. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s15010-012-0292-z>.
8. BRODT, H Reinhard; KAMPS, Bernd S.; GUTE, Peter; KNUPP, Bernhard; STASZEWSKI, Shlomo; HELM, Eilke B.. Changing incidence of AIDS-defining

- illnesses in the era of antiretroviral combination therapy. **Aids**, [S.L.], v. 11, n. 14, p. 1731-1738, nov. 1997. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/00002030-199714000-00010>.
9. CHAKRABORTY, S.; RAHMAN, M.; SAHA, B. Occurrence of Opportunistic Infections in People Living with HIV/AIDS Following Antiretroviral Therapy in West Bengal, India. **Antiviral Research**, 2011.
 10. CHRISTO, P. P. *Aids e Sistema Nervoso*. p. 729–741, 2008.
 11. CORTI, Marcelo; VILLAFANE, María F.; VITTAR, Natalia; BANCO, María C.; PRIARONE, Maia; MAMMANA, Lilia; GILARDI, Leonardo. Meningoencephalitis due to Varicella Zoster Virus in AIDS patients. Report of eleven cases and review of the literature. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, [S.L.], v. 57, n. 6, p. 505-508, dez. 2015. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0036-46652015000600007>.
 12. FIGUEIREDO MA, DOMINGUES FINK MC, CASTRO T, BRAZ-SILVA PH, STEFFENS JC, EDUARDO FP, GALLOTTINI M, ORTEGA KL. Detection of human polyomaviruses JC and BK in liver pretransplant patients. **Oral Dis**. 2017 Nov;23(8):1127-1133. doi: 10.1111/odi.12707. Epub 2017 Jul 21. PMID: 28650084.
 13. GAETA, V.; CRISTINA, L.M; MANCINI, C; NAZZARI, C. Diagnosis of neurological herpesvirus infections: real time PCR in cerebral spinal fluid analysis. *New Microbiol*. 2009 Oct;32(4):333-40. PMID: 20128439.
 14. GASNAULT, Jacques; COSTAGLIOLA, Dominique; HENDEL-CHAVEZ, Houria; DULIOUST, Anne; PAKIANATHER, Sophie; MAZET, Anne-Aurélié; HERVE, Marie-Ghislaine de Goer de; LANCAR, Rémi; LASCAUX, Anne-Sophie; PORTE, LYDIE. Improved Survival of HIV-1-Infected Patients with Progressive Multifocal Leukoencephalopathy Receiving Early 5-Drug Combination Antiretroviral Therapy. **Plos One**, [S.L.], v. 6, n. 6, p. 20967, 30 jun. 2011. Public Library of Science (PLOS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0020967>.
 15. GRAHAM, Alice K.; FONG, Crystal; NAQVI, Asghar; LU, Jian-Qiang. Toxoplasmosis of the central nervous system: manifestations vary with immune responses. **Journal Of The Neurological Sciences**, [S.L.], v. 420, p. 117223, jan. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jns.2020.117223>.
 16. LI, JZ, SAX, PE. HSV-1 encephalitis complicated by cerebral hemorrhage in an HIV-positive person. **AIDS Read**. 2009 Apr;19(4):153-5. PMID: 19388182.
 17. LIN MH, Chen TC, Kuo TT, Tseng CC, Tseng CP. Real-time PCR for quantitative detection of *Toxoplasma gondii*. **J Clin Microbiol**. 2000;38(11):4121-4125. doi:10.1128/JCM.38.11.4121-4125.2000.
 18. LOPES, Cesar Castello Branco; CRIVILLARI, Murillo; PRADO, José Carlos Mann; FERREIRA, Cristiane Rubia; SANTOS, Pedro José dos; TAKAYASU, Vilma;

- LABORDA, Lorena Silva. Progressive multifocal leukoencephalopathy: a challenging diagnosis established at autopsy. **Autopsy And Case Reports**, [S.L.], v. 9, n. 1, p. 1-6, 2019. Editora Cubo. <http://dx.doi.org/10.4322/acr.2018.063>.
19. LUCAS JÚNIOR, Rodovaldo M; BOGONI, Giuliane; SCHNEIDER, Gustavo A Reis; SOUZA, Nidyanara F Castanheira de; CARVALHO, Maria Kassab; VIDAL, José Ernesto. AIDS-related cytomegalovirus encephalitis in the late ART era: a retrospective cohort study at a referral center in brazil. **International Journal Of Std & Aids**, [S.L.], p. 095646242211246, 6 set. 2022. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1177/09564624221124697>.
20. MATINELLA, Angela; LANZAFAME, M.; BONOMETTI, M. A.; GAJOFATTO, A.; CONCIA, E.; VENTO, S.; MONACO, S.; FERRARI, S.. Neurological complications of HIV infection in pre-HAART and HAART era: a retrospective study. **Journal Of Neurology**, [S.L.], v. 262, n. 5, p. 1317-1327, 1 abr. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00415-015-7713-8>.
21. MEYDING-LAMADÉ, Uta; STRANK, Cornelia. Herpesvirus infections of the central nervous system in immunocompromised patients. Therapeutic Advances In Neurological Disorders, [S.L.], v. 5, n. 5, p. 279-296, set. 2012. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1177/1756285612456234>
22. MEZA, L.F.; WALIA, R.; BUDDHDEV, B.; MULEY, S.; TOKMAN, S. Progressive Multifocal Leukoencephalopathy Presenting as Expressive Aphasia in a Lung Transplant Recipient. **The Journal Of Heart And Lung Transplantation**, [S.L.], v. 41, n. 4, p. 281, abr. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.healun.2022.01.690>.
24. NISSAPATORN V, LEE C, FATT QK, ABDULLAH KA. AIDS-related opportunistic infections in Hospital Kuala Lumpur. **J Infect Dis**. 2003;56(5–6):187–92. 4.
25. OPINTAN, A, Japheth; AWADZI, Benedict K; BINEY, Isaac J K; GANU, Vincent; DOE, Richard; KENU, Ernest; ADU, Rita F; OSEI, Mary M; AKUMWENA, Amos; GRIGG, Michael e. High rates of cerebral toxoplasmosis in HIV patients presenting with meningitis in Accra, Ghana. **Transactions Of The Royal Society Of Tropical Medicine And Hygiene**, [S.L.], v. 111, n. 10, p. 464-471, 1 out. 2017. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/trstmh/trx083>.

26. PANG, W. et al. Prevalence of Opportunistic Infections and Causes of Death among Hospitalized HIV-Infected Patients in Sichuan, China. n. 4, p. 231–242, 2018.
27. PANPALIA, Nikhilg; ONKARAPPA, Sarojaa; NAIK, Karkalr. Retrospective Hospital-based Study of Opportunistic Neuroinfections in HIV/AIDS. **Neurology India**, [S.L.], v. 68, n. 4, p. 875, 2020. Medknow. <http://dx.doi.org/10.4103/0028-3886.293440>.
28. PIZA, F, Fink MC; NOGUEIRA, GS,; PANNUTI CS, Oliveira AC; VIDAL JE. JC virus-associated central nervous system diseases in HIV-infected patients in Brazil: clinical presentations, associated factors with mortality and outcome. *Braz J Infect Dis*. 2012 Mar-Apr;16(2):153-6. PMID: 22552457.
29. REN, Li; WANG, Binghui; MIAO, Zhijiang; LIU, Pan; ZHOU, Shiyi; FENG, Yun; YANG, Shuting; XIA, Xueshan; WANG, Kunhua. A correlation analysis of HHV infection and its predictive factors in an HIV-seropositive population in Yunnan, China. **Journal Of Medical Virology**, [S.L.], v. 92, n. 3, p. 295-301, 18 nov. 2019. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jmv.25609>.
30. SIDDIQI, O. K.; GHEBREMICHAEL, M.; DANG, X.; ATADZHANOV, M.; KAONGA, P.; KHOURY, M. N.; KORALNIK, I. J.. Molecular Diagnosis of Central Nervous System Opportunistic Infections in HIV-Infected Zambian Adults. **Clinical Infectious Diseases**, [S.L.], v. 58, n. 12, p. 1771-1777, 25 mar. 2014. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/cid/ciu191>.
31. SILVA, Camila Almeida; OLIVEIRA, Augusto C. Penalva de; VILAS-BOAS, Lucy; FINK, Maria Cristina D.s.; PANNUTI, Cláudio S.; VIDAL, José E.. Neurologic cytomegalovirus complications in patients with AIDS: retrospective review of 13 cases and review of the literature. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, [S.L.], v. 52, n. 6, p. 305-310, dez. 2010. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0036-46652010000600004>.
32. TELLES, J. P; FERNANDES, R; BARROS, T.D; MAESTRI, A; VITORIANO, T; BORGES, L; TEIXEIRA, R; MARCUSSO, R; HAZIOT, M; DE OLIVEIRA, A. P; VIDAL, J.E. Neurological manifestations in people living with HIV/AIDS in the late cART era: a prospective observational study at a tertiary healthcare center in São Paulo, Brazil. **HIV Res Clin Pract**. 2021 Aug;22(4):87-95. Epub 2021 Sep 16. PMID: 34529920.
33. THAKUR, Kiran T.; BOUBOUR, Alexandra; SAYLOR, Deanna; DAS, Mitashee; BEARDEN, David R.; BIRBECK, Gretchen L.. Global HIV neurology. **Aids**, [S.L.], v.

- 33, n. 2, p. 163-184, 1 fev. 2019. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/qad.0000000000001796>.
34. UNAIDS. Estatísticas globais sobre o HIV/AIDS. Ministério da Saúde. Disponível em: <https://unaids.org.br/estatisticas/>. Acesso em: 13/05/2022.
35. VIDAL, J.E.; PENALVA DE OLIVEIRA, A.C.; FINK, M.C.D.S.; PANNUTI, C.S. & TRUJILLO, J.R. - AIDS-related progressive multifocal leukoencephalopathy: a retrospective study in a referral center in São Paulo, Brazil. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 50(4): 209-212, 2008.
36. VIDAL, José Ernesto. HIV-Related Cerebral Toxoplasmosis Revisited: current concepts and controversies of an old disease. **Journal Of The International Association Of Providers Of Aids Care (Jiapac)**, [S.L.], v. 18, p. 232595821986731, 1 jan. 2019. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1177/2325958219867315>.
37. WANG, J; A OZZARD, NATHAN, M; ATKINS, M; NELSON, M; GAZZARD, B; BOWER, M. The significance of Epstein Barr virus detected in the cerebrospinal fluid of people with HIV infection. **Hiv Medicine**, [S.L.], v. 8, n. 5, p. 306-311, jul. 2007. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1468-1293.2007.00475.x>.
38. WANG, Yanli; YANG, Jun; WEN, Ying. Lessons from Epstein-Barr virus DNA detection in cerebrospinal fluid as a diagnostic tool for EBV-induced central nervous system dysfunction among HIV-positive patients. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [S.L.], v. 145, p. 112392, jan. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112392>.
39. WANG, Ze-Dong; WANG, Shu-Chao; LIU, Huan-Huan; MA, Hong-Yu; LI, Zhong-Yu; WEI, Feng; ZHU, Xing-Quan; LIU, Quan. Prevalence and burden of *Toxoplasma gondii* infection in HIV-infected people: a systematic review and meta-analysis. **The Lancet Hiv**, [S.L.], v. 4, n. 4, p. 177-188, abr. 2017. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s2352-3018\(17\)30005-x](http://dx.doi.org/10.1016/s2352-3018(17)30005-x).
40. 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. **J Clin Virol**. 2008 Aug;42(4):326-34. doi: 10.1016/j.jcv.2008.03.005. Epub 2008 Apr 24. PMID: 18439871.
41. YANG, Rongrong; ZHANG, Hong; XIONG, Yong; GUI, Xien; ZHANG, Yongxi; DENG, Liping; GAO, Shicheng; LUO, Mingqi; HOU, Wei; GUO, Deyin. Molecular diagnosis of central nervous system opportunistic infections and mortality in HIV-infected adults in Central China. **Aids Research And Therapy**, Wuhan, v. 14, n. 1, p. 14-27, 2 maio 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12981-017-0150-2>.

42. ZHAO, Min; ZHUO, Chuanshang; LI, Qinguang; LIU, Lijuan. Cytomegalovirus (CMV) infection in HIV/AIDS patients and diagnostic values of CMV-DNA detection across different sample types. **Annals Of Palliative Medicine**, [S.L.], v. 9, n. 5, p. 2710-2715, set. 2020. AME Publishing Company. <http://dx.doi.org/10.21037/apm-20-1352>.

Article tables

Table 1: Absolute and relative frequency of sociodemographic and clinical characteristics of PLWHA with suspected CNS infection and neurological manifestations treated at the Tropical Medicine Foundation from January 2015 to December 2021.

Sociodemographic characteristics	Total (n=245)	(%)
Sex		
Male	142	58,0
Female	103	42,0
Neurological manifestations*		
Headache	136	61,0
Convulsive crisis	55	24,7
Lowering of the level consciousness	53	23,8
Mental confusion	50	22,4
Paresis of de MMII	45	20,2
Use of TARV	45	20,2
Regular	113	46,7
Virgins	63	26,0
Irregular	45	18,6
Abandonment	18	7,4
Not reported	6	2,4
Stage of HIV infection /TCD4+		
Stage 1	17	6,9
Stage 2	45	18,5
Stage 3	157	64,0
Unknown stage	26	10,6
Plasma viral load		
Detectable	168	78,5
Undetectable	46	21,5
Not reported	31	12,7
Clinical outcome		
Death	67	27,8
Not death	178	72,6

* The absolute and relative frequency values are subject to variations because the same patient has more than one neurological manifestation.

TARV – Antiretroviral therapy

MMII – Lower members

Table 2: Absolute and relative frequency of pathogens detected in 245 CSF samples from PLWHA with suspected CNS infection and neurological manifestations treated at the Tropical Medicine Foundation from January 2015 to December 2021.

Pathogen	Individual prevalence /N	(%)
<i>T. gondii</i>	22/72	30,5
<i>Cryptococcus sp.</i>	19/245	7.7
EBV	13/245	5.3
CMV	10/245	4,0
VZV	10/245	4,0
JCV	10/245	4,0
HSV-1	2/245	0,8
<i>M. tuberculosis</i>	2/245	0,8
HSV-2	1/245	0,4
BKV	1/245	0,4
Total	90	36,7