



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCIS

MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

EVENY PERLIZE MELO MARINHO

**CARACTERIZAÇÃO DAS INFECÇÕES NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL EM  
PACIENTES PEDIÁTRICOS DIAGNOSTICADOS EM UM LABORATÓRIO DE  
REFERÊNCIA NA CIDADE DE MANAUS-AMAZONAS**

MANAUS – AMAZONAS

DEZEMBRO/2022



EVENY PERLIZE MELO MARINHO



**CARACTERIZAÇÃO DAS INFECÇÕES NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL  
EM PACIENTES PEDIÁTRICOS DIAGNOSTICADOS EM UM LABORATÓRIO DE  
REFERÊNCIA NA CIDADE DE MANAUS-AMAZONAS**

Dissertação apresentada como requisito para a defesa de título de Mestre em Ciências da Saúde, no Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Amazonas, nível Mestrado Acadêmico. Linha de Pesquisa 1: Pesquisa Clínica e Saúde Pública.

**Orientadora:** MICHELE DE SOUZA BASTOS BARRIONUEVO

MANAUS – AMAZONAS

DEZEMBRO/2022

## Ficha Catalográfica

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

M338c Marinho, Eveny Perlize Melo  
Caracterização das infecções no sistema nervoso central em  
pacientes pediátricos diagnosticados em um laboratório de  
referência na cidade de Manaus-Amazonas / Eveny Perlize Melo  
Marinho . 2022  
124 f.: 31 cm.

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

1. Crianças . 2. Adolescentes. 3. Infecções neurológicas . 4.  
Diagnóstico . 5. Brasil. I. Barrionuevo, Michele de Souza Bastos . II.  
Universidade Federal do Amazonas III. Título

EVENY PERLIZE MELO MARINHO

**CARACTERIZAÇÃO DAS INFECÇÕES NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL EM  
PACIENTES PEDIÁTRICOS DIAGNOSTICADOS EM UM LABORATÓRIO DE  
REFERÊNCIA NA CIDADE DE MANAUS-AMAZONAS**

Dissertação apresentada como requisito para a defesa de título de Mestre em Ciências da Saúde, no Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Amazonas, nível Mestrado Acadêmico. Linha de Pesquisa 1: Pesquisa Clínica e Saúde Pública.

**Aprovada em: 07 de dezembro de 2022.**

**Banca examinadora**

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Michele De Souza Bastos Barrionuevo – Presidente Membro Interno  
Universidade Federal Do Amazonas – UFAM

Prof.<sup>a</sup> Dra.<sup>a</sup> Lúcia Alves da Rocha – Membro Interno  
Universidade Federal Do Amazonas – UFAM

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Márcia da Costa Castilho – Membro Externo  
Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado – FMT-HVD

## DEDICATÓRIO

Dedico à minha família, a minha orientadora e a todos que contribuíram para a realização deste trabalho

## AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus por sempre me mostrar que mesmo nos momentos mais desafiadores, somos capazes de alcançar tudo aquilo que traçamos para nós mesmos. Apesar da ajuda dele, somos nós, com a nossa garra e força de vontade que fazemos os sonhos virarem realidade.

À minha mãe, Naide Melo, por ser uma pessoa excepcional, por ter me dado a vida e me amar incondicionalmente. Você é uma mulher incrível e, se hoje eu finalizo mais um ciclo na minha vida, agradeço a você por ser meu exemplo de determinação. Que bom que exigiu para eu ser o melhor que pudesse ser como ser humano. Ao meu pai Ezolino Marinho, que apesar de não estar mais aqui na terra, estaria orgulhoso por essa conquista.

Aos meus irmãos Pâmela Nalide, Pablo Roberto e Lívia Naise; com vocês aprendi o significado de paciência, cuidar e amor. Vocês me ensinaram a ser uma pessoa melhor. Espero que a nossa ligação não seja apenas pelo sangue, mas sim pela amizade que possuímos.

À Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD), pela estrutura física e profissionais concedidos.

À Gerência de Virologia, que foi o primeiro setor da FMT-HVD a me conceder oportunidade como estagiária voluntária onde adquiri conhecimento e aperfeiçoamento das técnicas laboratoriais, bem como ganhei amizades e experiências que levarei comigo ao longo de minha caminhada.

À minha orientadora Dra. Michele Bastos, por ter me acolhido como sua aluna, por ter me mostrado o lado da pesquisa. Obrigada pela oportunidade e atenção desde o início dessa jornada. Obrigada pela paciência, pela forma única de ensinar, tanto na bancada quanto na escrita e por não ter desistido de mim.

À Gerência de Bacteriologia da Fundação de Medicina Tropical, que me proporcionou muitas amizades, amadurecimento pessoal, profissional e conhecimento científico. Em especial, à gerente do setor, Dra. Rossiclea Lins Monte, que ensina, incentiva, e acolhe todos com muito carinho.

Aos meus amigos de equipe, que são meus irmãos científicos: Sabrina Melo, Ewerton Silva, Sérgio Pinto, Valderjane Aprígio e Caio Leiva que compartilharam seus conhecimentos, dando todo suporte e me apoiaram durante essa trajetória e sempre me incentivaram a perseguir os meus objetivos.

Aos meus melhores amigos Yasmin Martins, Jeise Alves e Raillon Keven, por esses anos de convivência, pelo apoio, confiança, lealdade e cumplicidade. Vocês têm um lugar especial no meu coração. Obrigada por ter feito meus dias mais divertidos, e por todos os lanches após um dia exaustivo na FMT-HVD.

À agência de financiamento Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM), pela concessão de bolsa.

À Universidade Federal do Amazonas e ao Programa de pós-graduação Ciências da saúde (PPGCIS).

Aos membros da banca examinadora pela disponibilidade em participar da avaliação deste trabalho.

E por fim, a todas as pessoas que direta e indiretamente me ajudaram, apoiaram e incentivaram para conclusão deste curso de mestrado.

## **EPÍGRAFE**

*Correr risco ou perder a Chance?*  
Marko Halilovic

## RESUMO

**Introdução:** As infecções do sistema nervoso central são importantes causas de mortalidade e morbidade em pacientes pediátricos e estão em grande parte relacionadas a complicações graves, como perda auditiva, sequelas neurológicas ou óbito. Sinais clínicos inespecíficos geralmente progridem à medida que meningite, encefalite e meningoencefalite se desenvolvem. Vários agentes etiológicos podem causar essas infecções, entre as quais vírus e bactérias são especialmente notáveis. Uma vez que as infecções neurológicas são uma preocupação significativa na população pediátrica, e uma vez que ainda existem lacunas na compreensão dos aspectos patológicos e epidemiológicos na faixa etária infantil, é essencial aprofundar as pesquisas nessa área. **Objetivo:** O objetivo deste estudo foi avaliar o perfil clínico e laboratorial de pacientes pediátricos diagnosticados com infecções do sistema nervoso central (SNC) em um laboratório de referência em Manaus, Amazonas, Brasil. **Metodologia:** Trata-se de um estudo transversal, descritivo e retrospectivo que utilizou amostras de líquido cefalorraquidiano de pacientes pediátricos com suspeita clínica de infecção do sistema nervoso central de uma rede hospitalar de puericultura da cidade de Manaus no período de 2014 a 2020. As amostras do LCR foram submetidas à investigação microbiológica, bioquímica e molecular. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FMT-HVD. **Resultados:** 766 pacientes pediátricos foram considerados elegíveis para o estudo, a faixa etária predominante foi de 1 a 4 anos e 56% eram do sexo masculino. As apresentações clínicas incluíram febre, vômitos e cefaleia. O agente etiológico foi identificado em 117 amostras, sendo as bactérias os principais agentes, isolados em 72,6% dos casos. As infecções mais prevalentes foram *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* e *Haemophilus influenzae* tipo b. Enterovírus, herpesvírus e arbovírus foram os agentes virais mais prevalentes. **Conclusão:** A prevalência geral de infecções do sistema nervoso central na população pediátrica de Manaus foi de 15,4%. 61,9% das amostras eram patógenos imunopreveníveis, enquanto 27,4% eram vírus de diferentes famílias. É importante ter uma vigilância laboratorial ativa com métodos sensíveis capazes de identificar, caracterizar e monitorar principalmente agentes evitáveis, responsáveis por uma ampla gama de doenças neurológicas graves.

**Palavras chaves:** crianças, adolescentes, infecções neurológicas, diagnóstico, Brasil.

## ABSTRACT

**Introduction:** Central nervous system infections are important causes of mortality and morbidity in pediatric patients and are largely related to severe complications such as hearing loss, neurological sequelae, or death. Nonspecific clinical signs usually progress as meningitis, encephalitis, and meningoencephalitis develop. Several etiological agents can cause these infections, among which viruses and bacteria are especially notable. Since neurological infections are a significant concern in the pediatric population, and since there are still gaps in our understanding of pathological and epidemiological aspects in the infant age group, it is essential to deepen research in this area. **Objective:** The aim of this study was to evaluate the clinical and laboratory profile of pediatric patients diagnosed with central nervous system (CNS) infections in a reference laboratory in Manaus, Amazonas, Brazil. **Methodology:** This is a cross-sectional, descriptive, and retrospective study that used cerebrospinal fluid samples from pediatric patients with clinical suspicion of central nervous system infection from a hospital network of childcare in Manaus city from 2014 to 2020. The CSF samples were subjected to microbiological, biochemical, and molecular investigation. The Research Ethics Committee approved this study. **Results:** 766 pediatric patients were considered eligible for the study, the predominant age group being 1 to 4 years and 56% were male. The clinical presentations included fever, vomiting, and a headache. The etiological agent was identified in 117 samples, with bacteria being the main agents, isolated in 72.6% of the cases. The most prevalent infections were *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* type b. Enterovirus, herpesvirus, and arboviruses were the most prevalent viral agents. **Conclusion:** The overall prevalence of central nervous system infections in the pediatric population of Manaus was 15.4%. 61.9% of the samples were immune-preventable pathogens, while 27.4% were viruses from different families. It is important to have an active laboratory surveillance with sensitive methods capable of identifying, characterizing, and monitoring mainly preventable agents, responsible for a wide range of severe neurological diseases.

**Keywords:** children, adolescents, neurological infections, diagnosis, Brazil.

## LISTAS DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Sistema nervoso central.....	19
<b>Figura 2:</b> Barreiras Neurais.....	23
<b>Figura 3:</b> Incidência padronizada de meningite.....	27
<b>Figura 4:</b> Taxa de incidência de <i>Streptococcus pneumoniae</i> . ....	30
<b>Figura 5:</b> Taxas de mortalidade e óbitos <i>Haemophilus influenzae</i> tipo b.....	31
<b>Figura 6:</b> Diplococos de <i>Neisseria meningitidis</i> .....	33
<b>Figura 7:</b> Diplococos <i>Streptococcus pneumoniae</i> .....	33
<b>Figura 8:</b> Bacilos de <i>Haemophilus influenzae</i> .....	34
<b>Figura 9:</b> Esquema da partícula dos Enterovírus humanos.....	37
<b>Figura 10:</b> Esquema da partícula dos Herpesvírus humanos.....	38
<b>Figura 11:</b> Mecanismo fisiopatológico das barreiras neurais.....	42
<b>Figura 12:</b> Descrição de possíveis mecanismos do vírus SNC .....	44
<b>Figura 13:</b> Demonstração da punção lombar .....	45
<b>Figura 14:</b> Fluxograma de inclusão dos pacientes.....	59
<b>Figura 15:</b> Distribuição por etiologias em pacientes pediátricos com infecção no SNC.....	63
<b>Figura 16:</b> Distribuição agentes bacterianos isolados em amostras no LCR.....	65

## LISTAS DE TABELAS

- Tabela 1:** Características sociodemográficas e clínicas dos 766 pacientes pediátricos com suspeita de infecção no SNC diagnosticados em um laboratório de referência em Manaus-Am, no período de janeiro de 2014 a dezembro de 2020.....60
- Tabela 2:** Características epidemiológicas dos pacientes pediátricos com agente etiológico identificado no líquido cefalorraquidiano em um laboratório referência em Manaus-Am, no período de janeiro de 2014 a dezembro de 2020.....62
- Tabela 3:** Frequência das manifestações clínicas, sinais e sintomas, internação e desfecho de pacientes pediátricos com agente etiológico identificado no LCR em um laboratório referência em Manaus-Am, no período de janeiro de 2014 a dezembro de 2020.....64
- Tabela 4:** Frequência dos agentes bacterianos isolados em amostras de líquido cefalorraquidiano de pacientes pediátricos em um laboratório de referência em Manaus-Am, no período de janeiro de 2014 a dezembro de 2020.....66
- Tabela 5:** Frequência dos agentes virais identificados em amostras de líquido cefalorraquidiano de pacientes pediátricos em um laboratório de referência em Manaus-Am, no período de janeiro de 2014 a dezembro de 2020.....67
- Tabela 6:** Parâmetros celulares e bioquímicos de amostras de líquido cefalorraquidiano de pacientes pediátricos com neuroinfecção diagnosticados em um laboratório de referência em Manaus-Am, no período de janeiro de 2014 a dezembro de 2020.....68

**LISTAS DE ABREVIATURAS**

- ATPase**- Adenosinatrifosfatase
- BHE**- Barreira Hematoencefálica
- BHL**- Barreira Hematoliquórica
- BHR**- Barreira hematoretiniana
- CDC**- Centers for Disease Control and Prevention
- CHIKV**- Chikungunya
- CMV**- Citomegalovírus
- DATASUS**- Banco de Dados do Sistema Único de Saúde
- DENV**- Dengue
- DNA**- Ácido desoxirribonucleico
- DVE**-Derivação ventilar externa
- DVP**- Derivação ventrículo peritoneal
- EBV**- Epstein-Barr vírus
- EEG**- Eletroencefalograma
- EMB**- Eosina Azul Metileno
- EV**- Enterovírus
- FMT-HVD**- Fundação de Medina Tropical- Dr. Heitor Vieira Dourado
- GBD**- Global burden of diseases
- ICTV**-International commite on taxonomy of viruses
- IgM**- Imunoglobulina M
- HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>**-- íons bicabornato
- Hib**- *Haemophilus influenzae* tipo b
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**- Peróxido de hidrogênio
- HHV-6**- Herpes humano tipo 6
- HHV-7**- Herpes humano tipo 7
- HHV-8**- Herpes humano tipo 8
- HIV**-Vírus da imunodeficiência humana
- HSV-1**- Herpes Simplex tipo 1
- HVS-2**- Herpes Simplex tipo 2
- Kpb**- Pares de bases
- K<sup>+</sup>**- Potássio

**LCR**- Líquido cefalorraquidiano  
**NA<sup>+</sup>** - Sódio  
**MA**- Meningites Asséptica  
**MAYV**- Vírus Mayaro  
**mm<sup>3</sup>**- Milímetros cúbicos  
**mg/dL**- Miligramas por decilitros  
**MB**- Meningite Bacteriana  
**MV**-Meningite Viral  
**NmC**- *Neisseria meningitidis* sorogrupo tipo C  
**NmX**- *Neisseria meningitidis* sorogrupo tipo X  
**NmW**- *Neisseria meningitidis* sorogrupo tipo W  
**OMS**- Organização mundial da saúde  
**OROV**- Vírus Oropouche  
**PL**- Punção lombar  
**PCR**- Reação em Cadeia da Polimerase  
**qPCR**- Reação em cadeia da polimerase em Tempo Real  
**SUS**- Sistema único de saúde  
**SNC**- Sistema Nervoso Central  
**TSI**- Tríplice de açúcar ferro  
**UFAM**- Universidade Federal do Amazonas  
**VZV**- Varicela zoster vírus  
**VR**- Variação de referência  
**ZIKV**- Zika Vírus  
**YFV**- Vírus da febre amarela  
**WNV**- West Nile Vírus

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>18</b>
<b>2</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....</b>	<b>20</b>
2.1	SISTEMA NERVOSO CENTRAL .....	20
2.2	LÍQUIDO CEFALORRAQUIDIANO .....	21
2.3	BARREIRAS NEURAIS .....	21
2.3.1	<i>Barreira Hematoencefálica</i> .....	21
2.3.2	<i>Barreira Hematoliquórica</i> .....	22
2.3.3	<i>Barreira Hematorretiniana</i> .....	23
2.3.4	<i>Barreira Hemato-espinhal</i> .....	23
2.4	DEFINIÇÃO ETIOLÓGICA.....	25
2.4.1	<i>Meningites</i> .....	25
2.4.2	<i>Meningites Bacterianas (MB)</i> .....	25
2.4.3	<i>Meningite Asséptica (MA)</i> .....	25
2.4.4	<i>Meningite Viral (MV)</i> .....	26
2.4.5	<i>Encefalite</i> .....	26
2.4.6	<i>Meningoencefalite</i> .....	27
2.5	EPIDEMIOLOGIA DAS MENINGITES BACTERIANAS .....	27
2.5.1	<i>Neisseria meningitidis</i> .....	29
2.5.2	<i>Streptococcus pneumoniae</i> .....	30
2.5.3	<i>Haemophilus influenzae</i> .....	31
2.6	CARACTERÍSTICAS DOS PATÓGENOS CAUSADORES DA MENINGITE BACTERIANA.....	33
2.6.1	<i>Neisseria meningitidis</i> .....	33
2.6.2	<i>Streptococcus pneumoniae</i> .....	34
2.6.3	<i>Haemophilus influenzae</i> .....	35
2.7	EPIDEMIOLOGIA DAS MENINGITES VIRAIS.....	36
2.8	CARACTERÍSTICAS DOS PATÓGENOS CAUSADORES DE MENINGITE VIRAL .....	37
2.8.1	<i>Enterovírus</i> .....	37
2.8.2	<i>Herpesviridae</i> .....	39
2.8.3	<i>Arbovírus</i> .....	41
2.9	FISIOPATOLOGIA DAS INFECÇÕES NO SNC.....	43
2.9.1	<i>Infecções bacterianas</i> .....	43
2.9.2	<i>Infecções virais</i> .....	44

2.10	DIAGNÓSTICO .....	46
2.11	PUNÇÃO LOMBAR .....	46
2.12	DIAGNÓSTICO CONVENCIONAL .....	47
2.12.1	<i>Análise Física</i> .....	47
2.12.2	<i>Análise Citológica</i> .....	48
2.12.3	<i>Análise Microbiológica</i> .....	48
2.12.4	<i>Análise Bioquímica</i> .....	48
2.13	DIAGNÓSTICO MOLECULAR.....	49
<b>3</b>	<b>JUSTIFICATIVA .....</b>	<b>50</b>
<b>4</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>51</b>
4.1	GERAL .....	51
4.2	ESPECÍFICO .....	51
<b>5</b>	<b>MATERIAS E METODOS .....</b>	<b>52</b>
5.1	TIPO DE ESTUDO.....	52
5.2	PARTICIPANTES DO ESTUDO .....	52
5.3	CRITÉRIOS DE INCLUSÃO .....	52
5.4	CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO .....	53
5.5	DEFINIÇÕES DE CASOS .....	53
5.5.1	<i>Caso suspeito:</i> .....	53
5.5.2	<i>Caso provável:</i> .....	54
5.5.3	<i>Caso confirmado</i> .....	54
5.6	DURAÇÃO DO ESTUDO .....	54
5.7	PROCEDIMENTOS .....	54
5.8	DIAGNÓSTICO LABORATORIAL (MICROBIOLÓGICO) .....	55
5.8.1	<i>Dosagem da glicose no LCR (glicorraquia):</i> .....	55
5.8.2	<i>Dosagem da proteína total no LCR (proteínorraquia):</i> .....	55
5.8.3	<i>Dosagem do lactato no LCR:</i> .....	56
5.9	EXAME BACTERIOLÓGICO .....	56
5.10	EXAME IMUNOLÓGICO .....	56
5.11	DIAGNÓSTICO MOLECULAR (VIRAL) .....	56
5.11.1	<i>Extração de DNA e RNA</i> .....	57
5.11.2	<i>PCR para os vírus da família Herpesviridae.</i> .....	57

5.11.3	<i>Reação de Transcrição reversa (RT)</i> .....	57
5.11.4	<i>Diagnóstico diferencial para arbovírus</i> .....	58
5.11.5	<i>Eletroforese em gel de agarose</i> .....	58
5.11.6	<i>PCR em tempo real (qPCR)</i> .....	58
5.12	DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO .....	59
5.13	ANÁLISE DE DADOS .....	59
5.14	ASPECTOS ÉTICOS .....	59
<b>6</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>60</b>
6.1	INFECÇÃO BACTERIANA .....	66
6.2	INFECÇÕES VIRAIS .....	68
6.3	PARÂMETROS CELULARES E BIOQUÍMICOS.....	69
<b>7</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>70</b>
<b>8</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>76</b>
<b>9</b>	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>77</b>
<b>10</b>	<b>ANEXO</b> .....	<b>94</b>
10.1	PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA.....	94
<b>11</b>	<b>APÊNDICE</b> .....	<b>95</b>
11.1	APRESENTAÇÃO DAS VARIÁVEIS DO BANCO DE DADOS.....	95
11.2	ARTIGO.....	97

## 1 INTRODUÇÃO

As infecções do sistema nervoso central (SNC) são importantes causas de morbimortalidade em pacientes pediátricos e estão, em sua maioria, relacionadas a complicações graves, que vão desde a perda da audição, sequela neurológica e morte. As manifestações clínicas são inespecíficas e na maioria dos casos cursam com o desenvolvimento de meningites, encefalites e meningoencefalites. Estas infecções podem ser causadas por diferentes agentes etiológicos, dentre estes, destacam-se os vírus e bactérias (DE BLAUW et al., 2020; SINGHI, 2019)

Um estudo recente demonstrou que, nos países em desenvolvimento ocorre uma maior incidência de infecções no SNC, que varia de 299 a 726 por 100.000 habitantes. Entretanto, em países desenvolvidos essa taxa é menor, variando de 11 por 100.000 habitantes. Além disto, outros fatores importantes podem influenciar na persistência e disseminação destas infecções, como: pobreza, superlotação no sistema público de saúde, saneamento insuficiente, região geográfica faixas etárias e à capacidade dos vetores de transitar de forma eficiente, como é o caso de alguns vírus transmitidos por artrópodes (Dengue, Zika, Chikungunya etc.) (ROBERTSON et al., 2019).

A população pediátrica é particularmente vulnerável à maioria das infecções e quando ocorrem no SNC, podem ser devastadoras. As manifestações clínicas em crianças cursam com sinais e sintomas diferentes e variáveis em comparação com pacientes adultos, e a identificação precoce e o tratamento podem alterar o curso da doença (WORMSER; NATH, 2015).

A epidemiologia das infecções no SNC em pacientes pediátricos está bem documentada em países desenvolvidos, porém, em regiões com recursos escassos, a vigilância epidemiológica e laboratorial é limitada. Muitos casos são subdiagnosticados e, portanto, permanecem subestimados (SINGHI; GRIFFIN; NEWTON, 2014).

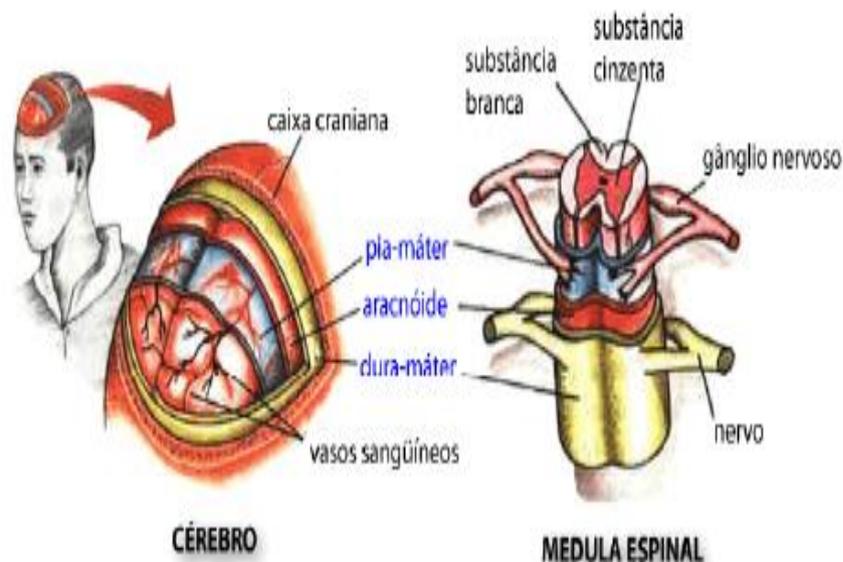
A identificação do agente etiológico é imprescindível para o tratamento adequado. Sendo assim, o fluido de escolha para diagnóstico dos casos neurológicos é o líquido cefalorraquidiano (LCR), e os métodos mais difundidos são: microbiológicos, sorológicos e moleculares (reação em cadeia da polimerase (PCR); NESTED-PCR e PCR em tempo real (qPCR). Atualmente, o uso de diferentes técnicas tem contribuído para um diagnóstico mais acurado (COSTERUS et al., 2020; VETTER et al., 2020).

Nesse contexto, conhecer o perfil das infecções neurológicas na população pediátrica, tem se tornado um tema de interesse crescente, visto que, existem várias lacunas sobre os aspectos patológicos e epidemiológicos destas infecções na faixa-etária infantil. Desse modo, a vigilância epidemiológica e laboratorial ativa, podem contribuir para o conhecimento dos agentes circulantes, propor a implementação de estratégias de diagnóstico precoce e contribuir para a prevenção e tratamento.

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 Sistema Nervoso Central

O sistema nervoso central, é o principal sistema do organismo responsável por coordenar as funções orgânicas, sensoriais, motoras e adaptativas do corpo. É constituído basicamente pelo encéfalo, que inclui o cérebro, cerebelo e tronco encefálico, e pela medula espinhal. Sua estrutura é rigidamente protegida pela caixa craniana e recoberta por três meninges: **dura-máter**, formada por tecido conjuntivo denso, que constitui a camada mais externa; **aracnoide**, uma membrana serosa de posição mediana; e a **pia-máter** com membrana vascularizada e mais interna do SNC. Entre as meninges aracnoide e pia-máter, encontra-se o líquido cefalorraquidiano que tem como finalidade proteger as estruturas cerebrais. (MACHADO RL, GOMES, HR 2003; NETTER, FH 2015).



**Figura 1-** Representação do sistema nervoso central mostrando cérebro e medula espinhal e as três meninges

**Fonte:** <http://cistosaracnoide.org/images/anatomia/cerebro/meninges2.png>

## 2.2 Líquido Cefalorraquidiano

O líquido cefalorraquidiano é um fluido incolor e transparente, que preenche os ventrículos cerebrais, o canal da medula espinhal e os espaços subaracnóideos, entre a pia-máter e a aracnoide, fornecendo nutrientes e moléculas sinalizadoras e eliminando subprodutos tóxicos do cérebro. É separado da corrente sanguínea e do parênquima do SNC por um sistema de barreira justaposto que compreende o epitélio endotelial, do plexo coroide, as membranas modificadas e as vilosidades aracnóides. O LCR tem funções protetora (proteção) e metabólicas, de transporte e excreção (COSTERUS et al., 2020; ZHOU et al., 2021).

O LCR é secretado dentro do encéfalo por uma estrutura epitelial altamente vascularizada chamada plexo coroide. O mesmo, circula pelo encéfalo, medula espinhal, no espaço subaracnóideo, ventrículos cerebrais e canal central da medula. O plexo coroide é responsável pela estabilização da composição do fluido. Em sua normalidade, o LCR é oligocelular (1 a 5 células/mm<sup>3</sup>) e oligoproteico. O seu aspecto é límpido, incolor, translúcido, com baixa concentração de glicose, potássio e magnésio (PUCCIONI, 2008).

A análise do LCR é essencial, pois permite identificar características específicas de infecções causadas por vírus e bactérias. O processo infeccioso pode ser caracterizado em: meningites, quando a inflamação ocorre no espaço subaracnóideo, aracnóides e pia-máter; encefalites, quando o processo inflamatório ocorre no encéfalo; e meningoencefalite, que corresponde ao comprometimento tanto das meninges quanto do encéfalo (PUCCIONI, 2008).

## 2.3 Barreiras Neurais

### 2.3.1 Barreira Hematoencefálica

A barreira hematoencefálica (BHE) é formada por vasos sanguíneos do SNC que tem a capacidade de regular rigorosamente a transferência de íons, moléculas e células entre o sangue e o tecido neural. Em 1885, Paul Ehrlich demonstrou pela primeira vez o mecanismo de proteção da BHE através da injeção de corante azul tripan, constatando a presença deste em

todos os espaços extravasculares dos tecidos, exceto no tecido do sistema nervoso, mostrando com isso, que o corante não atravessou a parede dos capilares cerebrais. Mas, quando esse corante foi injetado diretamente no LCR, observou-se a coloração no tecido nervoso cerebral, concluindo-se que, no encéfalo existe algo que impede a troca de substâncias entre o sangue e o tecido nervoso, ou seja, a BHE (BLANCHETTE; DANEMAN, 2015; CAMPOS-BEDOLLA et al., 2014).

A BHE é composta pelo endotélio de microvasos cerebrais e rodeadas por células endoteliais, pericitos, astrocíticos, micróglia e neurônios, que interagem para formar o sistema neurovascular. O endotélio fornece oxigênio e nutrientes, como glicose, aminoácidos e outros neurotransmissores precursores para o cérebro, removendo produtos residuais e restringindo severamente a permeabilidade de substâncias potencialmente tóxicas, agentes neuroativos e patógenos. Tanto na BHE, quanto no plexo coroide, as junções estreitas entre células adjacentes restringem a difusão de solutos polares através da fenda intercelular para a via celular (POLLAK et al., 2018).

### 2.3.2 Barreira Hematoliquórica

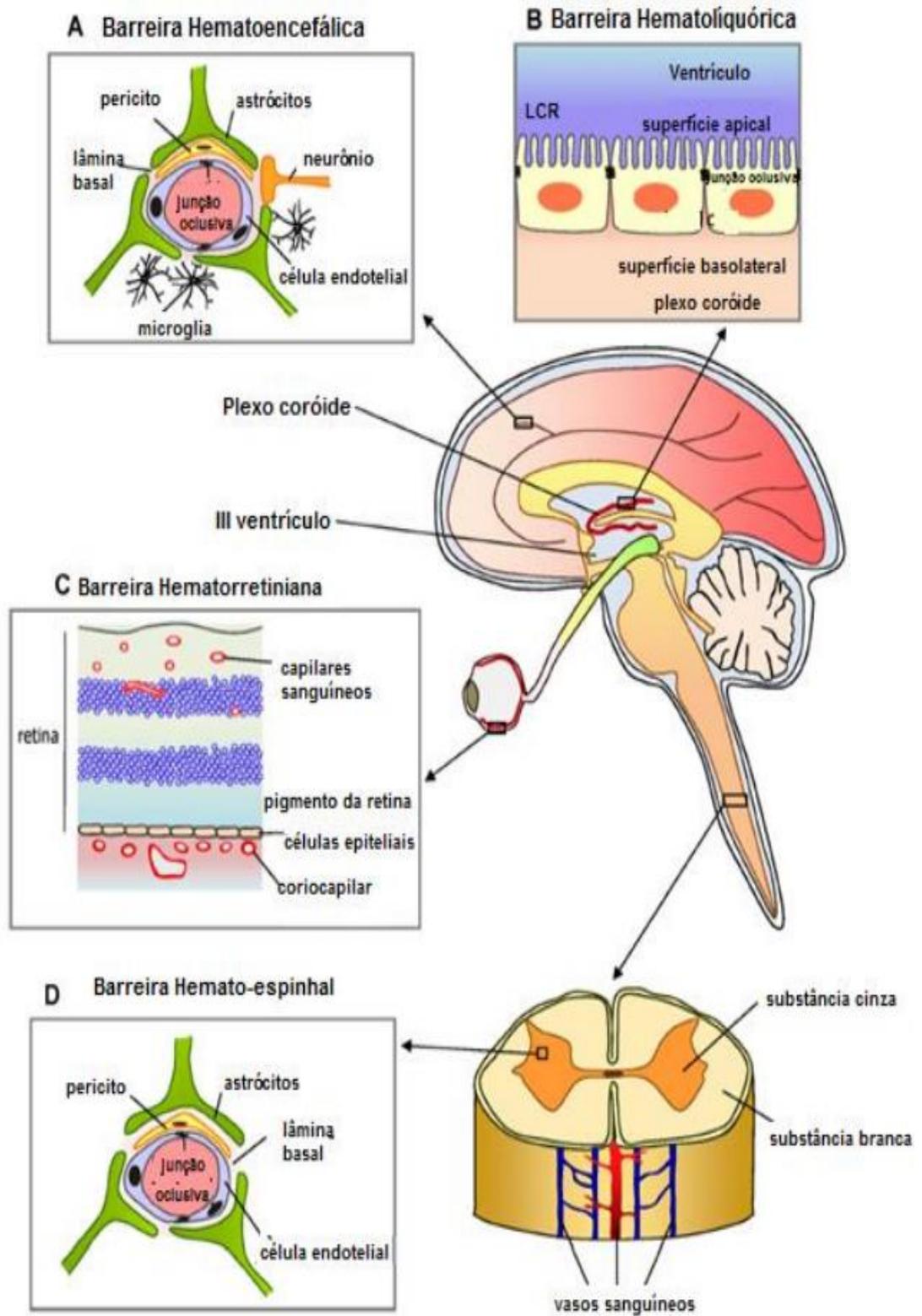
A barreira hematoliquórica (BHL) é formada por três estruturas: o epitélio endimário, que recobre os plexos coroides localizados nos ventrículos cerebrais; e as células imunes e capilares fenestrados; e por junções de oclusão que reúnem as células próximas à superfície ventricular. As células epiteliais do plexo coroide apresentam moléculas transportadoras como  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase, transportador de  $\text{Na}^+/\text{Na}^+\text{HCO}_3^-$  (Co-transportador eletrogênico-NBCE2) e co-transportador de potássio e cloreto (KCC4). Portanto, a BHL exerce a função de manter a homeostase do cérebro, pois permite a passagem direta de água, íons e nutrientes para o interior LCR. (SCHMITT et al., 2017).

### 2.3.3 Barreira Hematorretiniana

A imagem visual é focada na retina do olho. Os vasos sanguíneos fornecem oxigênio e nutrientes a retina. A barreira hematorretiniana (BHR) pode ser dividida em regiões internas e externas, onde os vasos coróides são fenestrados. A camada externa é composta por epitélio pigmentar, enquanto a camada interna é formada por microvasos especializados na retina e seus pericitos circundantes como os pés terminais dos astrócitos, as quais desempenham papéis essenciais na proteção dos tecidos neurais de materiais tóxicos e na manutenção das funções neuronais da retina. Os astrócitos reconhecem a hipóxia retiniana guiando o desenvolvimento da vasculatura retiniana e aumentando a expressão de fatores angiogênicos que induzem a hipóxia, à exemplo do fator-1 $\alpha$  induzível por hipóxia (HIF-1 $\alpha$ ) e fator de crescimento endotelial vascular. O oxigênio entregue pela nova formação da vasculatura retiniana é um fator importante na cessação da angiografia retiniana (CHOI; KIM, 2008).

### 2.3.4 Barreira Hemato-espinhal

A medula espinhal faz parte do SNC e está conectada ao tronco cerebral. A barreira hemato-espinhal consiste em microvasos bem diferenciados dos pericitos e terminais astrocíticos dos pés, semelhantes a BHE. As diferenças são pequenas entre a BHE e barreira hemato-espinhal, por exemplo, os vasos da medula espinhal possuem depósitos de glicogênio, que normalmente não se vê nos microvasos cerebrais. Além disso, a medula espinhal tem maior permeabilidade do que o encéfalo. A lesão traumática da medula espinhal resulta em inflamação intraparenquimatosa, ruptura da barreira e angiogênese (REINHOLD; RITTNER, 2017; CHOI; KIM, 2008).



**Figura 2-** Barreiras Neurais

**Fonte:** Adaptado (CHOI; KIM, 2008)

## 2.4 Definição etiológica

### 2.4.1 Meningites

A meningite é uma doença inflamatória que acomete as membranas (meninges) que recobrem o cérebro e a medula espinhal. Pode ser causada por agentes bacterianos, virais, fúngicos ou parasitas, ou estar associado à autoimunidade, câncer e reações a medicamentos. Dentre as meningites infecciosas destacam-se as infecções bacterianas e virais, devido sua alta prevalência na população pediátrica (ZUNT et al., 2018)

### 2.4.2 Meningites Bacterianas (MB)

A meningite bacteriana (MB) é definida como uma resposta inflamatória à invasão de bactérias nas membranas aracnoides, pia-máter e do SNC circundante. Essa infecção geralmente envolve toda a extensão do neuro eixo, incluindo o cérebro e a medula espinhal, nervos ópticos e suas membranas de cobertura, devido à natureza contínua do espaço subaracnóide. As manifestações clínicas são de início agudo, com o desenvolvimento de cefaleia, febre, irritabilidade e rigidez de nuca, com ou sem sinais neurológicos focais ao longo de horas a alguns dias de infecção (ARCHIBALD; QUISLING, 2013).

### 2.4.3 Meningite Asséptica (MA)

A meningite asséptica (MA) é caracterizada pelo início agudo da manifestação clínica da infecção do SNC, sem presença de pleocitose no LCR e nenhum agente bacteriano identificável pela coloração de Gram ou cultura. As manifestações clínicas podem ser: febre, fotofobia, rigidez de nuca, convulsão, cefaleia, anorexia, dor de garganta e erupção cutânea.

Esta pode ocorrer em qualquer idade, porém, é mais comum na população pediátrica (KUMAR, 2020; MOGHADAM et al., 2020).

#### 2.4.4 Meningite Viral (MV)

Meningite viral é a inflamação das meninges causadas por um vírus. É caracterizada por um quadro clínico de alterações neurológicas, que geralmente é benigna, apresentando celularidade no LCR que varia entre 50 e 500 células/mm, com predominância de linfomononuclear. Assim como nas MA, as crianças são mais suscetíveis (CANTU RM; M Das 2020).

#### 2.4.5 Encefalite

Encefalite é definida como uma síndrome neurológica causada pela inflamação do parênquima cerebral associada à disfunção neurológica. Os sinais e sintomas característicos são: alteração do estado mental, febre aguda, convulsões, déficits neurológicos, presença de pleocitose no LCR e anormalidades no eletroencefalograma (EEG). Esta pode ser causada pela ação direta dos microrganismos no parênquima cerebral (bactérias, fungos, vírus, parasitas). Os agentes etiológicos que frequentemente causam esse tipo de infecção são os vírus *herpes simplex* 1 e 2 (HSV-1 e HSV-2), *enterovírus* (EV), *arbovírus*, *citomegalovírus* (CMV) e *Epstein-Barr vírus* (EBV) (COSTA; SATO, 2020; KENNEDY; QUAN; LIPKIN, 2017; KNEEN et al., 2012).

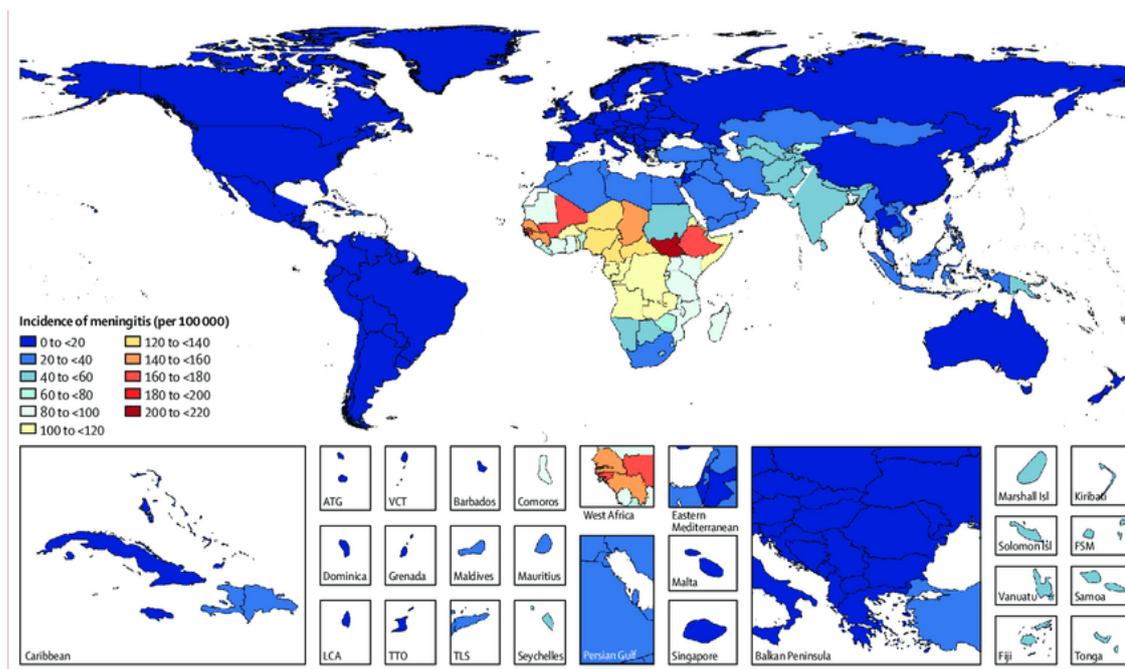
#### 2.4.6 Meningoencefalite

Meningoencefalite é um processo inflamatório grave que afeta tanto o parênquima cerebral quanto as meninges, causando febre, dor de cabeça grave, convulsões e, em alguns casos, danos neurológicos (SOUSA et al., 2021).

### 2.5 Epidemiologia das meningites bacterianas

A meningite é uma doença de prevalência mundial cujas características clínicas e epidemiológicas estão associadas a alguns fatores como: socioeconômicos, ambientais e infecciosos (principalmente vírus e bactérias). A incidência da MB mudou drasticamente no último século com a implantação das vacinas conjugadas. No entanto, continua sendo uma das causas mais frequentes de morbimortalidade, além de estar relacionada às sequelas de longo prazo, disfunção neurocognitivas e transtornos de desenvolvimento. (CHRISTIE et al., 2017; MATHEW et al., 2021).

Em 2016, o estudo Global Burden of Diseases (GBD), demonstrou uma redução de 21% nos números de mortes por meningites no período de 1990 a 2016, variando de 403.012 para 318.400 mortes. Já a incidência aumentou de 2.50 milhões em 1990 para 2.82 milhões em 2016. Estes dados estiveram intimamente relacionados aos baixos índices sociodemográficos de países como a África Subsaariana, em que os casos incidentes são os mais altos, com taxas de 207.4 por 100.000 habitantes (figura 3) (ZUNT et al., 2018).



**Figura 3:** Incidência padronizada de meningite por 100 000 habitantes por localização para ambos os sexos, 2016.  
**Fonte:** (ZUNT et al., 2018)

A meningite afeta todas as idades, porém, as crianças pequenas são mais suscetíveis. Os recém-nascidos estão em maior risco de estreptococos do Grupo B, as crianças pequenas estão em maior risco de meningococo, pneumococo e *Haemophilus influenzae*. Adolescentes e adultos jovens estão em risco particular de doença meningocócica, enquanto os idosos estão em risco particular de doença pneumocócica (WHO, 2021).

A incidência global de MB é de 34 novos casos por 100.000 crianças com uma taxa de mortalidade de 14,4%. A maior parte dos casos reflete os dados da zona designada de “cinturão da meningite”, entre a Etiópia e o Senegal, que apresentam alta taxa de incidência de 143,6 novos casos por 100.000 crianças e mortalidade de 31,3%. Na Europa, pelo acesso facilitado a cuidados de saúde e a melhores condições de higiene, as taxas de incidência e de mortalidade são menores, chegando a 20,8 novos casos por 100.000 crianças anualmente, com mortalidade de 8,1%. (LUKŠIĆ et al., 2013).

### 2.5.1 *Neisseria meningitidis*

A doença meningocócica ocorre em todo o mundo, com variação significativa nas taxas de doença com base em complexos clonais circulantes, sorogrupo, localização geográfica, suscetibilidade da população e idade. Ela pode ser esporádica, ou causar surtos ou grandes epidemias. Porém, as grandes epidemias recorrentes afetam principalmente uma extensa região da África subsaariana que compreende 26 países, do oeste do Senegal para o leste da Etiópia. (DRETLER; ROUPHAEL; STEPHENS, 2018).

A doença causada pelo sorogrupo A na região da África subsaariana praticamente desapareceu após a implementação da vacina meningocócica conjugada polissacarídeo-toxóide tetânico (PsA-TT; MenAfriVac) introduzida no país de Burkina Faso no ano de 2010, diminuindo a incidência geral em 2013 para menos de 5 casos por 100.000 habitantes. O programa de vacinação estendeu-se para todos os países do cinturão, sendo 280 milhões de doses administradas entre 2010 e 2017, em algumas áreas do cinturão a meningite meningocócica caiu de 10-26/100.000 hab., para 2-3/100.000 hab. No modo geral, a incidência de casos suspeitos de meningite teve um declínio de 57% após a introdução do MenAfriVac. Além do sorogrupo A, os sorogrupos W (NmW), C (NmC) e X (NmX) também foram e ainda são responsáveis por epidemias localizadas e ocasionalmente por ondas epidêmicas mais disseminadas (TROTTER et al., 2017).

Em países desenvolvidos a doença meningocócica acontece principalmente de forma endêmica. Nos Estados Unidos, as taxas de incidências vêm declinando anualmente desde os anos de 1990 e em 2015 foi de 0,12 casos por 100.000 habitantes, sendo o sorogrupo B o mais prevalente (ROUPHAEL; STEPHENS, 2012).

No Brasil, a *Neisseria meningitidis*, sorogrupos B e C são os mais prevalentes desde a década de 1990. Foi observado que o sorogrupo C teve aumento constante no número de casos em diferentes regiões geográficas. Durante os anos de 2003 a 2018, o coeficiente de incidência evidenciou um declínio, e em 2004 foi demonstrado um total de 2,0 casos por 100.000 habitantes. Nos últimos três anos, o coeficiente tem se mantido estável, com aproximadamente 0,5 casos por 100.000 habitantes. Nesse mesmo período, 50% da população afetada foram as crianças menores de 5 anos (BRASIL, 2019). Entre os anos 2010 e 2017, foram registrados 14.532 casos confirmados de doença meningocócica e 3.082 óbitos. (GUEDES et al., 2018).

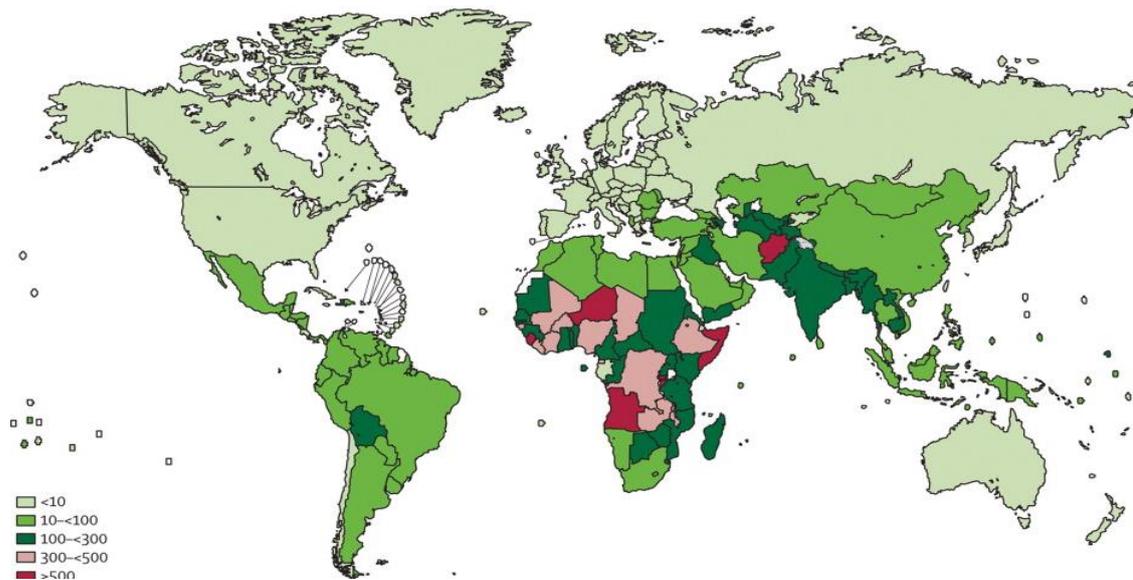
No Amazonas, o número de casos de doença meningocócica durante o período de 2000 a 2015 foi de 998 casos, com taxa de incidência média anual de 1,97 casos por 100.000

habitantes. Na cidade de Manaus, a capital do estado concentra-se a maior parte dos casos 90,3% (901/998), com taxa de incidência média anual de 3,46 casos por 100.000 habitantes e 9,7% (97/998) foram dos municípios do interior (SILVA et al., 2021).

### 2.5.2 *Streptococcus pneumoniae*

Em 2000, aproximadamente 14,5 milhões de casos de doença pneumocócica invasiva foram relatadas, e mais de 800.000 mortes em crianças menores de cinco anos de idade. A incidência anual de infecções por *Streptococcus pneumoniae* apresentam uma variação por região, na qual a África apresenta uma taxa de incidência de meningite pneumocócica variando de 12 a 38 casos por 100.000 habitantes anualmente. Após a introdução da vacina, o comportamento dessa doença mudou drasticamente, principalmente nos países desenvolvidos. Nos Estados Unidos, entre os anos de 1998 e 1999 a incidência era de 24,3 casos por 100.000 habitantes, com diminuição para 17,3 por 100.000 habitantes ano de 2001 (figura 4) (O'BRIEN et al., 2009; YILDIRIM; SHEA; PELTON, 2015).

Um estudo realizado no Brasil, do tipo caso-controle pareado, analisou a efetividade da vacina PCV10 contra a doença pneumocócica. Um total de dez estados foram incluídos no estudo, representando 66,3% da população brasileira. Os dados demonstraram uma efetividade de 83,8% para os casos de doença pneumocócica invasiva que inclui a meningite, conseqüentemente reflete a queda nos números casos causados por essa doença no país (DOMINGUES et al., 2014).



**Figura 4:** Taxa de incidência de *Streptococcus pneumoniae* por 100,000 crianças menores de 5 anos

**Fonte:** (YILDIRIM; SHEA; PELTON, 2015)

A meningite pneumocócica é responsável por importante número de sequelas neurológicas e altas taxas de mortalidade que variam de 20-30%. Em aproximadamente 40% dos doentes, ocorrem complicações como edema cerebral, hidrocefalia e hemorragia intracraniana. Além disso, mesmo depois de recuperados, os indivíduos podem apresentar sequelas como lentidão cognitiva, surdez, cegueira, deficiências neuropsiquiátricas, paralisia cerebral, convulsão e alteração na consciência. (BARICHELLO et al., 2012)

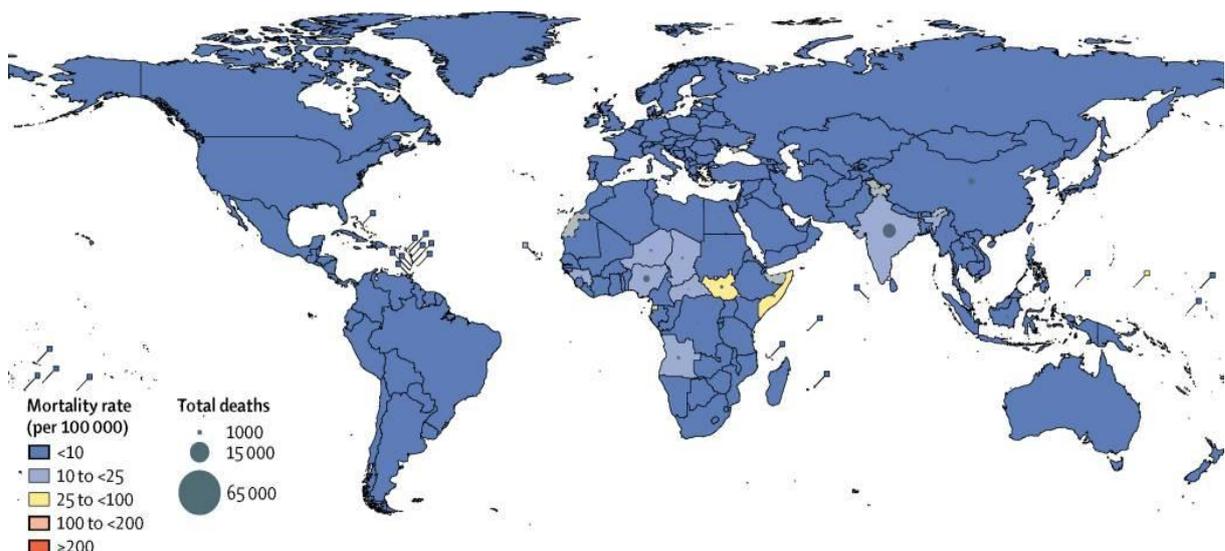
No Brasil, o *Streptococcus pneumoniae* é o segundo maior causador de MB. No período de 2003 a 2018, foram notificados 18.278 casos confirmados dessa doença. Destes, 5.446 evoluíram para o óbito, representando uma taxa de letalidade de 30%. Os coeficientes de incidência e mortalidade foram reduzindo ao longo dos anos, passando de 0,80 para 0,49 casos por 100.000 habitantes, e de 0,22 para 0,15 óbitos por 100.000 habitantes (BRASIL, 2021).

### 2.5.3 *Haemophilus influenzae*

Em 2000, o *Haemophilus influenzae* tipo b (Hib) causou 8,13 milhões casos de pneumonia, meningite e doença invasiva não-pneumônica, não-meningite na população infantil

menores de 5 anos de idade. Esses casos resultaram em cerca de 371.000 mortes em crianças de 1 a 59 meses de idade, o que inclui 8.100 mortes em crianças HIV-positivas. Nesse mesmo estudo, foi demonstrado que antes da introdução da vacina, a incidência global das meningites por *Haemophilus influenzae*, foi estimada de 31 casos por 100.00 crianças menores de 5 anos de idade. A meningite por Hib foi uma doença grave mundialmente com letalidade relatada, variando de 22% a 67% (WATT et al., 2009).

Em 2015, foram estimados 29.500 casos de óbitos por Hib em crianças não infectadas pelo HIV com idade entre 1 e 59 meses. Nesse ano, as mortes por esse patógeno diminuíram 90%, em comparação ao ano 2000. Esse declínio foi devido ao aumento do número de países que incluíram a vacina por Hib nos programas vacinais, onde em 2000, apenas 60 países eram contemplados e em 2015 aumentou para 192. A vacina Hib evitou aproximadamente 1,2 milhões de mortes totais nesse período, sem incluir as mortes por Hib evitadas em crianças infectadas pelo HIV (Figura 5) (WAHL et al., 2018).



**Figura 5:** Taxas de mortalidade e óbitos específicos por país, atribuíveis ao *Haemophilus influenzae* tipo b no ano de 2015.

**Fonte:** (WATT et al., 2009)

Entre os anos de 2003 e 2018, foram confirmados 2.105 casos e 330 óbitos de meningite por *Haemophilus influenzae*, com média de 132 casos e 21 óbitos por ano. A incidência média anual foi de 0,07 casos por 100.000 habitantes. Estes casos representaram aproximadamente 2% do total de casos de MB no país (BRASIL, 2021).

No Brasil, a vacina conjugada contra *Haemophilus influenzae* foi incorporada ao Programa Nacional de Imunização (PNI) em 1999, com alta cobertura sustentada. Anos depois, a vacina pneumocócica conjugada 10-valente (PCV10) também foi introduzida em março de 2010, no qual o programa contempla crianças com 2, 4 e 6 meses de idade, com reforço aos 12-15 meses. Nesse mesmo ano, a vacina meningocócica C conjugada (MCC) foi implementada, programada para crianças de três e cinco meses, com uma dose de reforço aos 12-15 meses de idade e sem alcançar para as faixas etárias mais velhas. Estas imunizações apresentaram efetividade e colaboraram na redução do número de casos e óbitos de meningites bacterianas em todo território brasileiro. (BIERRENBACH et al., 2018).

No Amazonas, um estudo epidemiológico sobre meningites infecciosas entre os anos de 1990 e 2012, demonstrou que a partir do ano de 2009 houve uma diminuição dos casos de meningites por *Haemophilus influenzae* e um leve aumento por *Streptococcus pneumoniae*. E a doença meningocócica que é a principal causa de meningite no estado, apresentou diminuição gradual nas taxas de detecção variando de 5,2 casos por 100.000 habitantes em 1998 para 0,8 casos por 100.000 habitantes em 2012 (SARAIVA et al., 2015).

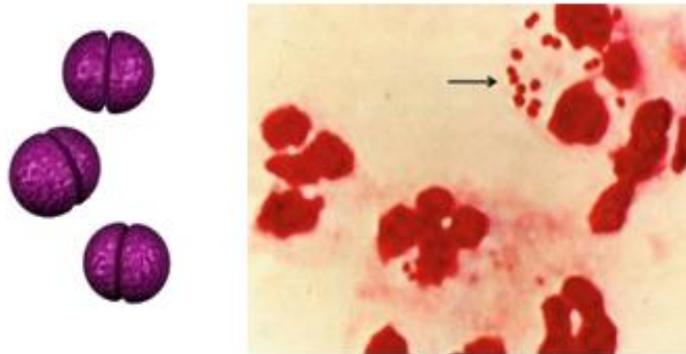
## 2.6 Características dos patógenos causadores da meningite bacteriana

### 2.6.1 *Neisseria meningitidis*

A *Neisseria meningitidis* (meningococo) é uma bactéria Gram-negativa, aeróbica, imóvel, pertencente à família *Neisseriaceae*. Morfologicamente, apresenta-se agrupada em pares (diplococos) intra e/ou extracelulares. A composição antigênica da cápsula polissacarídica permite a classificação do meningococo em 12 diferentes sorogrupos: A, B, C, E, H, I, K, L, W, X, Y e Z. Destes, os sorogrupos A, B, C, Y, W e X são os principais responsáveis pela ocorrência de doença invasiva e epidemias (BRASIL, 2021).

A temperatura ideal para o crescimento desse microrganismo varia entre 35°C e 37°C com 5% a 10% de dióxido de carbono. Cresce em diferentes meios, como ágar sangue, ágar soja tripticase, ágar chocolate suplementado e ágar Mueller-Hinton. As colônias de *N. meningitidis* em ágar sangue são acinzentadas, não hemolíticas, redondas, convexas, lisas,

úmidas e brilhantes com uma borda claramente definida. Elas são positivas pelo teste de oxidase e o resultado é confirmado com reações de carboidratos (meningococos oxidam glicose e geralmente maltose, mas não sacarose e lactose. (ROUPHAEL; STEPHENS, 2012).

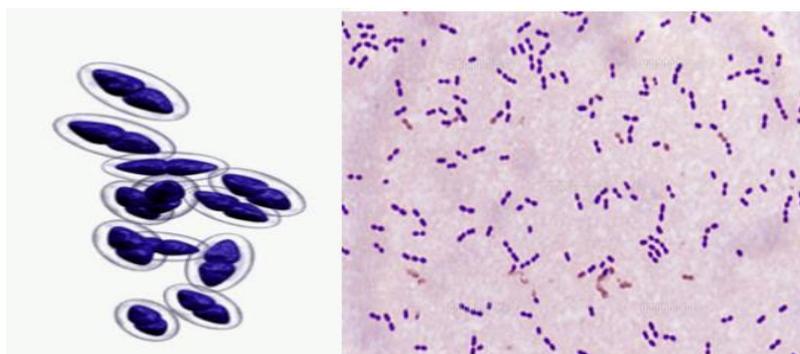


**Figura 6:** Diplococos de *Neisseria meningitidis*

**Fonte:** www.bacteriainphotos.com

### 2.6.2 *Streptococcus pneumoniae*

A bactéria Gram-positiva *S. pneumoniae* (o pneumococo) têm formato cocoide, dispostos em pares (diplococos), únicos ou em cadeias curtas. É catalase negativa, mas gera peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) através de um sistema de flavos enzimas e, portanto, cresce melhor na presença de uma fonte de catalase, como o sangue (figura 6). (JANOFF; MUSHER, 2015).



**Figura 7:** Diplococos - *Streptococcus pneumoniae*

**Fonte:** www.bacteriainphotos.com

### 2.6.3 *Haemophilus influenzae*

*Haemophilus influenzae*, é um patógeno bacteriano polimórfico Gram-negativo, de forma de bacilos, oportunista, e isolado exclusivamente em hospedeiros humanos, predominante no trato respiratório, colonizando a nasofaringe. Pode ser dividido em dois grupos principais caracterizados pela expressão de cápsulas de polissacarídeos antigênicos distintas: tipos encapsulados (sorotipos a-f) e tipos não encapsulados, também chamados de cepas não-tipáveis (NTHi). Este agente, causa um amplo espectro de doenças, tanto agudas quanto crônicas, a gravidade e o fenótipo clínico dos quais podem depender do tipo e da composição genética da cepa *Haemophilus influenzae* colonizando o organismo (PINTO et al., 2019).

*Haemophilus influenzae*, ocasiona infecções invasivas, incluindo a meningite, maioria dessas infecções são causadas por cepas não tipáveis. Afeta principalmente crianças menores de 1 ano de idade e idosos e os com imunossupressão, como os pacientes com HIV, ou doenças respiratórias (AGRAWAL; MURPHY, 2011).



**Figura 8:** Bacilos de *Haemophilus influenzae*

**Fonte:** [www.bacteriainphotos.com](http://www.bacteriainphotos.com)

## 2.7 Epidemiologia das Meningites Virais

A meningite viral é uma doença grave distribuída mundialmente, da qual, a prevalência e distribuição dos agentes virais varia entre as diferentes regiões do mundo. Apesar de ocorrer isoladamente, é comum a ocorrência de surtos. A população pediátrica é mais suscetível, principalmente as de menores de cinco anos de idade. Entre os vírus mais associados com a essa patologia, destacam-se as famílias: *Picornaviridae*, *Herpesviridae* e *Flaviviridae*. (GETENEH et al., 2021; SWARTZ; NATH, 2012).

A carga de infecção por meningite viral permanece incerta e representa um grande desafio a saúde pública, principalmente em países em desenvolvimento. Considerada um problema grave de saúde em decorrência das sequelas, gravidade da doença e aumento da mortalidade. A incidência é subestimada, devido à falta de notificações. Nas regiões temperadas atinge um pico maior na época de verão e outono, seguindo um padrão sazonal dos surtos (MATHEW et al., 2021; ZUETER; ZAITER, 2015).

Na Inglaterra, um estudo epidemiológico com pacientes pediátricos, apresentou 25.980 casos de meningite viral, com média de 1.443 casos por ano entre o período de 1968 e 1985, a taxa de admissão anual variou com média de 13,5 episódios por 100.00 crianças. Em 2007 a 2011 tiveram 2.584 casos de meningite com média de 517 casos por ano, demonstrando um declínio nos números de casos devido a introdução da vacina tríplice viral, no entanto, esse declínio total foi observado em crianças entre 1 e 14 anos de idade, enquanto nas crianças menores de 1 ano houve um aumento nas admissões ao longo do tempo (MARTIN et al., 2016).

Após a implementação das vacinas, a epidemiologia das meningites virais apresentou um impacto epidemiológico, como no caso do vírus da caxumba, que antes da introdução da vacina tríplice viral (Sarampo-Rubéola-Caxumba), era a principal causa, atualmente ela tornou-se rara, e as complicações do sistema nervoso central por vírus varicela-zoster e do sarampo também diminuíram após a disponibilização de vacinas efetivas (POLAGE; COHEN, 2016).

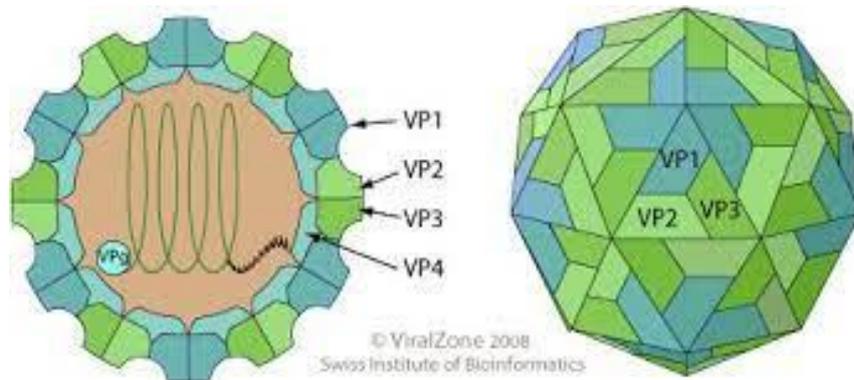
No Brasil, entre o período de 2003 e 2018, foram registrados 155.539 casos confirmados por MV e 1.280 óbitos, correspondendo a uma taxa de letalidade de 0,8%. O ano com maior número de casos registrados foi 2007, com 15.572 casos. 2015 apresentou o menor número com 7.196 casos. Em relação à média anual, durante o período de 2003 a 2018 foram notificados 9.722 casos, com coeficiente de incidência variando entre 8,2 casos por 100 mil habitantes, em 2007, a 3,5 casos por 100 mil hab. em 2015 (BRASIL, 2021).

## 2.8 Características dos patógenos causadores de meningite viral

### 2.8.1 Enterovírus

Os enterovírus (EVs) pertencem à família *Picornaviridae*, e são pequenos vírus de RNA fita simples positivos, sem envelope. Até o momento foram descritos 116 sorotipos, classificados em 4 espécies: (A) *Enterovírus humano A* (coxsackievirus [CV] A2-A8, A10, A12, A14 e A16; EV 71, 76, 89, 90 e 91); (B) *Enterovírus humano B* (CVA9 e CVB1-CVB6; ecovírus 1-7, 9, 11-27 e 29-33; EV 69, 73-75, 77-88, 97, 100 e 101); (C) *Enterovírus humano C* (CVA1, A11, A13, A17, A19-A22 e A24; poliovírus 1-3; EV96); e (D) *Enterovírus humano D* (EV68 e EV70). As infecções humanas pelos EVs mostraram-se com base em ensaios de neutralização e análise de sequência do gene VP1 do capsídeo principal. (KIM et al., 2012; WANG et al., 2021).

A família *Picornaviridae* é composta por quatro proteínas estruturais: VP1, VP2, VP3, VP4. As proteínas VP1, VP2, VP3 estão expostas parcialmente na superfície do vírion, enquanto a VP4 está voltada para o interior. A VP1, apresenta epítomos antigênicos à indução da produção de anticorpos neutralizantes. Os EVs entéricos são transmitidos via fecal-oral e replicam-se principalmente no trato gastrointestinal, onde podem se disseminar esporadicamente e causar infecção em outros órgãos, incluindo o SNC. Os EVs são conhecidos por causar MA, porém também têm sido associados a outras doenças, incluindo miocardite, sepse neonatal, conjuntivite, hepatite e paralisia flácida grave. A doença enteroviral é relatada durante todo o ano, mas apresenta um pico na temporada de verão e no outono em áreas geográficas ou comunidades restritas (RICHTER; TRYFONOS; CHRISTODOULOU, 2019; WANG et al., 2021).



**Figura 9:** Esquema da partícula dos Enterovirus humanos

**Fonte:** Adaptada de picornaviridae.com

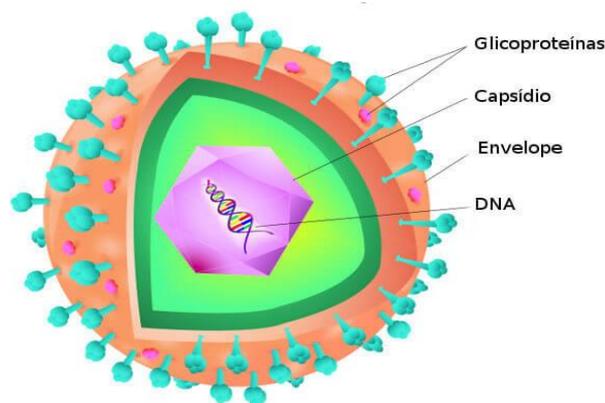
Os enterovírus, são os principais agentes etiológicos das meningites virais e causadores de complicações neurológica. Recentemente, um estudo epidemiológico demonstrou que 32.810 (86,96%) dos casos pertencia ao Echovirus 30, um enterovírus não-polio do Grupo B. Em cerca 48 e 95% dos casos, os vírus são identificados em lugares socioeconomicamente desenvolvidos. No entanto, crianças vivendo em países com recursos limitados são mais suscetíveis a uma gama mais ampla desses patógenos prevalentes (RUDOLPH; SCHROTEN; TENENBAUM, 2016; SURESH et al., 2020).

No Brasil, houve 2.659 casos de meningite asséptica notificados entre os anos de 2013 e 2017 em quatro regiões geográficas do país. Destes, 303 pacientes foram positivo para Enterovírus através de isolamento em cultura de células com uma taxa média de isolamento ao longo do ano de 12%. E 19 sorotipos foram identificados, na qual, a grande maioria correspondeu as espécies de EV-B, Echovírus 30 (E-30) e Echovírus 6 (E-6) foram os genótipos mais prevalentes com (66,8%). Nesse estudo, a maioria dos pacientes era composta por crianças  $\leq 15$  anos. A distribuição temporal de todas as meningites assépticas e casos positivos para EV mostrou um padrão sazonal óbvio durante o outono (RAMALHO et al., 2019).

### 2.8.2 Herpesviridae

A família *Herpesviridae* é constituída por 3 subfamílias, *Alphaherpesvirinae*, *Betaherpesvirinae* e *Gammaherpesvirinae*. Na subfamília *Alphaherpesvirinae* são encontrados os gêneros Simplex virus, que são os herpes simplex vírus tipo 1 (HSV-1), herpes simplex vírus tipo 2 (HSV-2) e varicela zoster vírus (VZV), também nomeados HHV-3 (Human herpesvirus 3). Na subfamília *Betaherpesvirinae* são encontrados os gêneros Citomegalovirus (CMV) ou HHV-5, e Roseolovirus, os HHV-6A, HHV-6B e HHV-7. Por fim, a subfamília *Gammaherpesvirinae* inclui os gêneros *Lymphocryptovirus*, o HHV-4, Epstein-Barr vírus (EBV) e *Rhadinovirus*, o HHV-8, herpesvírus associado ao sarcoma de Kaposi (KSHV) (ICTV, 2020).

Os vírus da família *herpesviridae* morfologicamente são compostos por DNA de fita dupla linear com 120 a 180 mil pares de bases (kpb); capsídeo com simetria icosaédrica contendo 162 capsômeros; uma estrutura proteica amorfa chamada tegumento e envelope glicolipoproteico. Três glicoproteínas, gB, gH e gL, conhecidas como “core fusion machinery”, são conservadas em todos herpesvírus e são requeridas para a infecção celular. A gB é a mais conservada destas glicoproteínas e catalisa a fusão com a membrana durante a entrada viral (CAIRNS et al., 2007).



**Figura 10:** Esquema da partícula dos herpesvírus humanos

**Fonte:** Dreamstime

Os agentes **HSV-1 e HSV-2** são conhecidos pelo curto ciclo replicativo, onde fazem destruição da célula hospedeira e têm capacidade de estabelecer latência dentro dos gânglios sensoriais. Estes são diferentes um do outro, ao passo que o HSV-1 ocasiona lesões orofaciais e encefalite de crianças e adultos, enquanto o HSV-2 causa herpes genital, meningite asséptica, encefalites e infecções devastadoras em neonatos. O HSV-1 é responsável por 25% das infecções no sistema nervoso em neonatos, podendo causar sequelas graves. Os HSV-2 causa 75% das infecções neonatais. A transmissão vertical é mais comum durante a primo infecção materna, quando a taxa de transmissão é de aproximadamente 40% versus 3% durante a infecção recorrente (AUTORE et al., 2021; SADARANGANI et al., 2015; WIDENER; WHITLEY, 2014)

O **VZV** é responsável pela infecção primária da varicela. Após a infecção primária, o VZV permanece latente nos gânglios sensoriais dos nervos cranianos ou nos gânglios da raiz dorsal. Quando reativado, replica-se ao longo do nervo e aparece como uma erupção cutânea vesicular localizada. A reativação viral pode causar doenças neurológicas, manifestando-se mais frequentemente como herpes zoster e neuralgia pós-herpética. A incidência de complicações do SNC em crianças com varicela é relatada ser 0,5 a 1,5 por 1000 casos, com cerebelite e encefalite sendo as causas mais de comuns manifestações neurológicas. A maioria das crianças com complicações neurológicas de varicela passa a fazer uma recuperação completa sem distúrbios neurológicos residuais (GILDEN et al., 2015; GRAHN; STUDAHL, 2015)

O **EBV** é a causa da mononucleose infecciosa (IM), caracterizada por febre, erupção, linfócitos atípicos no sangue periférico, edema tonsilar e linfonodal e disfunção hepática. Esse patógeno causa infecções no SNC, como doença desmielinizante, encefalite aguda, ataxia cerebelar, mielite ou meningite. A meningite causada pelo Epstein Barr vírus é uma complicação incomum, acontece principalmente durante a infecção primária (FUJIMOTO et al., 2004; GRAHN; STUDAHL, 2015).

O **CMV** é um vírus associado por muitas vezes a complicações neurológicas graves. A infecção por citomegalovírus no SNC ocorre principalmente em pessoas vivendo com o vírus da imunodeficiência humana (HIV), pacientes transplantados, fetos e recém-nascidos imunologicamente imaturos. A infecção primária em adultos imunocompetentes pode se apresentar como uma síndrome de mononucleose autolimitada, porém em casos muito raros ocorre doença gastrointestinal ou do sistema nervoso central grave. Dentre as apresentações do SNC incluem encefalite, ventriculite, meningite, mielite, convulsões, afasia e paralisia dos nervos cranianos. Enquanto na transmissão congênita para o feto pode ocorrer e tem sido

associada a perda auditiva neurossensorial, microcefalia, comprometimento neurológico, atraso no desenvolvimento, paralisia espástica, hepatoesplenomegalia ou cegueira (KRSTANOVIĆ et al., 2021; GONZÁLEZ-SÁNCHEZ et al 2016).

### 2.8.3 Arbovírus

Os arbovírus são vírus de RNA transmitidos por artrópodes a hospedeiros vertebrados. Dentre os arbovírus mais estudados estão os vírus da família *Flaviviridae*, constituídos pelos vírus da dengue (DENV), vírus Zika (ZIKV), vírus da febre amarela (YFV), vírus do Nilo Ocidental (West Nile Virus WNV), vírus da encefalite japonesa (JEV); Entre os vírus da família *Togaviridae*, destacam-se os vírus Mayaro (MAYV) e vírus Chikungunya (CHIKV); e o *Orthobunyavirus* Oropouche (OROV). Os flavivírus (DENV, ZIKV, WNV e YFV) e os alphavirus (CHIKV) são considerados endêmicos no Brasil pois ressurgiram em ambos os hemisférios nas últimas décadas, representando um importante problema de saúde pública em grande parte do mundo (SOUSA et al., 2021).

Os vírus pertencentes a essas três famílias, são de relevante importância, pois, são capazes de causar infecção no SNC. Nos Estados Unidos, os arbovírus são a segunda principal causa de MV após EVs, tendo os vírus do Nilo Ocidental, o vírus La Cross, o vírus da encefalite equina oriental, e o vírus da encefalite de Saint Louis como principais causadores de endemias na região, e a maioria dos pacientes infectados são crianças. A infecção ocorre de forma assintomática, onde apenas 25% dos casos relatam febre ou cefaleia, e 1% pode desenvolver meningite (AUTORE et al., 2021; RIZZO et al., 2011)

O clima no Brasil é predominantemente tropical e as extensas áreas de florestas contribuem para a existência do vetor, além da ocorrência de desmatamentos, o deslocamento populacional e a falta de planejamento na ocupação de regiões urbanas, tornando-se um local endêmico para a ocorrência dessas doenças (LOPES; NOZAWA; LINHARES, 2014).

Os sinais e sintomas das infecções causadas por arboviroses são semelhantes, variam dos quadros clínicos assintomáticos e apresentações mais graves, os mais frequentes são: febre, mialgia/artralgia e exantema. Além disso, as infecções por arbovírus estão potencialmente relacionadas a importantes manifestações neurológicas, como a síndrome de Guillain-Barré, encefalite, mielite, mononeuropatias, polineuropatias e meningite asséptica (MALTA et al., 2017; PEREIRA et al., 2018).

Estudo recente, demonstrou os principais flavivírus associados a infecções no SNC em na população pediátrica no Brasil, este apresentou de 28 casos de crianças infectadas pelos flavivírus. Destes, 24 casos foram pelos vírus da Dengue com distribuição em diferentes regiões do país, 3 casos por Saint Louis e apenas 1 caso pelo Zika vírus.

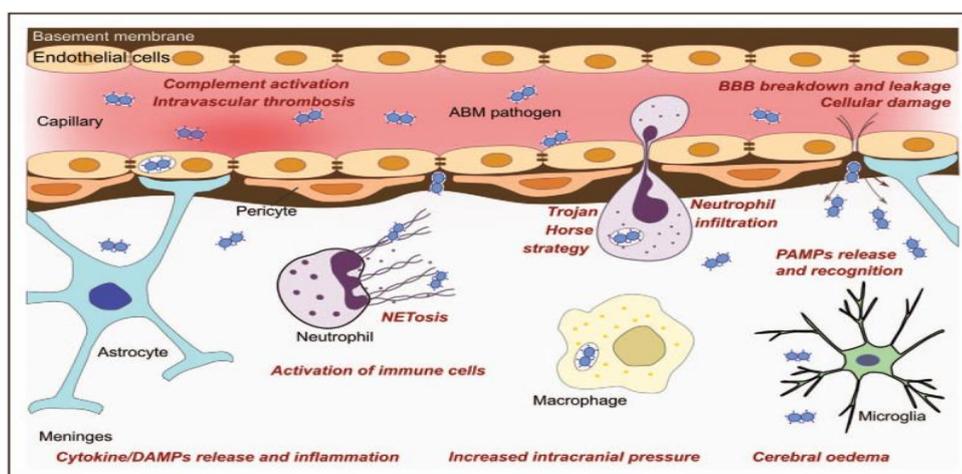
Em outro estudo realizado em uma unidade terciária de saúde no Amazonas, apresentou 14.2% de infecções arborvirais amostras de LCR, destes, dois gêneros foram presentes, (Flavivírus e Ortobunyavírus). Para o Flavivirus, a o vírus da dengue foi detectado em quatro pacientes, sendo um caso por DENV-1 e três DENV-2, dentre os Ortobunyavírus, três casos foram para o vírus Oropouche (BASTOS et al., 2014; MARINHO; KROON, 2019).

## 2.9 Fisiopatologia das infecções no SNC

### 2.9.1 Infecções bacterianas

Os mecanismos pelos quais as bactérias atingem o sistema nervoso central geralmente ocorrem com a quebra da integridade da BHE, composta de células endoteliais microvasculares, pericitos e astrócitos ou pela interação das células endoteliais com a barreira. Os mecanismos utilizados pelos agentes etiológicos dependem da rota celular envolvida. As principais rotas são: paracelulare, transcelulare; e a rota intracelular ou facilitada, pelo mecanismo semelhante ao “cavalo de troia” (SEKEYOVÁ et al., 2019).

A rota paracelular envolve a penetração bacteriana entre as células e a barreira com ou sem evidência de ruptura da junção estanque. Na rota transcelular, os patógenos cruzam a barreira sem qualquer evidência de interrupção da junção estreita intercelular ou detecção de microrganismos entre as células. Por fim, as bactérias também podem ser transportadas através da BHE por infiltração de fagócitos (estratégia do Cavalo de Tróia). A passagem transcelular da BHE foi demonstrada para a maioria dos patógenos bacterianos causadores de meningite, incluindo *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae*, *S. pneumoniae* e *Neisseria meningitidis*. O mecanismo do cavalo de Tróia foi sugerido para *Listeria monocytogenes* e *Mycobacterium tuberculosis*, mas a penetração transcelular da BHE também foi demonstrada para esses organismos (KIM, 2008; SEKEYOVÁ et al., 2019).



**Figura 11:** Demonstração do mecanismo fisiopatológico durante a quebra das barreiras neurais Sistema Nervoso Central.

**Fonte:** (WALL et al., 2021)

## 2.9.2 Infecções virais

Para que os vírus possam desenvolver patologias no cérebro, eles devem passar por uma cadeia de eventos. Inicialmente, os agentes virais têm que entrar em contato com hospedeiro, o qual pode ocorrer através de inalação, ingestão ou em contato com a pele. Os vírus da caxumba e sarampo, por exemplo, são transmitidos por meio de gotículas e inalados para atingir as membranas mucosas do trato respiratório superior. E pela ingestão via fecal-oral se tem EVs, que entram pelo trato alimentar. As picadas de insetos, escoriações e feridas são as portas de entrada para que os alguns vírus penetrem através da pele. A partir do momento que os vírus entram em contato com membrana da mucosa, eles passam pela barreira epitelial, ocasionando infecção no tecido linfóide da orofaringe e intestino. As células de Langerhans carregam arbovírus transmitidos por picadas de insetos aos nódulos linfáticos adjacentes. (SMUTS; LAMB, 2017; SWANSON; MCGAVERN, 2015).

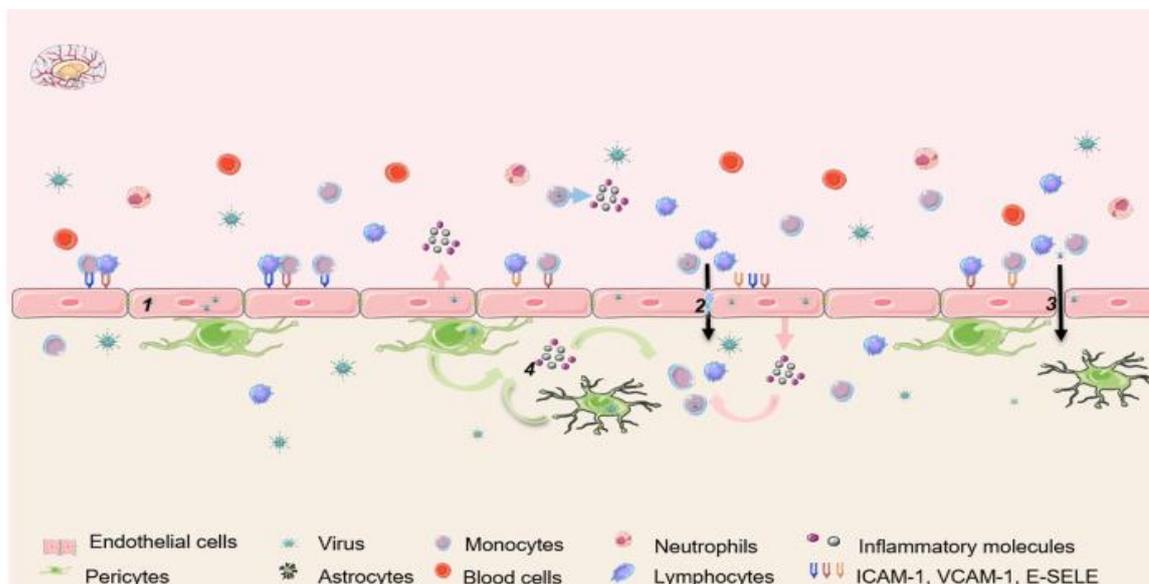
Em seguida, os vírus se propagam-se por duas vias principais: os vasos sanguíneos e nervos periféricos, até atingirem o SNC. Em uma das vias os vírus deslocam para o cérebro pela corrente sanguínea ou são transportados pelos leucócitos, através do mecanismo “cavalo de Tróia”. Alguns vírus infectam diretamente as células endoteliais vasculares, que permite o caminho desses agentes infecciosos para BHE. A outra via importante de invasão para o SNC é através dos nervos periféricos como acontece com HSV-1 e o VZV, que migram dos queratinócitos para os neurônios sensoriais periféricos e atingem o gânglio trigêmeo, onde ficam de forma latente por anos antes de serem reativados. Os dendritos do nervo olfatório estão em contato direto com a mucosa nasal e oferecem uma porta de entrada única para HSV-1, vírus Nipah, vírus influenza e vírus da raiva (SMUTS; LAMB, 2017; SWANSON; MCGAVERN, 2015).

Na etapa seguinte os vírus conseguem ultrapassar as BHE e BHL. A maioria dos vírus entram pela BHE, mas alguns como o vírus coxsackie-B3, o CHIKV, o vírus da caxumba e o echovirus-30 também podem usar BHL como porta de entrada. (DAHM et al., 2016; SMUTS; LAMB, 2017).

Existem seis mecanismos diferentes para o vírus ultrapassarem as barreiras: na primeira, os leucócitos portadores de vírus se espremem entre as células endoteliais e depositam os vírus no parênquima cerebral; na segunda, alguns vírus entram nas células endoteliais vasculares diretamente e, em seguida, atravessam para o LCR; na terceira, os poros abertos no plexo coroide permitem a entrada direta de vírus no SNC; na quarta, a BHE não está intacta nos órgãos

circunventriculares, por exemplo, na área postrema e lâmina terminal, formando um local ideal para os vírus entrarem no SNC; na quinta, os vasos linfáticos meníngeos do SNC atuam como reservatórios de leucócitos; por último, através do rompimento das barreiras, com efeito citotóxico direto do patógeno e mediadores inflamatórios secundários.(SMUTS; LAMB, 2017; SWANSON; MCGAVERN, 2015).

Posteriormente, a BHE atua como barreira imunológica que dificulta a passagem dos leucócitos para o parênquima, enquanto BHL é uma porta seletiva responsável principalmente pela vigilância imunológica no SNC. Por último, é a fase da lesão, marcada por eventos que se iniciam com o efeito citopático direto, seguido por respostas inflamatórias e pós-infecciosas. O efeito citopático dos vírus provoca inflamação intensa no cérebro e a quebra BHE, permitindo a entrada dos patógenos. Além disso, os mecanismos de reparo são restritos. O cérebro depende mais das células do que da resposta mediada pela imunidade humoral. O interstício é constantemente patrulhado pela micróglia e a apresentação do antígeno é fracamente desenvolvida, com intensa apoptose e inflamação. A cascata pode ainda ser complicada por mediação de mecanismos autoimune.(DAHM et al., 2016; SMUTS; LAMB, 2017).



**Figura 12:** Descrição de possíveis mecanismos do vírus SNC

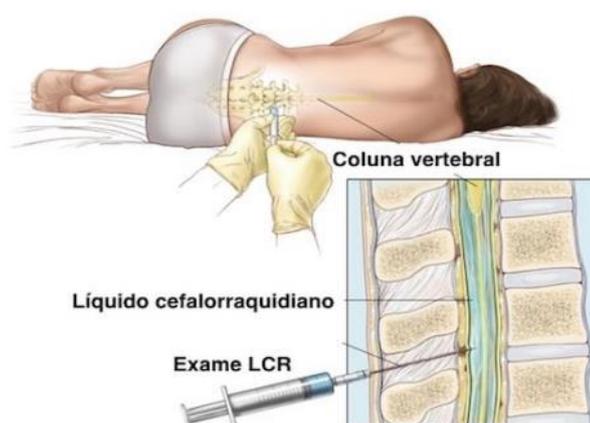
Fonte: CLÉ et al., 2020

## 2.10 Diagnóstico

Na investigação de doenças infecciosas que acometem SNC a análise do LCR é fundamental, principalmente na identificação do agente etiológico.

## 2.11 Punção lombar

A punção lombar (PL) é uma técnica invasiva que acessa o compartimento restrito do espaço subaracnóideo para obtenção do LCR. Para a execução da PL, o paciente deve estar em uma posição preferencialmente em decúbito lateral, com as vértebras alinhadas em um plano horizontal, a cabeça em uma posição neutra e os joelhos flexionados. Após a esterilização do local, administra-se um anestésico local, e a punção deve ser feita, preferencialmente, entre as vértebras L3 e L4. A introdução da agulha deve passar pela pele, tecido subcutânea, ligamento supraespinhal, ligamento interespinhal, *ligamentum flavum*, espaço epidural, meninges dura-máter e aracnoide, e, finalmente alcançar o espaço subaracnoide. Ela deve ser inserida em um ângulo que permita a sua passagem pelos processos espinhais (DORSETT; LIANG, 2016; WRIGHT; LAI; SINCLAIR, 2012).



**Figura 13:** Demonstração da punção lombar

**Fonte:** <https://static.tuasaude.com/img/ex/am/exames-que-confirmam-a-meningite-1-640-427.jpg>

Após a coleta do LCR, para investigação etiológica, é realizada a análise, onde verificam as características físicas (volume, cor, aspecto, e presença e ausência de coágulo), bioquímicas (como a dosagens de glicose, proteínas, cloreto, lactatos), citológicas (citometria e citologia) e microbiológicas (culturas, sorologias).

## 2.12 Diagnóstico Convencional

### 2.12.1 Análise Física

É a observação visual da coloração e do aspecto do LCR. O líquido em condições normais apresenta-se límpido e incolor (aspecto de água de rocha). Porém comprometido torna-se:

- Turvo: com 200 ou 300 leucócitos/mm<sup>3</sup>.
- Esbranquiçado ou opalescente: com 500 leucócitos/mm<sup>3</sup>.
- Purulento- com mais de 700-800 leucócitos/mm<sup>3</sup>.
- Xantocrômico ou eritrocromico quando existem proteínas com valor maior ou igual a 200 mg/dl

O LCR pode apresentar aspecto turvo devido ao aumento do número de células (>400 células/mm<sup>3</sup>) indica a proliferação de bactérias ou fungos. A xantocromia indica coloração amarelada decorrente da presença de bilirrubina plasmática, que pode ser resultado de uma hemorragia subaracnóidea ou da transudação de proteínas do soro para o LCR ou presença de bilirrubina na icterícia. Já a eritrocromia indica coloração avermelhada decorrente da hemólise das hemácias, que pode ser causada por um acidente de punção ou uma hemorragia subaracnóidea.

### 2.12.2 Análise Citológica

Esse exame deve ser realizado imediatamente após a chegada do LCR no laboratório, pois os leucócitos e as hemácias desintegram-se rapidamente, podendo levar a resultados incorretos. Utiliza-se a Câmara de Fucks-Rosenthal para contagem e avaliação da celularidade global. A coloração pelo método Panótico permite a observação e contagem específica dos leucócitos à microscopia.

### 2.12.3 Análise Microbiológica

Tem o objetivo de identificar o microrganismo bacteriano pelo método de Gram, cultura e testes de aglutinação. A cultura, é considerada o método de diagnóstico (padrão-ouro) para identificação bacteriana. Os meios de cultura utilizados são Ágar Chocolate, Ágar Sangue, Tioglicolato e ainda outros menos utilizados, como o Eosina Azul de Metileno (EMB), Ágar Sabouraud e Mycosel (fungos). O meio específico para o cultivo da *Neisseria meningitidis* é o de Thayer Martin. Após crescimento bacteriano em meio da cultura específico, utiliza-se a coloração de Gram, com a finalidade de verificar a morfologia, presença ou ausência de contaminação por outras bactérias. O teste de aglutinação utiliza partículas do látex sensibilizadas com anti-soros específicos que permitem detectar os antígenos das bactérias em questão, estes, são testes de identificação rápida. (BROUWER; TUNKEL; VAN DE BEEK, 2010; FONSECA et al., 2011; NOELI DA SILVA; SUELY; YKKOUEDA, 2012).

### 2.12.4 Análise Bioquímica

A concentração de proteína no líquido de neonatos é de até 150mg/dL em condições normais, enquanto em crianças e em adultos os valores variam de 18 a 58mg/dL. A concentração de glicose no LCR varia entre os indivíduos, mas alguns autores consideram normais os valores acima de 40mg/dL (1, 2), ou 2/3 da concentração de glicose presente no

soro colhido imediatamente antes da punção lombar. A concentração de proteínas varia de 100 a 500mg/dL, podendo chegar a 1.000mg/dL.

### **2.13 Diagnóstico Molecular**

Os métodos moleculares têm se tornado um importante meio de diagnóstico empregado para a detecção de agentes etiológicos quando os métodos convencionais de detecção destes não são suficientes ou disponíveis, ou ainda, nos casos em que o diagnóstico rápido e preciso é determinante para o manejo clínico e prognóstico do paciente. No caso das meningites, a técnica de PCR aparece como um teste sensível e específico, pois se baseia na amplificação específica de uma sequência alvo de ácido nucleico pré-determinada, podendo detectar o agente de interesse mesmo em baixas concentrações, sendo útil para a detecção e caracterização dos diferentes patógenos, dentre os principais, os vírus, bactérias e fungos. A PCR vem sendo amplamente utilizada no diagnóstico das meningites, e atualmente, é considerada o método padrão-ouro para o diagnóstico das infecções do SNC utilizando o LCR. Outro método importante é a PCR em tempo real, que tem um tempo de reação menor que a PCR convencional, pois, a amplificação e a detecção são realizadas simultaneamente pela utilização de sondas marcadas por uma substância fluorescente que emite um sinal a ser detectado e analisado pelo software embutido no aparelho termociclador a cada ciclagem, sendo estes sinais expressos sob a forma de curvas de amplificação (DELBUE; TREMOLADA; FERRANTE, 2008; OLIVEIRA, 2011; MEDEIROS, 2018).

### 3 JUSTIFICATIVA

As infecções do sistema nervoso central, são importantes causas de morbimortalidade na população infantil em todo mundo. E no Brasil, os dados divulgados pelo (Banco de Dados do Sistema Único de Saúde) DATASUS do ministério da saúde/SVS-Sistema de Informações de Agravos de Notificação- Sinan Net, mostrou que durante o período de 2010 a 2021, foram notificados 197.172 casos confirmados de meningites em diversas etiologias. Dentre estes, a população pediátrica foi a mais acometida, com 105.905 casos em crianças com idade até 14 anos, a maioria dos casos estão concentrados na região Sudeste 57.5%, enquanto a região Norte apresentou o menor números de casos notificados com 3.3%. A etiologia viral é a mais frequente, seguido pelas bacterianas (DATASUS, 2021).

Após a introdução das vacinas conjugadas, a epidemiologia das meningites mudou drasticamente, fazendo das etiologias virais as mais prevalentes, porém apesar de esporádicos, os casos de meningites bacterianas ainda são os mais letais. No Brasil, as condições climáticas, geográficas, econômicas e socioculturais são fatores propícios para presença e circulação de agentes infecciosos causadores de meningites.

Na região norte, poucos dados epidemiológicos estão disponíveis. Especificamente, no Amazonas, existem poucos estudos acerca das infecções neurológicas em pacientes pediátricos. Além disso, os estudos transversais e observacionais podem contribuir direcionando os gestores, tomadores de decisões, e autoridades de saúde, a respeito da conduta clínica, profilaxia, e escolha de tratamento. Sendo assim, este estudo descreve os principais agentes, as manifestações clínicas e perfil liquórico, relacionados às infecções do SNC em pacientes pediátricos, proporcionando conhecimento acerca da epidemiologia local, características clínicas e laboratoriais destas infecções.

## **4 OBJETIVOS**

### **4.1 Geral**

Descrever o perfil clínico e laboratorial de pacientes pediátricos diagnosticados com infecções no sistema nervoso central em um laboratório de referência na cidade de Manaus, Amazonas, Brasil.

### **4.2 Específico**

- Descrever o perfil sociodemográfico dos pacientes pediátricos confirmados para infecções bacterianas e virais no SNC
- Caracterizar o perfil clínico e laboratorial das infecções neurológicas causadas por agentes virais e bacterianos.

## **5 MATERIAS E METODOS**

### **5.1 Tipo de Estudo**

Trata-se de um estudo observacional, descritivo, retrospectivo, utilizando amostras de líquido cefalorraquidiano de pacientes pediátricos com suspeita clínica de infecção no sistema nervoso central.

### **5.2 Participantes do Estudo**

Foram incluídos crianças e adolescentes com idade (>3 meses a 15 anos) sugestivos de infecção no sistema nervoso central, apresentando um ou mais sintomas como cefaleia, febre, rigidez de nuca, exantema e alteração do nível de consciência, atendidos na demanda espontânea da Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD), provenientes de uma rede de assistência infantil que atende crianças e adolescentes da capital Manaus. Submetidos à punção lombar, conforme os protocolos clínicos já estabelecidos nas Unidades Hospitalares, e respectivas amostras de LCR encaminhadas para as análises microbiológicas e virológicas no Laboratório de Bacteriologia da FMT-HVD.

### **5.3 Critérios de Inclusão**

- Pacientes pediátricos  $\geq 3$  meses de idade até 15 anos.
- Apresentação de quadro clínico com sinais e sintomas suspeitos de infecção no SNC.

## 5.4 Critérios de Exclusão

- Amostras de LCR em quantidade insuficiente para o processamento laboratorial.
- Amostras de LCR não infecciosos provenientes: DVE (Derivação Ventricular Externa) e DVP (Derivação ventrículo-peritoneal) e Traumas.
- Ausência de informações demográficas e clínicas

## 5.5 Definições de casos

As definições de casos foram adotadas de acordo com o Guia de Controle de Surto de Meningite da Organização Mundial da Saúde (WHO, 2015).

### 5.5.1 Caso suspeito:

- Para crianças  $\geq 1$  ano: presença de febre, cefaleia, vômitos, rigidez da nuca, sinais de irritação meníngea, convulsões e/ou manchas vermelhas no corpo.
- Para crianças  $\leq 1$  ano: sintomas clássicos anteriormente referidos podem não ser tão evidentes. Porém, na suspeita diagnóstica, é importante considerar sinais de irritabilidade, como choro persistente, e verificar a existência de abaulamento de fontanela.

### 5.5.2 Caso provável:

Qualquer caso suspeito que apresentasse pelo menos um dos seguintes critérios no exame de LCR: Aspecto alterado e/ou celularidade  $\geq 5$  cel/mm<sup>3</sup>.

### 5.5.3 Caso confirmado

Todo caso suspeito com diagnóstico confirmado seja por cultura, látex, Gram, reação de polimerização em cadeia (PCR), transcrição reversa precedido de reação de polimerização em cadeia (RT-PCR) e Real time PCR (qPCR).

## 5.6 Duração do estudo

A coleta de dados dos casos suspeitos para infecções no SNC dos pacientes pediátricos ocorreu entre o período de janeiro de 2014 a dezembro de 2020.

## 5.7 Procedimentos

Os pacientes pediátricos foram atendidos por médicos infectologistas e neurologistas, mediante suspeita de infecção no SNC, foi solicitada a coleta do LCR. Após punção lombar para a retirada do LCR, este foi imediatamente enviado ao laboratório da Gerência de Bacteriologia da FMT-HVD para análise microbiológica, bioquímica e virológicas.

## 5.8 Diagnóstico laboratorial (microbiológico)

As amostras de LCR, passam por diferentes processos, dentre estes, os exames, físico (cor; aspecto; volume); citológico (contagem global e diferencial das células); bioquímicos (Dosagem de proteínas, glicose, lactato) e bacteriológico (Gram e culturas). Além destes, o Exame imunológico (Aglutinação pelo látex).

### 5.8.1 Dosagem da glicose no LCR (glicorraquia):

Os níveis de glicose foram determinados pelo método enzimático Glicose-6-fosfato desidrogenase (G-6-PDH), utilizando-se o aparelho automatizado da marca Wiener lab, modelo CDM 800i. Os valores de referência para normalidade estão no intervalo entre 40 e 75 mg/dl. Normalmente, a glicorraquia é de 60% (ou 2/3) do valor da glicose do sangue (glicemia).

### 5.8.2 Dosagem da proteína total no LCR (proteínorraquia):

Para a dosagem das proteínas utilizou-se o método UCEP (molibdato-rojo-de piragalol), por meio do aparelho automatizado da marca da marca Wiener lab, modelo CDM 800i, cujo valor de referência varia de 15-45,0 mg/dl.

Valor de referência:

- Recém-nascidos: 50 a 120mg/dl
- Crianças e adultos: 15 a 40mg/dl

### 5.8.3 Dosagem do lactato no LCR:

O lactato foi dosado pelo método enzimático LDH (desidrogenase láctica), sendo processadas por meio do aparelho automatizado da marca Wiener lab, modelo CDM 800i cujos valores de referência para normalidade estão entre 0,2 e 2,2 mmol/L.

## 5.9 Exame bacteriológico

Foi utilizado para identificação de bactérias (Gram positivas e Gram Negativas) e micobactérias. Foram utilizados os meios ágar-sangue de carneiro 5%, ágar-chocolate e ágar EMB para o isolamento das cepas A prova da oxidase, TSI (Triple Sugar and Iron) e Citrato de Simmons foram utilizadas para identificação das espécies Gram-negativas, enquanto a prova da catalase e coagulase para as Gram-positivas.

## 5.10 Exame imunológico

**Aglutinação pelo látex-** importante método utilizado na detecção dos antígenos bacterianos em amostras de LCR. As partículas de látex, sensibilizadas com antissoros específicos, permitem a aglutinação rápida por meios de lâmina ou placa.

## 5.11 Diagnóstico Molecular (Viral)

As amostras que tiveram a solicitação para investigação viral, foram direcionadas para análises moleculares (PCR convencional e RT-PCR) e testes sorológicos (IgM).

### 5.11.1 Extração de DNA e RNA

Foi realizado a extração do ácido nucleico (DNA/RNA) das amostras de LCR através do kit ReliaPrep™ Viral Total Nucleic Acid Purification kit, Custom (Promega, USA). Posteriormente, seguiu para a detecção do painel viral: dos vírus da Família Herpesvírus; Arboviroses; Dengue sorotipos (1 a 4) e Zika; Enterovirus e Parvovírus B-19. Com finalidade de avaliar a qualidade da extração do ácido nucleico, foi amplificado gene  $\beta$ -actina humano para observar a integridade do material extraído

### 5.11.2 PCR para os vírus da família *Herpesviridae*.

Para detecção dos vírus da família *herpesviridae* a amplificação gênica foi feita pela técnica PCR multiplex, no qual se utilizou os iniciadores mostradas no quadro 1. Protocolo descrito por (MARKOULATOS et al., 2001).

### 5.11.3 Reação de Transcrição reversa (RT)

Para os vírus RNA, foi realizada a reação de transcrição reversa (RT) utilizando a enzima SuperScript® III First-Strand System da Invitrogen™.

#### 5.11.4 Diagnóstico diferencial para arbovírus

- 1- Para a detecção dos subtipos de dengue, os LCR foram submetidos para procedimento de Nested-PCR que permite detecção e tipagem dos quatro sorotipos de DENV, protocolo descrito por (LANCIOTTI et al., 1992)
- 2- Para a detecção dos vírus Chikungunya em amostras de LCR foi utilizado o protocolo descrito por (PFEFFER et al., 2002)
- 3- Para a detecção dos vírus zika em amostras de LCR foi utilizado o protocolo descrito por (LANCIOTTI et al., 2008).

#### 5.11.5 Eletroforese em gel de agarose

Para a leitura dos resultados das PCRs descritas nos itens acima, todos os amplicons foram analisados por eletroforese em gel de agarose a 2%, utilizando solução tampão TBE 1X (89mM Tris; 89mM ácido bórico; 2mM EDTA) em pH 8,4. A corrida durou em torno de 60 minutos a 80 V. Foi utilizado um marcador de peso molecular de 100pb (Invitrogen Life Technologies). O gel foi corado com brometo de etídio (1,0 µg/mL) e as bandas foram visualizadas sob luz ultravioleta.

#### 5.11.6 PCR em tempo real (qPCR)

A qPCR foi processada no equipamento QuantStudio 3 *Applied Biosystems (Thermo Fisher Scientific)*. Além disso, as amostras que foram submetidas para esse procedimento, tiveram um protocolo de controle interno, a RNase P - marcador biológico humano, com intuito de avaliar a eficiência das extrações dos RNA. Para detecção para os Enterovírus a qPCR específica foi Pan-Enterovirus, o protocolo descrito por (OBERSTE et al., 2010).

### **5.12 Diagnóstico Sorológico**

Para o diagnóstico sorológico da Dengue e Zika, foi utilizado o ensaio imunoenzimático ELISA de captura IgM (Mac-ELISA) in house.

### **5.13 Análise de dados**

Dados demográficos foram tabuladas no programa Microsoft Excel®, foram incluídas as variáveis: idade, sexo, procedência, hipótese diagnóstica, sinais e sintomas clínicos e o perfil do LCR a partir dos testes bioquímicos e citológicos, cultura e diagnóstico molecular.

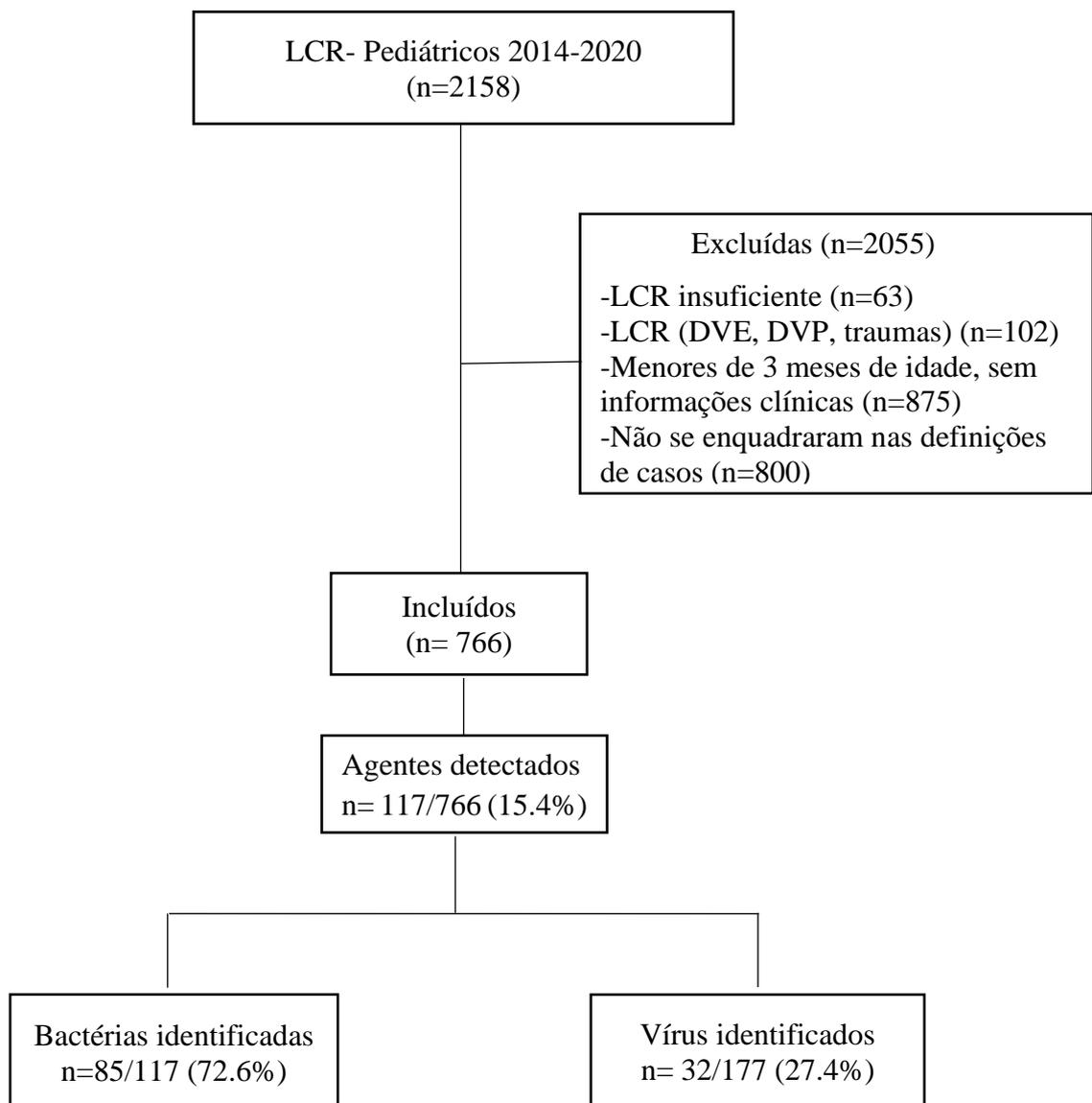
Como parte do plano pré-analítico, variáveis foram criadas com a finalidade de facilitar a análise estatística após a fase de coleta de dados. Conforme tabela 1, apresenta-se cada variável criada no banco de dados, um resumo do fim a que se destina, o tipo de variável e a unidade de medida, se aplicável.

### **5.14 Aspectos Éticos**

O projeto foi aprovado no Comitê de Ética em Pesquisas da Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado **CAAE**: 43123315.2.0000.0005, sob número do parecer 4.400.75.

## 6 RESULTADOS

Durante o período do estudo, o Laboratório de Bacteriologia da FMT-HVD recebeu 2.821 amostras LCR de pacientes pediátricos com suspeita de infecção no SNC. Destas, 2055 foram excluídas por não atenderem aos critérios de inclusão e as razões são as explicitadas a seguir: a) amostras de LCR insuficiente (n=63); LCR não infeccioso (DVE, DVP, traumas) (n=102) e crianças menores de 3 meses de idade sem informações clínicas (n=875); b) não se enquadraram nas definições de casos (n=800). (Figura 14)



**Figura 14:** Fluxograma de inclusão dos pacientes.

Foram incluídos no estudo 766 pacientes pediátricos, a faixa-etária predominante foi de 1 a 4 anos com 28% (219/766) e 56% (431/766) eram do sexo masculino. Os sinais e sintomas mais prevalentes foram: febre, vômito e cefaleia com 26.8%, 19.5%, 17.8% respectivamente. Quanto à procedência hospitalar, 54% (417/766) eram provenientes de Hospitais Pronto Socorro infantis da cidade de Manaus, seguido por 30% atendidos na FMT-HVD. (Tabela 1).

**Tabela 1:** Características sociodemográficas e clínicas dos 766 pacientes pediátricos com suspeita de infecção no SNC diagnosticados em um laboratório de referência em Manaus-Am, no período de janeiro de 2014 a dezembro de 2020.

<b>Variáveis</b>	<b><i>fi</i></b>	<b>%</b>
<b>Sexo</b>	431	56
Masculino	335	44
Feminino		
<b>Faixa etária</b>	145	19
< 1 ano	219	28
1 a 4 anos	196	26
5 a 9 anos	206	27
10 a 15 anos		
<b>Procedência/ Hospitalar</b>	417	54
Hospitais Pronto Socorro Infantis	236	31
FMT-HVD	17	12.6
Maternidades	96	2.4
Outros		
<b>*Sinais e sintomas</b>		
Febre	205	26.8
Vômito	150	19.5
Cefaleia	137	17.8
Rigidez de Nuca	74	9.6
Convulsão	57	7.4
Alteração de consciência	54	7
Irritabilidade	8	1
Alteração na força	8	1
<b>Total</b>	<b>766</b>	<b>100</b>

*fi*: frequência absoluta simples; %: frequência relativa.

\* sujeitos a variação nas frequências absoluta e relativa devido o mesmo paciente apresentar mais de um sinal e sintoma clínico

O agente etiológico foi identificado em 15.4% (**117/766**) das amostras, sendo as bactérias os principais agentes isolados em 72.6% (**85/117**) dos casos, identificadas por diferentes métodos: cultura para aeróbios em 38,8% (**33**) dos casos, detecção de anticorpos por aglutinação em látex em 35,2% (30) dos casos e 26% (**22**) dos casos identificados apenas pelo método de Gram. Os agentes virais foram identificados em 27.4% (**32/117**) das amostras. Em dois casos, houve coinfeção entre os vírus CMV+HSV-2 e EV+PVB-19.

Em relação as características sociodemográficas, a faixa etária predominante foi entre 10 a 15 anos, e o sexo masculino foi o mais prevalente nos grupos bacterianos e virais. A maioria das amostras de LCR foram coletadas na FMT-HVD e nos hospitais e pronto socorros infantis de Manaus com 47,5 e 46,2% dos casos respectivamente. Referente a procedência de residência de origem dos pacientes, 47% eram da capital Manaus, e a maior parte pertenciam a zona oeste que inclui os bairros (Compensa, Alvorada, Redenção entre outros.) e 13% (15/117) foram de pacientes provenientes de outros municípios do estado do Amazonas, dentre estes: Autazes, Careiro Castanho, Benjamin Constant, Presidente Figueiredo, Tapauá, Iranduba, Novo Aripuanã, São Gabriel da Cachoeira, Manicoré e Urucurituba. (Tabela 2)

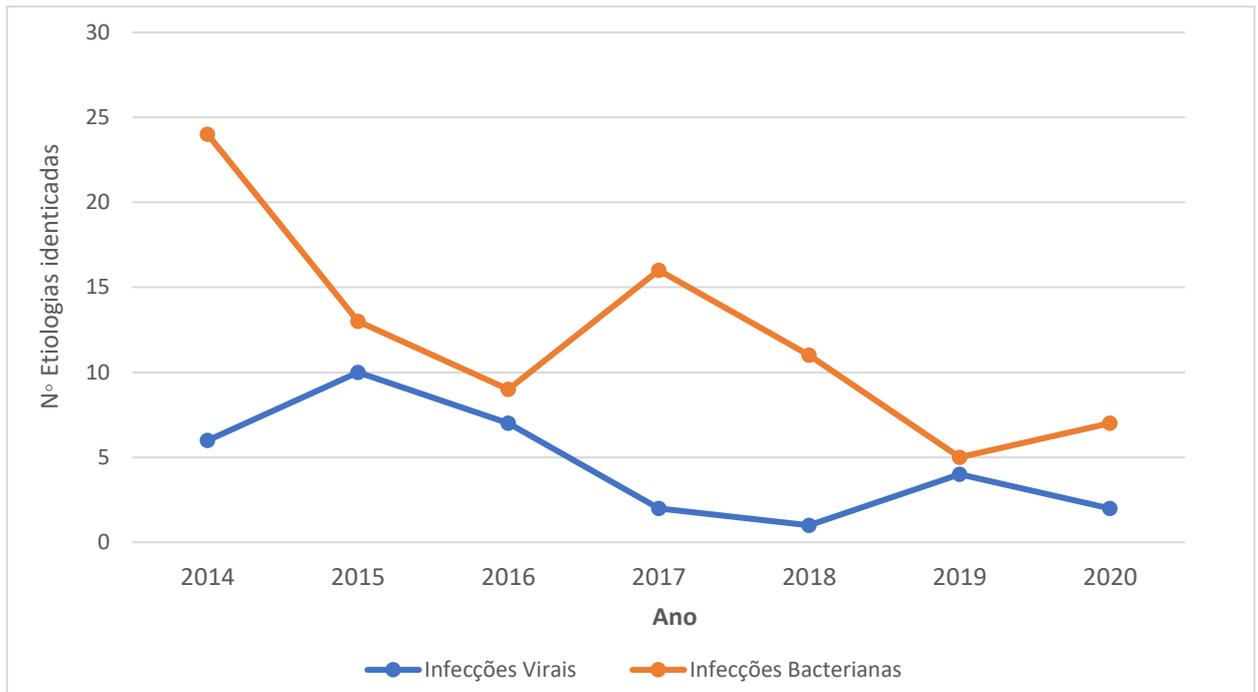
**Tabela 2:** Características sociodemográficas dos pacientes pediátricos com agente etiológico identificado no líquido cefalorraquidiano em um laboratório referência em Manaus-Am, no período de janeiro de 2014 a dezembro de 2020

<b>Variáveis</b>	<i>fi</i>	%
<b>Sexo</b>		
Masculino	72	61,3
Feminino	45	38,7
<b>Faixa etária</b>		
< 1 ano	23	20
1 a 4 anos	32	26,8
5 a 9 anos	27	22,6
10 a 15 anos	35	30,6
<b>Procedência hospitalar</b>		
FMT-HVD	56	47,5
Hospitais Pronto Socorro Infantis	55	46,2
Outros	7	5,8
Maternidades	1	0,5
<b>Zona de residência</b>		
Oeste	23	20,2
Sul	12	8,4
Leste	10	8,4
Norte	10	8,4
Outros municípios	15	13
S/I	47	40
<b>Total</b>	<b>117</b>	<b>100</b>

*fi*: frequência absoluta simples; %: frequência relativa.

S/I: Sem informação

Conforme distribuição anual de casos referente ao período de 2014 a 2020, observa-se que as infecções bacterianas sempre prevaleceram em relação as infecções virais, destaca-se os anos de 2016 e 2019, que apresentaram semelhança no número de bactérias e vírus detectados (Figura: 15).



**Figura 15:** Distribuição por etiologias em pacientes pediátricos com infecção no SNC diagnosticados em um laboratório referência em Manaus-Am, no período de janeiro de 2014 a dezembro de 2020.

A meningite foi a manifestação neurológica mais prevalente em 47,8% dos casos, os sinais e sintomas mais frequentes, observados neste grupo, foram: febre (53%); vômito (42,7%) e cefaleia (33%). Além disso, 32% dos pacientes receberam antibioticoterapia prévia, sendo a ceftriaxona o antibiótico mais utilizado. Durante o período do estudo, a internação hospitalar foi registrada em 42,7 (50/117) dos casos. Destes, 32,4% (38/117/) permaneceram internados por mais de 72 horas e dezesseis pacientes (13,6%) foram internados na Unidade de Terapia Intensiva (UTI). Referente ao desfecho, o óbito foi registrado em apenas três casos. (Tabela 3)

**Tabela 3:** Frequência das manifestações clínicas, sinais e sintomas, internação e desfecho de pacientes pediátricos com agente etiológico identificado no LCR em um laboratório referência em Manaus-Am, no período de janeiro de 2014 a dezembro de 2020.

Variáveis	<i>f<sub>i</sub></i>	(%)
<b>Manifestações Clínicas</b>		
Meningite	56	47,8
Meningoencefalite	12	10,2
Encefalite	11	9,4
<b>Sinais e sintomas*</b>		
Febre	62	53
Vômito	50	42,7
Cefaleia	39	33
Rigidez de Nuca	22	18,8
Alteração de consciência	19	16,2
Convulsão	10	8,5
Irritabilidade	4	3,4
Alteração na força	2	1,7
<b>Tratamento prévio</b>		
Sim	38	32,4
S/I	79	67,6
<b>Período de internação</b>		
<24 horas	2	1,7
24-72 horas	3	2,6
> 72 horas	45	38,4
S/I	69	57,3
<b>UTI</b>	16	13,6
<b>Desfechos</b>		
Não óbito	114	97,4
Óbito	3	2,6
<b>Total</b>	<b>117</b>	<b>100</b>

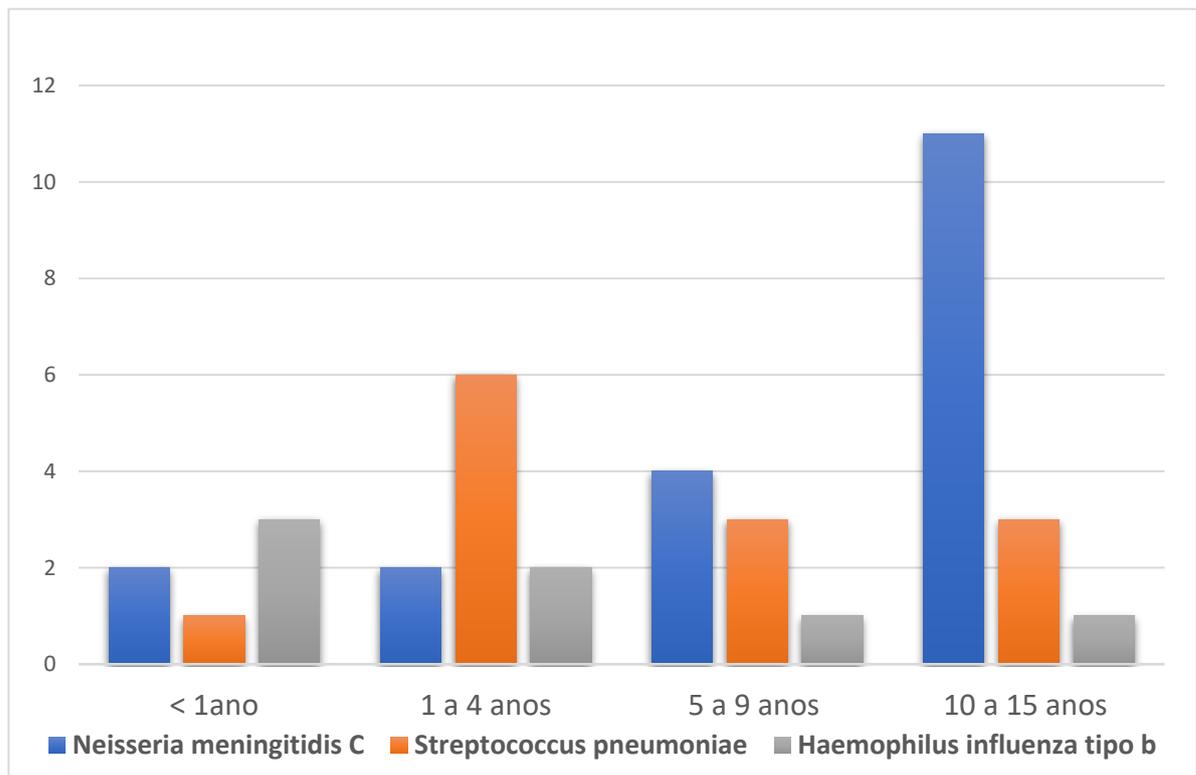
*f<sub>i</sub>*: frequência absoluta simples; %: frequência relativa.

S/I: Sem informação

\* sujeitos a variação nas frequências absoluta e relativa devido o mesmo paciente apresentar mais de um sinal e sintoma clínico

## 6.1 Infecção Bacteriana

Dentre as infecções bacterianas o patógeno foi identificado em 74,1% (63/85) das amostras de LCR. Dentre estes, 61,9% (39/63) são conhecidos como patógenos imunopreveníveis distribuídos em: *Neisseria meningitidis* sorogrupo C com 22,5% dos casos predominado na faixa-etária de 10 a 15 anos, o *Streptococcus pneumoniae* com 15,2% dos casos na faixa-etária de 1 a 4 anos e os *Haemophilus influenzae* tipo b com 8,2% dos casos em menores de 1 ano. (figura 16)



**Figura 16:** Distribuição agentes bacterianos isolados em amostras de líquido cefalorraquidiano por faixa-etária dos pacientes pediátricos diagnosticados em um laboratório referência em Manaus-Am, no período de janeiro de 2014 a dezembro de 2020

Além destes, foram identificados 16,4% (14) de *Staphylococcus sp*; 11,7% (10) de bactérias do gênero *Enterobacterales*, distribuídos em: três casos de *Serratia*, dois de *Klebsiella pneumoniae*, dois de *Pseudomonas*, *Proteus Vulgaris*, *Proteus Miralibis*, e *Acinetobacter* com um caso cada. (Tabela 4).

**Tabela 4:** Frequência dos agentes bacterianos isolados em amostras de líquido cefalorraquidiano de pacientes pediátricos em um laboratório de referência em Manaus-Am, no período de janeiro de 2014 a dezembro de 2020

<b>Agentes Bacterianos</b>	<b><i>fi</i></b>	<b>%</b>
Bactérias identificadas apenas no Gram	22	26
<i>Neisseria meningitidis</i> sorogrupo C	19	22,5
<i>Staphylococcus sp</i>	14	16,4
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	13	15,2
<i>Enterobacterales</i>	10	11,7
<i>Haemophilus influenza</i> tipo b	7	8,2
<b>Total</b>	<b>85</b>	<b>100</b>

*fi*: frequência absoluta simples; %: frequência relativa.

## 6.2 Infecções virais

Os agentes virais foram detectados em 27.4% (32/117) dos casos, por diferentes métodos diagnósticos, dentre estes, moleculares e sorológicos. Os Enterovírus foram os patógenos mais prevalentes com 12 casos, seguido pelos vírus da família *herpesviridae*, com oito casos, distribuídos em Herpes simplex tipo 2, Epstein Barr vírus, Varicela zoster vírus, e Citomegalovírus, todos com dois casos cada, e cinco casos de Parvovírus B19. Os arbovírus dengue e zika foram identificados em sete amostras, quatro casos do vírus Dengue e três casos de Zika vírus, confirmados pelo ensaio imunoenzimática (ELISA) de captura IgM. E houve dois casos de coinfeção entre os vírus CMV+HSV-2 e EV+PVB-19. (Tabela 5).

**Tabela 5:** Frequência dos agentes virais identificados em amostras de líquido cefalorraquidiano de pacientes pediátricos em um laboratório de referência em Manaus-Am, no período de janeiro de 2014 a dezembro de 2020.

<b>Agentes virais</b>	<b><i>f<sub>i</sub></i></b>	<b>%</b>
Enterovírus	12	37.5
Herpes simplex tipo 2	2	6.25
Varicela zoster vírus	2	6.25
Epstein Barr vírus	2	6.25
Citomegalovírus	2	6.25
Dengue	4	12.5
Zika vírus	3	9.4
PVB-19	5	15.6
Total	32	100

*f<sub>i</sub>*: frequência absoluta simples; %: frequência relativa.

### 6.3 Parâmetros celulares e bioquímicos

Na comparação entre os parâmetros celulares e bioquímicos das amostras positivas de LCR para infecção bacteriana e viral. Foi observado um perfil liquórico inflamado nas infecções bacterianas, com alta celularidade (VR:  $<5\text{cels/mm}^3$ ), mediana de  $900\text{ célula/mm}^3$  (intervalo: 10-2000) predominando os polimorfonucleares, elevados níveis de proteína (VR:  $<45\text{mg/dL}$ ) com mediana de  $243\text{ mg/dL}$ , e reduzido nível de glicose (VR:  $45\text{-}80\text{ mg/dL}$ ) com mediana de  $10\text{ mg/dL}$ . Por outro lado, nas infecções virais, o perfil liquórico foi moderadamente alterado, mediana de celularidade com  $72,5\text{ células/mm}^3$  predominando as mononucleares (intervalo: 8-906), a mediana de proteína com  $64,05\text{ mg/dL}$ , e glicose dentro do valor de referência  $58\text{ mg/dL}$ . Na comparação entre os grupos de infecção bacteriana e viral, observamos significância estatística entre todos os parâmetros analisados com ( $p < 0.05$ ). (Tabela 6)

**Tabela 6:** Parâmetros celulares e bioquímicos de amostras de líquido cefalorraquidiano de pacientes pediátricos com neuroinfecção diagnosticados em um laboratório de referência em Manaus-Am, no período de janeiro de 2014 a dezembro de 2020.

Parâmetros bioquímicos	Infecção Bacteriana (Md)	Infecção Viral (Md)	<i>p</i>
Citometria	900 (10-22000)	72,5 (0-906)	$<0,05$
Glicose	10 (0-91)	58 (17-87)	$<0,05$
Proteínas	243 (0- 5379)	64,05 (10-84.5)	$<0,05$
Lactato	10,1(0-9.2)	1,75 (0-4.7)	$<0,05$

**Md=** mediana

## 7 DISCUSSÃO

As infecções do sistema nervoso são responsáveis por altas taxas de morbimortalidade na população pediátrica. Portanto, são um desafio para os sistemas de saúde mundiais. Essas doenças, têm como agente etiológico os vírus e bactérias e, na maior parte dos casos podem evoluir para uma doença grave, onde se observam as sequelas neurológicas e óbito (ACOSTA et al., 2014). Este estudo de base hospitalar fornece informações sobre os principais agentes etiológicos causadores de infecções no SNC em pacientes pediátricos hospitalizados em Manaus, capital do Estado do Amazonas. Nossos dados mostram uma prevalência geral de 15,4% (117/766) de agentes detectados no líquido cefalorraquidiano e, sugere que os patógenos bacterianos mais comuns causadores de meningite em Manaus são as *Neisseria meningitidis* sorogrupo C, seguida do *S. pneumoniae*, e que os patógenos virais mais comuns são os *enterovírus* e *herpesvírus*. Observamos também, que a identificação bacteriana apenas pelo método de Gram foi possível em 26% dos casos, o que pode ser atribuído ao uso de antibióticos antes da admissão hospitalar. Esses achados destacam a utilidade do diagnóstico molecular associados aos métodos laboratoriais clássicos como Gram e cultura para melhorar a identificação de patógenos causadores de infecção no sistema nervoso. Embora o uso do diagnóstico molecular tenha melhorado a detecção de patógenos virais neste estudo, observamos um baixo percentual de detecção, semelhante aos relatados em outros estudos (TURNER et al., 2017), que pode ser devido ao uso prévio de medicação, eliminação do agente resultando na ausência do ácido nucléico detectável ou infecção por patógenos não incluídos no painel de diagnóstico local.

Estudos indicam que os meninos são os mais acometidos por infecções neurológicas. Em nosso estudo, 61,3% das crianças eram meninos hospitalizados em Pronto Socorro Infantil da cidade de Manaus e de outros municípios, semelhante ao descrito na literatura. Estudos também reportaram altas taxas 59,72% e 70,96% dos casos de infecção do SNC em meninos no Brasil e Índia, respectivamente (THOMAS et al., 2020; SANTOS et al., 2021)

As infecções neurológicas podem se apresentar de forma inespecífica e assintomática, manifestando a tríade clássica: febre, rigidez de nuca e alteração no nível de consciência. No entanto, para o diagnóstico clínico diferencial entre os tipos de doenças neurológicas (meningite, encefalite e meningoencefalite), deve-se observar a combinação desses sinais e sintomas. Meningite, apresenta o quadro clínico de febre, cefaleia, vômito e rigidez de nuca. Por sua vez, na encefalite, as principais manifestações clínicas são alteração no nível de

consciência, febre, cefaleia, distúrbios cognitivos, convulsões e déficits neurológicos focais. Já as meningoencefalites apresentam a junção dos sinais e sintomas da meningite e encefalite, demonstrando um quadro clínico com maior gravidade para os pacientes. Sendo assim, os diagnósticos clínico e laboratorial são de suma importância nas infecções do SNC. A combinação dos achados clínicos, e as técnicas convencionais, incluindo exame direto, coloração de Gram, cultura e detecção de antígenos/anticorpos; métodos sorológicos, moleculares, neuroimagens e análise quimiocitológica, possibilitam um diagnóstico preciso, contribuindo para a diminuição da mortalidade e morbidade, o tempo de internação hospitalar, além da diminuição da utilização de antibióticos empíricos e antivirais (DAVIES; SHARIEF; HOWARD, 2006; KUMAR, 2020; SOMAND; MEURER, 2009; SOUSA et al., 2021; TAMARA NAWAR; ANNA KALTSAS; YI-WEI TANG, 2021).

Os sinais e sintomas clínicos são característicos nas meningites bacterianas e virais e podem variar de acordo com alguns fatores como, a idade, imunidade, tipo de patógeno e tempo de doença (FIGUEREDO et al., 2021). Geralmente, pessoas idosas têm menos rigidez de nuca quando comparado a crianças (WEISFET et al., 2006). Dentre os casos de infecção no SNC descritos em nosso estudo, a febre, o vômito e a cefaleia foram os sintomas mais frequentes em ambas as infecções bacterianas e virais, principalmente na faixa-etária de 10 e 15 anos. Um estudo realizado na China relatou que os principais sintomas apresentados em crianças com MB comparado às meningites por enterovírus foram, febre (100%), vômito (31,2%) e convulsão (25%), sendo que a cefaleia (88,9%) esteve mais associada a infecção viral (XU et al., 2020).

Com o advento da vacina, o cenário epidemiológico das meningites bacterianas mudou nos últimos 25 anos. Na década de 80, patógenos como *Haemophilus influenzae tipo b*, *Neisseria meningitidis* e *Streptococcus pneumoniae* causavam mais de 80% das meningites bacterianas em crianças (SLACK et al., 2021). Entretanto, em países com baixo desenvolvimento socioeconômico, a doença continua sendo importante causa de morbimortalidade, com incidência variando de acordo com a região geográfica e maior prevalência na população pediátrica. Este cenário epidemiológico tem como principais fatores a falta de cobertura vacinal, ou estados críticos de imunossupressão do hospedeiro (SYROGIANNOPOULOS; MICHOUULA; GRIVEA, 2022). Neste estudo, 72,6% das infecções no SNC foram de etiologias bacterianas, e os patógenos mais isoladas em amostras de LCR, foram os imunopreveníveis, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* e *Haemophilus influenzae tipo b*. KUCHAR et al. também encontrou prevalência de 83,7% de infecções por bactérias imunopreveníveis em pacientes pediátricos, destacando as *Neisserias Meningitidis* em 32,6% e *Streptococcus pneumoniae* em 27,9% dos casos (KUCHAR et al., 2014). Além disso,

um estudo prospectivo conduzido na China, também identificou alta prevalência de patógenos bacterianos em casos de síndromes de meningites e encefalites agudas na população pediátrica (SHEN et al., 2019). No Brasil, a prevalência das meningites bacterianas em 2015 foi de 35,6%, destacando-se, as *Neisseria Meningitidis* e *Streptococcus pneumoniae* como os principais agentes etiológicos (CAETANO GONÇALVES SILVA; MEZAROBBA, 2018). O perfil líquórico desse grupo de pacientes foi muito inflamado, com alta celularidade e predomínio de polimorfonuclear, elevados níveis de proteínas e lactato, e baixos níveis de glicose, semelhante aos achados líquóricos de um estudo retrospectivo que avaliou os casos de meningite bacteriana em pacientes pediátricos em um hospital universitário na Etiópia (AMARE; KEBEDE; WELCH, 2018).

Ao longo dos anos, outras bactérias vêm emergindo como causadoras de meningites bacterianas, dentre as quais se destacam as enterobactérias *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* (BENNINGER, et al. 2020). Essas bactérias estão na lista de patógenos prioritários da OMS por serem microrganismos capazes de desenvolver resistência aos antimicrobianos, dificultando o tratamento (OMS, 2019). Em nosso estudo, 11,7% das infecções bacterianas foram causadas por bactérias da família *Enterobacteriales*, principalmente na faixa-etária <1 ano. Dentre estas, destacamos as espécies *Serratia sp.*, *K. pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa*. Um estudo de coorte de base hospitalar, realizada na Tailândia, também identificou casos de meningites neonatais, por *Acinetobacter baumannii*, *E. coli* e *K. pneumoniae* (THATRIMONTRICHAI et al., 2021).

A antibioticoterapia empírica administrada nas primeiras horas após suspeita de MB define o sucesso do tratamento (ARONIN; PEDUZZI; QUAGLIARELLO, 1998). Para o tratamento empírico das meningites, as diretrizes recomendam o uso de cefalosporinas de amplo espectro até que sejam conhecidos os agentes causadores e a sua suscetibilidade aos antimicrobianos (TUNKEL et al., 2004). O uso da vancomicina associado à cefotaxima ou ceftriaxona é a principal combinação utilizada em crianças com suspeita de MB (SWANSON, 2015). Nesse estudo, 32% das crianças fizeram uso de antibioticoterapia prévia, sendo a ceftriaxona, a droga mais utilizada. SCHAAD et al. (1990) avaliou 106 pacientes hospitalizados com meningite bacteriana; comparou o uso da ceftriaxona e cefuroxime e observou que a resposta ao tratamento foi semelhante nos dois grupos, porém as crianças que utilizaram cefuroxime tiveram perda auditiva de moderada a grave, quando comparada aos que utilizaram ceftriaxona (17% vs. 4%). Sendo assim, o uso da ceftriaxona é superior no tratamento da MB em relação ao cefuroxime (SCHAAD UB; SUTER S; GIANELLA-BORRA- DORI A, 1990).

A introdução dos métodos moleculares foi um avanço para a rotina de diagnóstico das infecções neurológicas, permitindo ampliar o número de patógenos identificados no LCR. Os principais agentes etiológicos relacionados às infecções no SNC são os enterovírus, seguidos pelos vírus da família *herpesviridae* (HSV-1, HSV-2, VZV, EBV e CMV) e Arbovírus: dengue, Zika, Chikungunya e febre amarela, (CDC, 2020). Em nosso estudo, foram detectados 27,4% de agentes virais no LCR. Dentre estes, os enterovírus, Herpesvírus e arbovírus foram os mais prevalentes. Sendo assim, nossos dados são consistentes com a literatura atual, como demonstrado no estudo epidemiológico de meningite e encefalite na população pediátrica, onde os enterovírus e arbovírus foram os mais prevalentes nos Estados Unidos (HASBUN et al., 2019). Além disso, um trabalho de vigilância das meningites/encefalites, mostrou que os enterovírus (48,89%) e os vírus herpes simplex (27,34%) foram os patógenos virais mais detectados em pacientes chineses <18 anos (WANG et al., 2022).

Os enterovírus são responsáveis pela maioria dos casos de meningites. O clima é um importante fator que contribui para a alta prevalência destes agentes. Por outro lado, em regiões tropicais e subtropicais, a maior prevalência pode ocorrer no período de julho a setembro, e em outros meses do ano (B'KRONG et al., 2018). Em nosso estudo, os enterovírus foram os patógenos mais comuns com 37,5% dos casos, corroborando com estudos em diferentes países, que reportam altas taxas de enterovírus. (AI et al., 2017; ABID et al., 2018; BRAUNOVA et al., 2019). Em relação ao perfil liquórico deste grupo de pacientes, destaca-se um perfil moderadamente inflamado, com alta celularidade, concentração elevada de proteínas e níveis de glicose e lactato normais. Nossos achados foram consistentes às características sugestivas para infecção viral no SNC, porém, recentes estudos relataram ausência de pleocitose no LCR em casos de infecções virais. Dentre eles, dois estudos retrospectivos, ambos realizados na Coreia do Sul, avaliaram casos de meningite por enterovírus em pacientes pediátricos e constataram a ausência de pleocitose no LCR. (KO et al., 2019; SONG et al., 2018).

Os vírus da família *Herpesviridae* estão fortemente associados a encefalites agudas e em menor grau às meningites (DAHM et al., 2016). No presente estudo, os herpesvírus foram detectados em oito (25%) das amostras de LCR, semelhante ao descrito por IMAMBA et al. (2019) que detectou 26,4% de diferentes Herpesvírus, EBV, HHV-6, HHV-7, CMV e HSV-1, em amostras de LCR de pacientes pediátricos internados em um hospital da Zâmbia (IMAMBA et al., 2019). Além disso, um estudo conduzido no Vietnã, identificou 1,3% dos herpes simplex e citomegalovírus em amostras de LCR de crianças com infecções no SNC (VAN TAN et al., 2010). No Brasil, também foram detectados 18,2% de casos por herpesvírus no SNC de pacientes pediátricos, distribuídos em VZV, HSV e CMV (OLIVEIRA et al., 2017).

A distribuição das arboviroses depende da região geográfica e fatores que favorecem a persistência e disseminação viral, como as mudanças climáticas, desmatamentos, migração populacional, ocupação desordenada e precariedade das condições sanitárias (LOPES; NOZAWA; LINHARES, 2014). O Brasil, é considerado endêmico para as principais arboviroses, Dengue, Zika e Chikungunya, importantes patógenos emergentes causadores das síndromes febris e neurológicas na população em geral (SILVA MARINHO; KROON, 2019). Em nosso estudo, os arbovírus foram identificados em sete (21,9%) dos casos suspeitos de infecção viral no SNC, sendo quatro casos de DENV e três casos de ZIKV. Estudos realizados em diferentes regiões do Brasil, mostraram variação na prevalência das arboviroses no SNC. Em um estudo realizado em Salvador - BA, com pacientes internados suspeitos de meningite viral, os arbovírus dengue, chikungunya e zika foram identificados em 70,3% dos casos (DIAS et al., 2022). Além do mais, um estudo realizado com pacientes hospitalizados no Hospital infantil na cidade de Belo Horizonte - MG, identificou 32% de infecção por DENV em crianças com suspeitas de infecção viral no SNC durante a epidemia de dengue 2014-15 (MARINHO et al., 2017). Dois estudos realizados em Manaus, capital do Amazonas, que avaliaram pacientes com suspeita de infecção viral no sistema nervoso, identificaram o dengue em 8,2% e 4,3% das amostras de LCR respectivamente (BASTOS et al., 2018, 2014). Em regiões endêmicas para arbovírus como a Amazônia, a vigilância laboratorial das infecções neurológicas é de extrema importância para o monitoramento e diagnóstico diferencial para outros vírus encefalitogênicos.

O perfil liquórico alterado fornece evidência da infecção bacteriana na presença de pleocitose com predominância de neutrófilos, baixos níveis de glicose e altos níveis de proteínas (MOUNT; BOYLE, 2017). Tal fator é diferente nas infecções virais, onde se observa pleocitose mononuclear, elevação moderada de proteínas e níveis normais de glicose, o que reflete 60-80% da glicose plasmática (BARTT, 2012). Observamos em nosso estudo um aumento estatisticamente significativo entre os parâmetros celulares e bioquímicos do LCR indicando alterações na celularidade, proteína, glicose e lactato entre os grupos de infecções bacteriana a viral com ( $p < 0,05$ ), semelhante ao estudo de NAZIR et al. (2018), que demonstrou um perfil liquórico bacteriano mais alterado que o viral ( $p < 0,001$ ), e ressaltou a importância na dosagem do lactato no líquido como importante marcador para diferenciar as infecções bacterianas das virais (NAZIR et al., 2018). A avaliação dos parâmetros liquóricos, são baratos e acessíveis, de importante utilidade na condução das infecções, sobretudo em regiões com infraestrutura laboratorial mínima e poucos recursos, como na região amazônica. Estabelecer um marcador como o lactato tem o potencial de contribuir com a conduta clínica.

Este estudo tem várias limitações, incluindo informações sobre fatores de risco e viés de seleção. Devido a análise retrospectiva dos dados laboratoriais e dos prontuários não foi possível incluir informações ou acessar todos os registros clínicos que permitiriam a análise dos dados com base na gravidade da doença e desfecho para recuperação ou óbito. Além disto, não se conseguiu recuperar informações sobre a situação vacinal das crianças. O número total de infecções no sistema nervoso na cidade de Manaus, pode ter sido subestimado, pois o laboratório de Bacteriologia da FMT-HVD analisou amostras encaminhadas por outros serviços ou apenas dos casos mais críticos.

Em conclusão, a prevalência das infecções no sistema nervoso na população pediátrica na cidade Manaus foi de 15,4%. Apesar do programa de vacinação, ainda há circulação de bactérias imunopreveníveis como, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* e *Haemophilus influenzae* tipo *b*. Além disso, os agentes virais mais prevalentes foram os Enterovírus, Herpesvírus e Arbovírus. Programas governamentais e instituições de saúde devem ser capazes de promover políticas públicas capazes de garantir recursos financeiros, sociais e humanos não apenas para o tratamento, mas também para o diagnóstico e prevenção da carga de infecções no sistema nervoso.

## 8 CONCLUSÃO

- A prevalência das infecções no SNC na população pediátrica na cidade Manaus foi de 15,4%.
- Verificou-se predomínio de infecção em crianças do sexo masculino, e na faixa etária entre 10 a 15 anos.
- Os sinais e sintomas mais frequentes foram: febre, cefaleia e vômito. Não é possível diferenciar infecções bacterianas das virais apenas pelos sintomas.
- As características do perfil liquórico, sugerem a diferenciação entre as infecções bacterianas e virais
- Os agentes bacterianos mais prevalentes com 61,9% dos casos foram: *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* e *Haemophilus influenzae tipo b*
- Agentes virais mais prevalentes com 27,4% foram: Enterovírus, Herpesvírus e Arbovírus.

## 9 REFERÊNCIAS

- 1- ABID, Fatma bem et al. Epidemiology and clinical outcomes of viral central nervous system infections. **International Journal Of Infectious Diseases**, [S.L.], v. 73, p. 85-90, ago. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2018.06.008>
- 2- ACOSTA, Jorge Humberto Davila et al. Noncongenital Central Nervous System Infections in Children. **Topics In Magnetic Resonance Imaging**, [S.L.], v. 23, n. 3, p. 153-164, jun. 2014. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/rmr.0000000000000021>
- 3- AGRAWAL, Aarti; MURPHY, Timothy F. Haemophilus influenzae Infections in the H. influenzae Type b Conjugate Vaccine Era. **Journal Of Clinical Microbiology**, [S.L.], v. 49, n. 11, p. 3728-3732, nov. 2011. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jcm.05476-11>.
- 4- AI, J et al. Etiologia e prognóstico da encefalite viral aguda e meningite em crianças chinesas: um estudo prospectivo multicêntrico. **BMC Infect Dis**17, 494 (2017). <https://doi.org/10.1186/s12879-017-2572-9>
- 5- AMARE AT, KEBEDE ZT, WELCH HD. Epidemiologia da meningite bacteriana em crianças internadas no Hospital Universitário de Gondar na era da vacina pós-pneumocócica. **Pan Afr Med J**. 2018 Nov 20; 31:193. DOI: 10.11604/pamj.2018.31.193.10254. PMID: 31086637; PMCID: PMC6488968.
- 6- ARCHIBALD, Lennox K.; QUISLING, Ronald G. Central Nervous System Infections. **Textbook Of Neurointensive Care**, [S.L.], p. 427-517, 2013. Springer London. [http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4471-5226-2\\_22](http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4471-5226-2_22)
- 7- AUTORE, Giovanni et al. Update on Viral Infections Involving the Central Nervous System in Pediatric Patients. **Children**, [S.L.], v. 8, n. 9, p. 782, 6 set. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/children8090782>.

- 8- ARONIN, Steven I. Community-Acquired Bacterial Meningitis: risk stratification for adverse clinical outcome and effect of antibiotic timing. **Annals Of Internal Medicine**, [S.L.], v. 129, n. 111, p. 862, 1 dez. 1998. American College of Physicians. [http://dx.doi.org/10.7326/0003-4819-129-11\\_part\\_1-199812010-00004](http://dx.doi.org/10.7326/0003-4819-129-11_part_1-199812010-00004).
- 9- BARICHELLO, Tatiana et al. Pathophysiology of acute meningitis caused by *Streptococcus pneumoniae* and adjunctive therapy approaches. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, [S.L.], v. 70, n. 5, p. 366-372, maio 2012. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0004-282x2012000500011>.
- 10- BARTT, Russell. Acute bacterial and viral meningitis. **CONTINUUM: Lifelong Learning in Neurology**, v. 18, n. 6, p. 1255-1270, 2012.
- 11- BASTOS, Michele de Souza et al. Importance of cerebrospinal fluid investigation during dengue infection in Brazilian Amazonia Region. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz** vol. 114 e180450. 10 Dec. 2018, doi:10.1590/0074-02760180450
- 12- BASTOS, Michele S et al. Detection of Herpesvirus, Enterovirus, and Arbovirus infection in patients with suspected central nervous system viral infection in the Western Brazilian Amazon. **Journal Of Medical Virology**, [S.L.], v. 86, n. 9, p. 1522-1527, 24 abr. 2014. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jmv.23953>
- 13- BENNINGER, Felix; STEINER, Israel. CSF in acute and chronic infectious diseases. **Cerebrospinal Fluid In Neurologic Disorders**, [S.L.], p. 187-206, 2018. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-804279-3.00012-5>
- 14- BIERRENBACH, Ana Luiza et al. Combined effect of PCV10 and meningococcal C conjugate vaccination on meningitis mortality among children under five years of age in Brazil. **Human vaccines & immunotherapeutics**, v. 14, n. 5, p. 1138-1145, 2018.
- 15- B'KRONG, Nguyen Thi Thuy Chinh et al. Enterovirus serotypes in patients with central nervous system and respiratory infections in Viet Nam 1997–2010. **Virology journal**, v. 15, n. 1, p. 1-8, 2018.

- 16- BLANCHETTE, Marie; DANEMAN, Richard. Formation and maintenance of the BBB. **Mechanisms of development**, v. 138, p. 8-16, 2015.
- 17- BLAUW, Dirkje de et al. Epidemiology and Etiology of Severe Childhood Encephalitis in The Netherlands. **Pediatric Infectious Disease Journal**, [S.L.], v. 39, n. 4, p. 267-272, abr. 2020. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/inf.0000000000002551>.
- 18- BRAUNOVA, Adriana et al. Clinical and laboratory characteristics of enteroviral meningitis in children, including qRT-PCR and sequencing analysis. **Biomedical Papers**, [S.L.], v. 163, n. 4, p. 355-361, 11 dez. 2019. Palacky University Olomouc. <http://dx.doi.org/10.5507/bp.2018.082>.
- 19- BROUWER, Matthijs C.; TUNKEL, Allan R.; BEEK, Diederik van de. Epidemiology, Diagnosis, and Antimicrobial Treatment of Acute Bacterial Meningitis. **Clinical Microbiology Reviews**, [S.L.], v. 23, n. 3, p. 467-492, jul. 2010. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/cmr.00070-09>.
- 20- CANTU RM, M Das J. Meningite viral. Ilha do Tesouro, FL: StatPearls Publishing (2020)
- 21- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Viral Meningitis. 15 jun de 2016. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/meningitis/viral.html>>. Acessado em: 15 de outubro de 2022
- 22- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Meningitis. 21 de jan. de 2020. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/meningitis/index.html>> Acessado em: 26 de dezembro. de 2021
- 23- CHOI, Yoon-Kyung; KIM, Kyu-Won. Blood-neural barrier: its diversity and coordinated cell-to-cell communication. **BMB reports**, v. 41, n. 5, p. 345-352, 2008.
- 24- GONÇALVES, Helena Caetano et al. Meningite no Brasil em 2015: o panorama da atualidade. **Arquivos Catarinenses de Medicina**, v. 47, n. 1, p. 34-46, 2018.

- 25- CAIRNS, Tina M et al. N-Terminal Mutants of Herpes Simplex Virus Type 2 gH Are Transported without gL but Require gL for Function. **Journal Of Virology**, [S.L.], v. 81, n. 10, p. 5102-5111, 15 maio 2007. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jvi.00097-07>
- 26- CAMPOS-BEDOLLA, Patricia; WALTER, Fruzsina R.; VESZELKA, Szilvia; DELI, Mária A.. Role of the Blood–Brain Barrier in the Nutrition of the Central Nervous System. **Archives Of Medical Research**, [S.L.], v. 45, n. 8, p. 610-638, nov. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.arcmed.2014.11.018>.
- 27- CHRISTIE, Deborah et al. Impact of meningitis on intelligence and development: a systematic review and meta-analysis. **PLoS One**, v. 12, n. 8, p. e0175024, 2017.
- 28- CLÉ, Marion et al. Neurocognitive impacts of arbovirus infections. **Journal of neuroinflammation**, v. 17, n. 1, p. 1-14, 2020.
- 29- COSTA, Bruna Klein da; SATO, Douglas Kazutoshi. Viral encephalitis: a practical review on diagnostic approach and treatment. **Jornal de Pediatria**, v. 96, p. 12-19, 2020.
- 30- COSTERUS, Joost M et al. Cranial Imaging and Lumbar Puncture in Patients With Suspected Central Nervous System Infection. **Clinical Infectious Diseases**, [S.L.], v. 70, n. 12, p. 2469-2475, 22 ago. 2019. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/cid/ciz694>.
- 31- DA SILVA, Juçara Noeli; YKKOUEDA, Suely Mitoi. Análise laboratorial do líquido cefalorraquidiano na meningite bacteriana aguda. **Revista Multidisciplinar da Saúde**, v. 4, n. 8, p. 42-53, 2012.
- 32- DAHM, Tobias, et al. Neuroinvasion and Inflammation in Viral Central Nervous System Infections. **Mediators Of Inflammation**, [S.L.], v. 2016, p. 1-16, 2016. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/8562805>.
- 33- DEPARTAMENTO DE INFORMÁTICADO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE (DATASUS). Informações de saúde. Disponível em <http://www.datasus.gov.br>. Acesso em 03/032021

- 34- DAVIES, N. W. S.; SHARIEF, M. K.; HOWARD, R. S.. Infection-associated encephalopathies—their investigation, diagnosis, and treatment. **Journal Of Neurology**, [S.L.], v. 253, n. 7, p. 833-845, 24 maio 2006. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00415-006-0092-4>.
- 35- DELBUE, Serena; TREMOLADA, Sara; FERRANTE, Pasquale. Application of molecular tools for the diagnosis of central nervous system infections. **Neurological Sciences**, [S.L.], v. 29, n. 2, p. 283-285, 9 ago. 2008. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10072-008-0965-7>
- 36- DIAS, Tamiris Tatiane et al. The emergence of arboviruses changes the profile of viral meningitis in Salvador, Bahia: a case series. **Frontiers in Tropical Diseases**, p. 112.
- 37- DOMINGUES, Carla Magda Allan S. et al. Effectiveness of ten-valent pneumococcal conjugate vaccine against invasive pneumococcal disease in Brazil: a matched case-control study. **The lancet Respiratory medicine**, v. 2, n. 6, p. 464-471, 2014.
- 38- DORSETT, Maia; LIANG, Stephen Y. Diagnosis and Treatment of Central Nervous System Infections in the Emergency Department. **Emergency Medicine Clinics Of North America**, [S.L.], v. 34, n. 4, p. 917-942, nov. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.emc.2016.06.013>
- 39- DRETLER, A. W.; ROUPHAEL, N. G.; STEPHENS, D. S. Progress toward the global control of *Neisseria meningitidis*: 21st century vaccines, current guidelines, and challenges for future vaccine development. **Human Vaccines & Immunotherapeutics**, [S.L.], v. 14, n. 5, p. 1146-1160, 4 maio 2018. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/21645515.2018.1451810>
- 40- ERICKSON, Timothy A et al. The Epidemiology of Meningitis in Infants under 90 Days of Age in a Large Pediatric Hospital. **Microorganisms**, [S.L.], v. 9, n. 3, p. 526, 4 mar. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/microorganisms9030526>.
- 41- FIGUEREDO, Leonardo Patrick et al. Perfil da meningite na população pediátrica no estado de Minas Gerais, Brasil. **Scientia Plena**, v. 17, n. 9, 2021.

- 42- FONSECA, Fernanda Machado et al. Diagnóstico laboratorial das meningites bacterianas. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 10, n. 1, p. 77-81, 2011.
- 43- FUJIMOTO, Hiroshi et al. Epstein-Barr virus infections of the central nervous system. **Internal medicine**, v. 42, n. 1, p. 33-40, 2003.
- 44- GETENEH, Alene et al. Viral Etiologies of Meningitis in Patients with Presumed Pyogenic Meningitis at University Hospitals in Ethiopia. **Infection And Drug Resistance**, [S.L.], v. 14, p. 1083-1088, mar. 2021. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.2147/idr.s304521>
- 45- GILDEN, Don et al. Varicella zoster virus in the nervous system. **F1000Research**, v. 4, 2015.
- 46- GONÇALVES, Helena Caetano et al. Meningite no Brasil em 2015: o panorama da atualidade. **Arquivos Catarinenses de Medicina**, v. 47, n. 1, p. 34-46, 2018.
- 47- GONZÁLEZ-SÁNCHEZ et al. Modulación de la apoptosis por cytomegalovirus en la perspectiva del sistema nervioso central. **Revista Chilena de Infectología**, [S.L.], v. 33, n. 1, p. 44-54, fev. 2016. SciELO Agência Nacional de Investigación y Desarrollo (ANID). <http://dx.doi.org/10.4067/s0716-10182016000100007>
- 48- GRAHN, Anna; STUDAHL, Marie. Varicella-zoster virus infections of the central nervous system – Prognosis, diagnostics and treatment. **Journal Of Infection**, [S.L.], v. 71, n. 3, p. 281-293, set. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinf.2015.06.004>.
- 49- GUEDES, Joanna et al. Doença meningocócica: situação epidemiológica atual no brasil. **Revista de Pediatria Soperj**, [S.L.], v. 18, n. 2, p. 24-27, 2018. Sociedade de Pediatria do Estado do Rio de Janeiro. <http://dx.doi.org/10.31365/issn.2595-1769.v18i2p24-27>
- 50- HASBUN, Rodrigo et al. Epidemiology of Meningitis and Encephalitis in Infants and Children in the United States, 2011–2014. **Pediatric Infectious Disease Journal**, [S.L.], v. 38, n. 1, p. 37-41, jan. 2019. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/inf.0000000000002081>.

- 51- IMAMBA, A. et al. Aetiology of encephalitis and meningitis in children aged 1-59 months admitted to the Children's Hospital, Lusaka, Zambia. **Medical Journal of Zambia**, v. 46, n. 2, p. 81-89, 2019.
- 52- JANOFF, Edward N.; MUSHER, Daniel M. Streptococcus pneumoniae. In: **Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases**. WB Saunders, 2015. p. 2310-2327. e5.
- 53- JAMALIDOUST, Marzieh et al. Investigating the etiologic agents of aseptic meningitis outbreak in Iranian children. **Journal Of Family Medicine And Primary Care**, [S.L.], v. 9, n. 3, p. 1573, 2020. Medknow. [http://dx.doi.org/10.4103/jfmmpc.jfmmpc\\_1003\\_19](http://dx.doi.org/10.4103/jfmmpc.jfmmpc_1003_19)
- 54- KENNEDY, Peter GE; QUAN, Phenix-Lan; LIPKIN, W. Ian. Viral encephalitis of unknown cause: current perspective and recent advances. **Viruses**, v. 9, n. 6, p. 138, 2017.
- 55- KIM, Hye-Jin et al. Epidemics of viral meningitis caused by echovirus 6 and 30 in Korea in 2008. **Virology journal**, v. 9, n. 1, p. 1-7, 2012.
- 56- KIM, Kwang Sik. Mechanisms of microbial traversal of the blood–brain barrier. **Nature Reviews Microbiology**, [S.L.], v. 6, n. 8, p. 625-634, 7 jul. 2008. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro1952>
- 57- KNEEN, R et al. Management of suspected viral encephalitis in children – Association of British Neurologists and British Paediatric Allergy, Immunology and Infection Group National Guidelines. **Journal Of Infection**, [S.L.], v. 64, n. 5, p. 449-477, maio 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinf.2011.11.013>.
- 58- KO, Yura et al. Clinical characteristics of enteroviral meningitis without pleocytosis in children: a retrospective single center observational study in the Republic of Korea. **BMC pediatrics**, v. 19, n. 1, p. 1-6, 2019.
- 59- KRSTANOVIĆ, Fran et al. Cytomegalovirus Infection and Inflammation in Developing Brain. **Viruses**, [S.L.], v. 13, n. 6, p. 1078, 4 jun. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/v13061078>.

- 60- KUCHAR, Ernest et al. Etiology and complications of central nervous system infections in children treated in a pediatric intensive care unit in Poland. **Journal of Child Neurology**, v. 29, n. 4, p. 483-486, 2014.
- 61- KUMAR, Rashmi. Understanding and managing acute encephalitis. **F1000Research**, v. 9, 2020.
- 62- LANCIOTTI et al. Rapid detection and typing of dengue viruses from clinical samples by using reverse transcriptase-polymerase chain reaction. **Journal Of Clinical Microbiology**, [S.L.], v. 30, n. 3, p. 545-551, mar. 1992. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jcm.30.3.545-551.1992>
- 63- LANCIOTTI et al. Genetic and Serologic Properties of Zika Virus Associated with an Epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. **Emerging Infectious Diseases**, [S.L.], v. 14, n. 8, p. 1232-1239, ago. 2008. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). <http://dx.doi.org/10.3201/eid1408.080287>
- 64- LOPES, Nayara; NOZAWA, Carlos; LINHARES, Rosa Elisa Carvalho. Características gerais e epidemiologia dos arbovírus emergentes no Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 5, n. 3, p. 10-10, 2014.
- 65- LUKLIĆ, Ivana et al. Estimating global and regional morbidity from acute bacterial meningitis in children: assessment of the evidence. **Croatian Medical Journal**, [S.L.], v. 54, n. 6, p. 510-518, dez. 2013. Croatian Medical Journals. <http://dx.doi.org/10.3325/cmj.2013.54.510>
- 66- MACHADO LP. GOMES HR. Processos Infecciosos no Sistema Nervoso Central. In. NITRINI Basscheschi LA. Neurologia que todo médico deve saber. São Paulo. **Editora. Atheneu**, 2003. P. 205-234
- 67- MALTA, Juliane Maria Alves Siqueira et al. Síndrome de Guillain-Barré e outras manifestações neurológicas possivelmente relacionadas à infecção pelo vírus Zika em municípios da Bahia, 2015. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, [S.L.], v. 26, n. 01, p. 09-18, jan. 2017. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.5123/s1679-49742017000100002>

- 68- MARINHO, Paula Eillanny Silva; et al. Meningitis Associated with Simultaneous Infection by Multiple Dengue Virus Serotypes in Children, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, [S.L.], v. 23, n. 1, p. 115-118, jan. 2017. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). <http://dx.doi.org/10.3201/eid2301.160817>.
- 69- MARINHO, P.e.s.; KROON, E.G. Flaviviruses as agents of childhood central nervous system infections in Brazil. *New Microbes And New Infections*, [S.L.], v. 31, p. 100572, set. 2019. **Elsevier BV**. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nmni.2019.100572>.
- 70- MARKOULATOS, Panayotis et al. Laboratory Diagnosis of Common Herpesvirus Infections of the Central Nervous System by a Multiplex PCR Assay. **Journal Of Clinical Microbiology**, [S.L.], v. 39, n. 12, p. 4426-4432, dez. 2001. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jcm.39.12.4426-4432.2001>
- 71- MARTIN, Natalie G et al. Hospital admissions for viral meningitis in children in England over five decades: a population-based observational study. **The Lancet Infectious Diseases**, [S.L.], v. 16, n. 11, p. 1279-1287, nov. 2016. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099\(16\)30201-8](http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099(16)30201-8).
- 72- MATHEW, Shilu et al. Epidemiology Profile of Viral Meningitis Infections Among Patients in Qatar (2015–2018). **Frontiers in Medicine**, v. 8, p. 809, 2021.
- 73- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Guia De Vigilância Em Saúde **5ª edição**. Brasil 2019
- 74- MOUNT, Hillary R.; BOYLE, Sean D. Aseptic and bacterial meningitis: evaluation, treatment, and prevention. **American family physician**, v. 96, n. 5, p. 314-322, 2017.
- 75- MEDEIROS MICHELE. **Padronização de teste molecular para o diagnóstico de meningites bacterianas pós-neurocirurgia**. São Paulo. 2018.
- 76- NAZIR, Mudasir et al. Cerebrospinal fluid lactate: a differential biomarker for bacterial and viral meningitis in children. **Jornal de Pediatria**, [S.L.], v. 94, n. 1, p. 88-92, jan. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpmed.2017.03.007>

- 77-NAWAR, Tamara; KALTSAS, Anna; TANG, Yi-Wei. Molecular Diagnostics in Central Nervous System Infections. **Neurological Complications of Infectious Diseases**, p. 13-36, 2021.
- 78-NETTER FH. Cabeça e pescoço. Atlas de anatomia humana. Editora. **Elsevier**, 2015. P. 101-116.
- 79- OLIVEIRA, Danilo B. de et al. Etiological agents of viral meningitis in children from a dengue-endemic area, Southeast region of Brazil. **Journal Of The Neurological Sciences**, [S.L.], v. 375, p. 390-394, abr. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jns.2017.02.025>
- 80- O'BRIEN, Katherine L et al. Burden of disease caused by Streptococcus pneumoniae in children younger than 5 years: global estimates. **The Lancet**, [S.L.], v. 374, n. 9693, p. 893-902, set. 2009. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(09\)61204-6](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(09)61204-6)
- 81-PEREIRA, Alessandra Gonçalves Lisboa et al. Vigilância das síndromes neurológicas notificadas no HFSE em um contexto de epidemia de Zika, chikungunya e dengue. **Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção**, v. 8, n. 3, p. 261-267, 2018.
- 82-PFEFFER, M et al. Specific Detection of Chikungunya Virus Using a RT-PCR/Nested PCR Combination. **Journal Of Veterinary Medicine Series B**, [S.L.], v. 49, n. 1, p. 49-54, fev. 2002. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1439-0450.2002.00535.x>
- 83-PINTO, M et al. Insights into the population structure and pan-genome of Haemophilus influenzae. **Infection, Genetics And Evolution**, [S.L.], v. 67, p. 126-135, jan. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meegid.2018.10.025>.
- 84- POLAGE, Christopher R.; COHEN, Stuart H.. State-of-the-Art Microbiologic Testing for Community-Acquired Meningitis and Encephalitis. **Journal Of Clinical Microbiology**, [S.L.], v. 54, n. 5, p. 1197-1202, maio 2016. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jcm.00289-16>.

- 85- A POLLAK, Thomas et al. The blood–brain barrier in psychosis. **The Lancet Psychiatry**, [S.L.], v. 5, n. 1, p. 79-92, jan. 2018. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s2215-0366\(17\)30293-6](http://dx.doi.org/10.1016/s2215-0366(17)30293-6).
- 86- POSNAKOGLOU, Lamprini; et al. Molecular Epidemiology of Enterovirus in Children with Central Nervous System Infections. **Viruses**, [S.L.], v. 13, n. 1, p. 100, 13 jan. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/v13010100>.
- 87- PUCCIONI-SOHLER, M.; PUCCIONI-SOHLER, M. Infecções virais do sistema nervoso central. **Diagnóstico de neuroinfecção com abordagem dos exames do líquido cefalorraquidiano e neuroimagem. 1st ed. Rio de Janeiro: Rubio**, p. 95-116, 2008.
- 88- RAMALHO, Emanuelle et al. Identification and Phylogenetic Characterization of Human Enteroviruses Isolated from Cases of Aseptic Meningitis in Brazil, 2013–2017. **Viruses**, [S.L.], v. 11, n. 8, p. 690, 29 jul. 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/v11080690>.
- 89- REINHOLD, Ak; RITTNER, HI. Barrier function in the peripheral and central nervous system—a review. **Pflügers Archiv - European Journal Of Physiology**, [S.L.], v. 469, n. 1, p. 123-134, 12 dez. 2016. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00424-016-1920-8>.
- 90- RICHTER, Jan; TRYFONOS, Christina; CHRISTODOULOU, Christina. Molecular epidemiology of enteroviruses in Cyprus 2008-2017. **PLoS One**, v. 14, n. 8, p. e0220938, 2019.
- 91- RIZZO, Caterina et al. West Nile Virus Infections in Children. **Pediatric Infectious Disease Journal**, [S.L.], v. 30, n. 1, p. 65-66, jan. 2011. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/inf.0b013e31820591dc>.
- 92- ROBERTSON, Faith C. et al. Epidemiology of central nervous system infectious diseases: a meta-analysis and systematic review with implications for neurosurgeons worldwide. **Journal of Neurosurgery**, v. 130, n. 4, p. 1107-1126, 2018.

- 93- ROUPHAEL, Nadine G.; STEPHENS, David S.. Neisseria meningitidis: biology, microbiology, and epidemiology. **Methods In Molecular Biology**, [S.L.], p. 1-20, 9 set. 2011. Humana Press. [http://dx.doi.org/10.1007/978-1-61779-346-2\\_1](http://dx.doi.org/10.1007/978-1-61779-346-2_1).
- 94- RUDOLPH, Henriette; SCHROTEN, Horst; TENENBAUM, Tobias. Enterovirus Infections of the Central Nervous System in Children. **Pediatric Infectious Disease Journal**, [S.L.], v. 35, n. 5, p. 567-569, maio 2016. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/inf.0000000000001090>.
- 95- SADARANGANI, Manish et al. Childhood meningitis in the conjugate vaccine era: a prospective cohort study. **Archives Of Disease In Childhood**, [S.L.], v. 100, n. 3, p. 292-294, 25 set. 2014. BMJ. <http://dx.doi.org/10.1136/archdischild-2014-306813>
- 96- SANTOS, Júlia do Carmo et al. Meningite na infância: uma análise das internações hospitalares no Brasil. **Rev. Cient. Esc. Estadual Saúde Pública de Goiás Cândido Santiago**, p. 7000030-7000030, 2021.
- 97- SARAIVA, Maria das Graças Gomes et al. Epidemiology of infectious meningitis in the State of Amazonas, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [S.L.], v. 48, n. 1, p. 79-86, jun. 2015. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0116-2014>.
- 98- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Biblioteca Virtual em Saúde do Ministério da Saúde [www.saude.gov.br/bvs](http://www.saude.gov.br/bvs) **Vigilância em Saúde no Brasil 2003|2019 Boletim Epidemiológico**. 2021. Disponível em: <[www.saude.gov.br/bvs](http://www.saude.gov.br/bvs)>. Acessado em 02 de março de 2022
- 99- SCHAAD, Urs B. et al. A comparison of ceftriaxone and cefuroxime for the treatment of bacterial meningitis in children. **New England Journal of medicine**, v. 322, n. 3, p. 141-147, 1990.
- 100- SCHMITT, Georg et al. The great barrier belief: the blood-brain barrier and considerations for juvenile toxicity studies. **Reproductive Toxicology**, [S.L.], v. 72, p. 129-135, set. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.reprotox.2017.06.043>

- 101- SEKEYOVÁ, Zuzana et al. Rickettsial infections of the central nervous system. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 13, n. 8, p. e0007469, 2019.
- 102- SHEN, Hongwei et al. The etiology of acute meningitis and encephalitis syndromes in a sentinel pediatric hospital, Shenzhen, China. **BMC Infectious Diseases**, v. 19, n. 1, p. 1-9, 2019.
- 103- SILVA, Luciete Almeida et al. Investigação da doença meningocócica no Amazonas, 2000 a 2015 Research of meningococcal disease in the Amazon, 2000 to 2015. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 4, n. 6, p. 28805-28820, 2021.
- 104- SINGHI, Pratibha. Central Nervous System Infections in Children: An Ongoing Challenge!. **The Indian Journal of Pediatrics**, v. 86, n. 1, p. 49-51, 2019.
- 105- SINGHI, Pratibha; GRIFFIN, Diane E.; NEWTON, Charles R. (Ed.). **Central nervous system infections in childhood**. London: Mac Keith Press, 2014.
- 106- SOUSA JR, Ivanildo Pedro de et al. Detection and characterization of a coxsackievirus B2 strain associated with acute meningoencephalitis, Brazil, 2018. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 54, 2020.
- 107- SOUSA, Ivanildo P et al. Viral and Prion Infections Associated with Central Nervous System Syndromes in Brazil. **Viruses**, [S.L.], v. 13, n. 7, p. 1370, 15 jul. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/v13071370>
- 108- SOMAND, David; MEURER, William. Central Nervous System Infections. **Emergency Medicine Clinics Of North America**, [S.L.], v. 27, n. 1, p. 89-100, fev. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.emc.2008.07.004>.
- 109- SONG, Ji Yeon et al. Cerebrospinal fluid non-pleocytosis in pediatric enteroviral meningitis: Large-scale review. **Pediatrics International**, v. 60, n. 9, p. 855-861, 2018.
- 110- SMUTS, Izelle; LAMB, Gregory V. Viral infections of the central nervous system. In: **Viral Infections in Children, Volume II**. Springer, Cham, p. 83-123, 2017.

- 111- SURESH, Sarika et al. Global epidemiology of nonpolio enteroviruses causing severe neurological complications: A systematic review and meta-analysis. **Reviews in medical virology**, v. 30, n. 1, p. e2082, 2020.
- 112- SWANSON II, Phillip A.; MCGAVERN, Dorian B. Viral diseases of the central nervous system. **Current opinion in virology**, v. 11, p. 44-54, 2015
- 113- SWARTZ, Morton N.; NATH, Avindra. Meningitis: bacterial, viral, and other. In: **Goldman's Cecil Medicine: Twenty Fourth Edition**. Elsevier Inc, p. 2355-2371. 2011.
- 114- SYROGIANNOPOULOS, George A.; MICHOUULA, Aspasia N.; GRIVEA, Ioanna N. Global Epidemiology of Vaccine-preventable Bacterial Meningitis. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, v. 41, n. 12, p. e525-e529, 2022.
- 115- THATRIMONTRICHAI, Anucha et al. Neonatal multidrug-resistant bacterial meningitis: a 29-year study from a tertiary hospital in thailand. **The Journal Of Infection In Developing Countries**, [S.L.], v. 15, n. 07, p. 1021-1026, 31 jul. 2021. Journal of Infection in Developing Countries. <http://dx.doi.org/10.3855/jidc.12808>
- 116- THOMAS, Mili et al. Clinical Profile and Outcome of Children with Acute Central Nervous System Infection in Kerala, India. **EMJ**, v. 5, n. 4, p. 96-104, 2020.
- 117- TROTTER, Caroline et al. Impact of MenAfriVac in nine countries of the African meningitis belt, 2010–15: an analysis of surveillance data. **The Lancet Infectious Diseases**, [S.L.], v. 17, n. 8, p. 867-872, ago. 2017. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099\(17\)30301-8](http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099(17)30301-8)
- 118- TUNKEL, Allan R. et al. Practice guidelines for the management of bacterial meningitis. **Clinical infectious diseases**, v. 39, n. 9, p. 1267-1284, 2004.
- 119- TURNER, Paul et al. The aetiologies of central nervous system infections in hospitalised Cambodian children. **BMC Infectious Diseases**, v. 17, n. 1, p. 1-9, 2017.

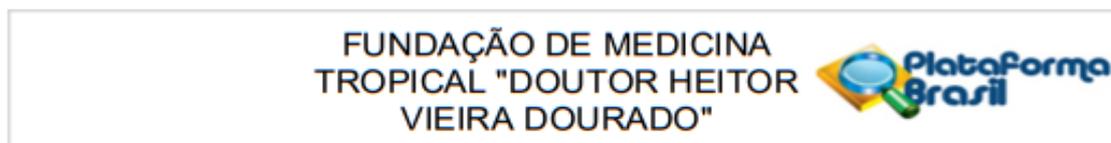
- 120- VAN TAN, Le; QUI, Phan Tu; HA, Do Quang; HUE, Nguyen Bach; BAO, Lam Quoi; VAN CAM, Bach; KHANH, Truong Huu; HIEN, Tran Tinh; CHAU, Nguyen van Vinh; TRAM, Tran Tan. Viral Etiology of Encephalitis in Children in Southern Vietnam: results of a one-year prospective descriptive study. **Plos Neglected Tropical Diseases**, [S.L.], v. 4, n. 10, p. 854, 26 out. 2010. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0000854>.
- 121- VETTER, P et al. Diagnostic challenges of central nervous system infection: extensive multiplex panels versus stepwise guided approach. **Clinical Microbiology And Infection**, [S.L.], v. 26, n. 6, p. 706-712, jun. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cmi.2019.12.013>.
- 122- WAHL, Brian et al. Burden of Streptococcus pneumoniae and Haemophilus influenzae type b disease in children in the era of conjugate vaccines: global, regional, and national estimates for 2000–15. **The Lancet Global Health**, v. 6, n. 7, p. e744-e757, 2018.
- 123- WALL, E. C. et al. Acute bacterial meningitis. **Current Opinion in Neurology** Lippincott Williams and Wilkins, 2021.
- 124- WANG, Li-Ping et al. Etiological and epidemiological features of acute meningitis or encephalitis in China: a nationwide active surveillance study. **The Lancet Regional Health - Western Pacific**, [S.L.], v. 20, p. 100361, mar. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lanwpc.2021.100361>.
- 125- WANG, Jing et al. Analysis of enterovirus genotypes in the cerebrospinal fluid of children associated with aseptic meningitis in Liaocheng, China, from 2018 to 2019. **BMC infectious diseases**, v. 21, n. 1, p. 1-9, 2021..
- 126- WATT, James P. et al. Burden of disease caused by Haemophilus influenzae type b in children younger than 5 years: global estimates. **The Lancet**, v. 374, n. 9693, p. 903-911, 2009.
- 127- WEISFELT, Martijn et al. Community-acquired bacterial meningitis in older people. **Journal of the American Geriatrics Society**, v. 54, n. 10, p. 1500-1507, 2006.

- 128- WIDENER, Rebecca W.; WHITLEY, Richard J. Herpes simplex virus. In: **Handbook of clinical neurology**. Elsevier, 2014. p. 251-263.
- 129- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Managing meningitis epidemics in Africa. A quick reference guide for health authorities and health professionals, 2015. Disponível em: <[https://www.who.int/csr/resources/publications/HSE\\_GAR\\_ERI\\_2010\\_4/en/](https://www.who.int/csr/resources/publications/HSE_GAR_ERI_2010_4/en/)>. Acessado em 25 de novembro 2022.
- 130- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Meningitis. Disponível em <[https://www.who.int/health-topics/meningitis#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/meningitis#tab=tab_1)> Acessado em 20 de abril de 2021.
- 131- WORMSER, G. P.; NATH, A. Central Nervous System Infections in Childhood. **Clinical Infectious Diseases** Oxford University Press, 15 out. 2015
- 132- WRIGHT, Ben LC, James TF Lai, and Alexandra J. Sinclair. "Cerebrospinal fluid and lumbar puncture: a practical review." **Journal of neurology** 259.8 (2012): 1530-1545.
- 133- XU, Jialu et al. Cytokine characteristic of cerebrospinal fluid from children with enteroviral meningitis compared to bacterial meningitis. **Journal of Clinical Laboratory Analysis**, v. 34, n. 5, p. e23198, 2020.
- 134- YILDIRIM, Inci; SHEA, Kimberly M.; PELTON, Stephen I. Pneumococcal Disease in the Era of Pneumococcal Conjugate Vaccine. **Infectious Disease Clinics Of North America**, [S.L.], v. 29, n. 4, p. 679-697, dez. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.idc.2015.07.009>.
- 135- ZHOU, Teng et al. Epidemiological Characteristics and Drug Resistance Analysis of Cerebrospinal Fluid Microbial Infections in Wenzhou Area. **Infection And Drug Resistance**, [S.L.], v. 14, p. 2091-2103, jun. 2021. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.2147/idr.s312175>.
- 136- ZUETER, AbdelRahman M.; ZAITER, Amani. Infectious meningitis. **Clinical Microbiology Newsletter**, v. 37, n. 6, p. 43-51, 2015.

137- ZUNT, Joseph Raymond et al. Global, regional, and national burden of meningitis, 1990–2016: a systematic analysis for the global burden of disease study 2016. **The Lancet Neurology**, [S.L.], v. 17, n. 12, p. 1061-1082, dez. 2018. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1474-4422\(18\)30387-9](http://dx.doi.org/10.1016/s1474-4422(18)30387-9).

## 10 ANEXO

### 10.1 Parecer do comitê de Ética em Pesquisa



#### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

##### DADOS DA EMENDA

**Título da Pesquisa:** Meningites Infecciosas: estudo descritivo do líquido cefalorraquidiano de pacientes com manifestação neurológica

**Pesquisador:** Michele de Souza Bastos Barrionuevo

**Área Temática:**

**Versão:** 4

**CAAE:** 12775119.5.0000.0005

**Instituição Proponente:** Diretoria de Ensino e Pesquisa - DENPE

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

##### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 4.400.759

##### Apresentação do Projeto:

Trata-se da emenda do estudo intitulado "Meningites Infecciosas: estudo descritivo do líquido cefalorraquidiano de pacientes com manifestação neurológica" da pesquisadora Michele de Souza Bastos Barrionuevo.

A pesquisadora informou, no projeto já aprovado por este CEP, que o estudo consideraria dados laboratoriais referentes ao ano de 2012 a 2018 agora ela vê a necessidade de incluir dados referentes ao ano de 2019 também. O objetivo é descrever as infecções do sistema nervoso diagnósticas no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2019.

##### Objetivo da Pesquisa:

**Objetivo Primário:**

Descrever o perfil líquórico dos casos de meningite com etiologia infecciosa em uma unidade de saúde de Manaus, no período de janeiro 2012 a dezembro 2019.

**Objetivo Secundário:**

Determinar a distribuição por faixa etária, gênero, análises bioquímicas e quimiocitológica do LCR nos casos com agente etiológico confirmado.

**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@fmt.am.gov.br

## 11 APÊNDICE

### 11.1 Apresentação das variáveis do banco de dados.

Variável	Descrição	Tipo	Classificação	Unidade
NºParticipante	Número individual e crescente de cada participante	Numérica		
Anoatend	Ano de atendimento do participante	Data		aaaa-mm-dd
MesInSint	Mês de início dos sintomas	Data		aaaa-mm-dd
UnidHosp	Qual unidade de atendimento	Catégorica	1 – FMT-HVD/AM 2 – HPSC- Infantis 3- Maternidades 4- Outros	
Idade	Idade cronológica	Numérica		anos
Grupo-Etária	Faixa de idade cronológica	Catégorica	1 -0.3 a ≤1 ano 2 – 1 a 4 anos 3 – 5 a 9 anos 4 – 10 a 15 anos 5 - 15 anos	
Gênero	Sexo biológico do indivíduo	Dicotômica	1-Feminino 2- Masculino	
Bairro	Bairro da cidade de Manaus, AM, no qual reside o participante (Procedência)	Catégorica		
ZonaGeog	Zona da cidade de Manaus, ou ainda de municípios do interior do Amazonas, na qual reside o participante do estudo	Catégorica	1 – Oeste 2 – Sul 3 – Norte 4 – Leste 5 – Centro-Oeste 6 – Centro-Sul 7 – Out município 9 – Zona Rural	
TempoDedoença	Data de início dos sintomas	Data		aaaa-mm-dd
periododossint	Diferença entre a data de atendimento e a data de início dos sintomas, i.e., tempo até o atendimento	Numérica		dias
TempoDdoença				
Cefaleia	Presença/relato de dor de cabeça	Dicotômica	Sim/Não	
Febre	Presença/relato de febre	Dicotômica	Sim / Não	° Celsius
Vômito	Presença/relato de dor vômito	Dicotômica	Sim / Não	
Rigidez de Nuca	Presença/relato de Rigidez de Nuca	Dicotômica	Sim / Não	

Alteração na consciência	Presença/relato	Dicotômica	Sim / Não	
Alteração de força	Presença/relato	Dicotômica	Sim / Não	
Alteração de humor	Presença/relato	Dicotômica	Sim / Não	
Convulsão	Presença/relato	Dicotômica	Sim / Não	
Citometria	Contagem absoluta de leucócitos	Numérica		cél/mm <sup>3</sup>
Citologia	Contagem de leucócitos PMN (%)	Numérica/Categórica		Cél/mm <sup>3</sup>
	Contagem de leucócitos MMN (%)			
Proteínas	Contagem absoluta	Numérica		mg/dl
Glicose	Contagem absoluta	Numérica		mg/dl
Lactato	Contagem absoluta	Numérica		mmol/l
GRAM			Ausente	%
ZIEH			Ausente	
Cultura Aeróbios				
Agglatex	Agglutinação latéx			%
IgM Denv	Percentual de linfócitos no diferencial do leucograma	Numérica		%
PCR HERPESVÍRUS	Inclui 5 vírus da família herpesvírus Citomegalovírus Epstein Barr vírus Herpes Simplex tipo 1 Herpes Simplex tipo 2 Varicela Zoster Vírus	Dicotômica	1 – Positivo	
			2 – Negativo	
PCR ENTEROVÍRUS		Dicotômica	1 – Positivo	
			2 - Negativo	
PCR ARBOVÍRUS	DENV ZIKAV CHICKV	Dicotômica	1 – Positivo	
			2 - Negativo	
PCR PARVOVÍRUS B19		Dicotômica	1 – Positivo	
			2 - Negativo	
Sorol_IgM_DENV	Resultado da pesquisa de anticorpos DENV-IgM	Dicotômica	1-Positivo 2- Negativo	
Sorol_IgM_ZIKA	Resultado da pesquisa de anticorpos DENV-IgG	Dicotômica	1-Positivo 2-Negativo	

## 11.2 Artigo

### **A profile of central nervous system infections in pediatric patients in the city of Manaus, Amazon (2014-2020)**

Eveny Perlize Melo Marinho<sup>1</sup>, Ewerton Ferreira da Silva<sup>1</sup>, Caio Cesar LB Barrionuevo<sup>1</sup>, Sabrina Araújo de Melo<sup>1</sup>, Sergio Damasceno Pinto<sup>3</sup>, Rossicleia Lins Monte<sup>3</sup>, Valderjane Aprício<sup>1</sup>, Lucia Alves da Rocha<sup>2</sup>, Luiz Carlos de Lima Ferreira<sup>1</sup>, Michele de Souza Bastos<sup>1,3</sup>

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

2- Hospital e Pronto Socorro da Criança Zona Oeste, SES, Manaus-AM, Brazil

3- Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado, Manaus-AM, Brazil

#### **Abstract**

**Background:** Central nervous system infections are important causes of mortality and morbidity in pediatric patients and are largely related to severe complications such as hearing loss, neurological sequelae, or death. Nonspecific clinical signs usually progress as meningitis, encephalitis, and meningoencephalitis develop. Several etiological agents can cause these infections, among which viruses and bacteria are especially notable. Since neurological infections are a significant concern in the pediatric population, and since there are still gaps in our understanding of pathological and epidemiological aspects in the infant age group, it is essential to deepen research in this area. **Objective:** The aim of this study was to evaluate the clinical and laboratory profile of pediatric patients diagnosed with central nervous system (CNS) infections in a reference laboratory in Manaus, Amazonas,

Brazil. **Methodology:** This is a cross-sectional, descriptive, and retrospective study that used cerebrospinal fluid samples from pediatric patients with clinical suspicion of central nervous system infection from a hospital network of childcare in Manaus city from 2014 to 2020. The CSF samples were subjected to microbiological, biochemical, and molecular investigation. The Research Ethics Committee approved this study. **Results:** 766 pediatric patients were considered eligible for the study, the predominant age group being 1 to 4 years and 56% were male. The clinical presentations included fever, vomiting, and a headache. The etiological agent was identified in 117 samples, with bacteria being the main agents, isolated in 72.6% of the cases. The most prevalent infections were *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* type b. Enterovirus, herpesvirus, and arboviruses were the most prevalent viral agents. **Conclusion:** The overall prevalence of central nervous system infections in the pediatric population of Manaus was 15.4%. 61.9% of the samples were immune-preventable pathogens, while 27.4% were viruses from different families. It is important to have an active laboratory surveillance with sensitive methods capable of identifying, characterizing, and monitoring mainly preventable agents, responsible for a wide range of severe neurological diseases.

**Keywords:** children, adolescents, neurological infections, diagnosis, Brazil.

## INTRODUCTION

The central nervous system is an important cause of illness and death in children, and it is related to many serious problems. Clinical signs are usually non-specific and progress as meningitis, encephalitis, and meningoencephalitis develop. Infections can be caused by several types of bacteria and viruses (1,2).

A recent study has demonstrated that developing countries have a higher incidence of central nervous system infections, ranging from 299 to 726 per 100,000

inhabitants. But in developed countries this rate is lower, often around 11 /100,000 inhabitants. Poverty, overcrowding in the public health system, insufficient Sanitation, geography region, age groups, and the ability of the mosquitoes to move efficiently are some of the significant factors that can influence the persistence and spread of infections (3).

It can be devastating for the children to be vulnerable to infections in the central nervous system. Early identification and treatment of children with signs and symptoms different from the norm may affect the course of the disease (4).

The epidemiology of central nervous system infections in pediatric patients is well documented in developed countries, but in regions with scarce resources, epidemiological and laboratory surveillance is limited. Many cases are going unnoticed; therefore, they remain underestimated (5). The identification of the etiological agent is essential for the appropriate treatment. The most widespread methods for the diagnosis of neurological cases are serological, microbiological, and molecular. Currently, the use of different techniques has contributed to a more accurate diagnosis (6,7).

Since there are gaps in the pathological and epidemiological aspects of neurological infections in children, this is a topic of growing interest. The purpose of this study is to describe the profile of central nervous system infections in pediatric patients. Thus, the active epidemiological and laboratory surveillance can contribute to the understanding of circulating agents and suggest the implementation of early diagnosis strategies.

## **METHODS**

### **STUDY DESIGN**

We conducted a descriptive observational study of medical records, which included pediatric patients aged from 3 months to 15 years, with a clinical suspicion of central nervous system infection between January 2014 and December 2020. Those who had one or more signs or symptoms of meningitis or encephalitis, such as neck stiffness, fever, rash, altered level of consciousness, flaccid generalized muscle weakness. The sample was forwarded for analysis in the Bacteriology laboratory of FMT-HVD, on spontaneous demand from this institution and other hospitals and maternity hospitals. We excluded patients who had undergone surgery, trauma, or had CSF collected from an external ventricular shunt (EVS) or ventricle-peritoneal shunt (VPS).

## **DATA COLLECTION AND PROCESSING**

Demographic, clinical, and epidemiological information was obtained from the electronic medical records. At the time, clinical data and laboratory tests were also administered. Depending on the patient's condition, CSF was usually collected before antimicrobial therapy.

## **DEFINITIONS**

According to medical history, clinical presentation, and CSF parameters, CNS infections were classified as follows:

*Meningitis* is an inflammation of the membranes covering the brain and spinal cord. It can be caused by bacteria, viruses, parasites, and noninfectious factors such as cancers, systemic lupus, medications, and others. (8). *Encephalitis* is an inflammation of the brain that most commonly affects the cerebral parenchymal. It can

be caused by a variety of Viruses. *Meningoencephalitis* is an inflammation of brain tissue. It can be caused by different agents, depending on the location. (10)

The case definitions were adopted according to the World Health Organization Meningitis Outbreak Control Guide. (11)

*Suspected case.* The cerebrospinal fluid was found to be clear and free of pus, with no identification of the pathogen by culture, PCR, and serology. For children over one-year-old, look for signs of fever, headache, vomiting, neck stiffness, signs of meningeal irritation, seizures, or red spots on the body. For children below the age of one, the classic symptoms mentioned above may not be as evident. But in the case of a diagnostic suspicion, it is important to consider signs of irritability, such as persistent crying, and to make sure that a fontanel is bulging.

*Probable cause:* purulent CSF with WBC >100 cell/ul and low glucose, high protein (80-500 mg/dL), and absence of pathogen identified by culture, Gram staining, PCR, or serology.

*Confirmed case.* Pathogen detected in the CSF by culture or PCR; positive serology in the CSF; or positive blood culture with purulent CSF; or purulent CSF and Gram-positive staining.

## **LABORATORY ANALYZE**

All cases were investigated through the collection of sterile samples from cerebrospinal fluid. According to laboratory standards, biochemical, cytological, and microbiological analyses of CSF were performed. Blood glucose, protein, and lactate levels were taken for biochemical analysis. The cytological analysis included a global and differential cell count and Gram method directed and microbiological culture.

## **MOLECULAR DIAGNOSIS**

For the viral panel, 200ul of CSF was extracted with the ReliaPrep™ (Promega) kit, following the manufacturer's instructions. Polymerase chain reaction (PCR) and reverse-transcriptase PCR (RT-PCR) were used to detect the following viruses: Herpes simplex virus 1 and 2 (HSV-1 and 2), varicella zoster virus (VZV), Epstein-barr virus (EBV), Cytomegalovirus (CMV), Enterovirus, dengue virus (DENV 1-4) and Parvovirus B-19 (PVB-19), following protocols described above. Each race contained tested CSF samples, a positive control, and a negative control (water). Furthermore, internal control was performed in all samples by amplification of  $\beta$ -actin and RNase P (RP), to confirm the presence of nucleic acid.

## **SEROLOGICAL DIAGNOSIS**

For serological diagnosis, the Immunoenzymatic ELISA IgM capture test (Mac-ELISA) was used to identify anti-Dengue and anti-Zika antibodies.

## **DATA ANALYSIS**

Data were tabulated in the Microsoft Excel program, and the following variables were included: age, gender, origin, diagnostic hypothesis, clinical signs, and symptoms and CSF profile from biochemical and cytological tests, culture, and molecular diagnosis. As part of the pre-analytical phase, variables were created to facilitate statistical analysis during the data collection phase. Table 1 below shows each variable created in the database, a summary of its understanding purpose, its type, and, if applicable, its unit of measure.

## **ETHICAL ASPECTS**

The project was approved by the Research Ethics Committee of the Tropical Medicine Foundation, under opinion number 4.400.75.

## RESULTS

During the study period, 2,821 CSF samples from pediatric patients with suspected central nervous system infection were evaluated. Of the cases, 2055 were removed for the following reasons: 1) insufficient CSF samples (n=63); 2) Non-infectious CSF (EVS, EPS, trauma) (n=102); and 3) children under 3 months of age without clinical information (n=875); 4) did not fit the case definitions (n=800). 766 samples were included in the analysis (**Figure 1**).

The study included 766 pediatric patients, 56% (431/766) of whom were male. The predominant age group was between 1 and 4 years, with 28% (219/766). The most common signs and symptoms were fever, nausea, and headache, which affected 26.8%, 19.5%, and 17.8% of patients, respectively. Regarding the hospital origin, 54% (417/766) came from Children's Emergency Hospitals in the city of Manaus, followed by 30% from FMT-HVD (**Table 1**).

The etiological agent was identified in 15.4% (117/766) of the samples, and bacteria were the main isolated agents (85/117) in 72.6% of the cases. The agents were identified using different methods, including culture of aerobic bacteria in 38.8% of the cases, detection of antibodies using latex agglutination in 35.2% of the cases, and 26% of the cases were identified only by the Gram method. 27.4% (32/117) of the samples were found to contain viral agents. Two cases showed coinfection between CMV+HSV-2 and EV+PVB-19 viruses.

In terms of sociodemographic characteristics, males and age groups from 10 to 15 years were predominant in the bacterial and viral infection groups. Of the 117 patients, 54 (47%) were from Manaus and 15 (13%) were from other municipalities in the state of Amazonas.

The most prevalent clinical manifestation was meningitis, observed in 47.8% of the cases. The most frequent signs and symptoms observed in this group were: fever (53%); vomiting (42.7%) and headache (33%). Furthermore, 32% of the patients had received prior antibiotic therapy, and ceftriaxone was the most used antibiotic. 42% of the cases were reminded of hospitalization during the period. Of the 117 patients, 32.4% (38) remained hospitalized for more than 72 hours and 16 patients (13.6%) were admitted to the Intensive Care Unit (ICU). There were three cases where death was reminded (**Table 2**).

Among bacterial infections, the pathogen was identified in 74.1% (63/85) of cerebrospinal fluid samples. Of these pathogens, 61.9% (39/63) are immune preventable, and they fall into three categories: *Neisseria meningitidis serogroup C*, which makes up 22.5% of cases and is most common in children aged 10 to 15; *Streptococcus pneumoniae*, which makes up 15.2% of cases and is most common in children aged 1 to 4; and *Haemophilus influenzae* type b, which makes up 8.2% of cases and is most common in children under 1 year.

In addition to that, 16.4% of *Staphylococcus sp. Enterobacteriaceae* represented 11.7% of the total bacterial population and was distributed among seven different species: three cases each of *Serratia* and *Klebsiella pneumoniae*, two cases of *Pseudomonas*, and one case each of *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, and *Acinetobacter*. (**Table 3**)

Different diagnostic methods detected viral agents in 27.4% (32/117) of the cases, including both molecular and serological methods. Twelve cases were caused by enterovirus, followed by eight cases caused by viruses from the *Herpesviridae* family, distributed in two cases each for *Herpes simplex type 2*, *Epstein Barr virus*, *Varicella zoster virus*, and *Cytomegalovirus*, and five cases of Parvovirus B19. Seven

samples were identified as being positive for dengue and Zika arboviruses by the Immunoenzymatic Assay (ELISA) of IgM capture. Four samples were identified as being positive for dengue virus and three samples were identified as being positive for Zika virus. There were two cases of coinfection between CMV and HSV-2, as well as between EV and PVB-19. (**Table 4**)

The cellular and biochemical parameters of the positive CSF samples for bacterial and viral infection were compared. An inflamed cerebrospinal fluid profile has been observed in bacterial infections, with high cellular counts (median 900 cell/mm<sup>3</sup>, range 10-2000), predominantly polymorphonuclear, high-protein levels (median 243 mg/dL), and reduced glucose levels (median 10 mg/dL). In viral infections, the cerebrospinal fluid profile was moderately altered, with a median cellular volume of 72.5 cells/mm<sup>3</sup>, predominantly lymphocyte (8-906), the median protein of 64.05 mg/dL, and glucose within the reference value 58 mg/dL. When comparing the bacterial and viral infection groups, we observed statistical significance among all parameters analyzed ( $p < 0.05$ ). (**Table 5**)

## **DISCUSSION**

Neurological infections are responsible for high rates of morbidity and mortality in the pediatric population. Therefore, they present a challenge for the world's health systems. These diseases are caused by viruses and bacteria, and in most cases, they can evolve into a serious disease with neurological sequelae and death observed. (12) This hospital-based study provides information on the main etiological agents causing central nervous system infections in pediatric patients hospitalized in Manaus, the capital of the state of Amazonas. Our data suggest that 15.4% (117/766) of agents

were detected in the cerebrospinal fluid, and that the most common bacterial pathogens causing meningitis were detected. In Manaus, *Neisseria meningitidis* serogroup C is the most common bacterial pathogen, followed by *Streptococcus pneumoniae*. The most common viral pathogens are Enterovirus and Herpesvirus.

We also observed that bacterial identification was possible only by the Gram method in 26% of cases, which can be attributed to the use of antibiotics before hospital admission. These findings highlight the usefulness of molecular diagnostic methods when used with classical laboratory methods such as Gram and culture to improve the identification of pathogens causing infection in the nervous system. Although the use of molecular diagnosis improved the detection of viral pathogens in this study, we observed a low percentage of detection, similar to that reported in other studies (13). This may be due to previous use of medication, elimination of the agent resulting without detectable nucleic acid, or infection by pathogens not included in the local diagnostic panel.

Studies have shown that male children are the most likely to be affected by neurological infections. In our study, 61.3% of the children were boys who were hospitalized in a Children's Emergency Unit in the city of Manaus and other municipalities. Our findings are consistent with the literature, which shows a higher prevalence of infection in boys, with 59.72% in Brazil and 70.96% in India (14,15).

Clinical signs and symptoms are characteristic of both bacterial and viral meningitis and may vary according to some factors such as age, immunity, type of pathogen and disease time (16). Among the cases of central nervous system infection described in our study, fever, vomiting, and headache were the most frequent symptoms in both bacterial and viral infections. It is found in the 10 to 15-year-old age group. Another study conducted in China also reported that the main symptoms

presented in children with MB compared to enterovirus meningitis were fever (100%), vomiting (31.2%) and convulsion (25%). Headache (88.9%) was more associated with viral infection (18).

The epidemiological profile of bacterial meningitis has changed in the past 25 years, thanks to the vaccine. In the 1980s, pathogens such as *Haemophilus influenzae type b*, *Neisseria meningitidis*, and *Streptococcus pneumoniae* were responsible for more than 80% of bacterial meningitis in children (19). However, in countries with low socioeconomic development, the disease remains an important cause of morbidity and mortality. The incidence varies according to geographic region, and it is higher in the pediatric population. This epidemiological scenario has two main factors: the lack of vaccination coverage or a critical state of host immunosuppression (20). In this study, 72.6% of central nervous system infections were of bacterial etiology. The most commonly isolated pathogens from CSF samples were *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, and *Haemophilus influenzae type b*. KUCHAR et al. found a prevalence of 83.7% of immuno-preventable bacterial infections in pediatric patients, with *Neisseria meningitidis* appearing in 32.6% and *Streptococcus pneumoniae* in 27.9% of cases (21). Additionally, a prospective study conducted in China also identified a high prevalence of bacterial pathogens in cases of meningitis syndromes and acute encephalitis in the pediatric population (22). In 2015, the prevalence of bacterial meningitis in Brazil was 35.6%, especially *Neisseria meningitidis* and *Streptococcus pneumoniae* as the main etiological agents (23).

Over the years, other bacteria have emerged as causes of bacterial meningitis, among which stand out *Enterobacteriaceae*, such as *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* (24). Currently, pathogens listed in the WHO priority microorganisms list because they can develop antimicrobial resistance (25). In our study, *Enterobacterales*

family bacteria were responsible for 11.7% of bacterial infections, mainly in the age group <1 year. Among these, we emphasize the species *Serratia sp.*, *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa*. Another hospital-based cohort study conducted in Thailand also identified cases of neonatal meningitis caused by *Acinetobacter Baumann*, *E. coli* and *K. pneumoniae* (26).

Antibiotic therapy administered in the first hours after suspicion of MB defines the success of treatment (27). The guidelines recommend the use of broad-spectrum cephalosporins until the causation agents and their susceptibility to antimicrobial are known (28). The main combination used in children with suspected MB is vancomycin associated with cefotaxime or ceftriaxone (29). In this study, 32% of the children had previously received antibiotic therapy, and ceftriaxone was the most frequently used drug. SCHAAD et al. (1990) evaluated 106 children hospitalized with bacterial meningitis and found that the response to treatment was similar in both groups. However, children who used cefuroxime had moderate to profound hearing loss when compared to those who used ceftriaxone (17% vs. 4%). Thus, the use of ceftriaxone is superior to cefuroxime in the treatment of MB (30).

Using molecular methods was an advance for the routine diagnosis of neurological infections, allowing to increase the number of pathogens identified in CSF. Among the main etiological agents related to central nervous system infections, the main etiological agents related to central nervous system infections are the Enteroviruses, followed by viruses of the family *Herpesviridae* (HSV-2, HSV-1, VZV, EBV and CMV) and Arbovirus: dengue (31). In our study, 27.4% of viral agents were found to be present in the cerebrospinal fluid. Enteroviruses, herpesviruses, and arboviruses were the most common. Our data are consistent with the current literature, as demonstrated in the epidemiological study of meningitis and encephalitis in the

pediatric population, where Enteroviruses and arboviruses were the most prevalent in the United States (32). Furthermore, a study of meningitis/encephalitis revealed that Enteroviruses (48.89%) and herpes simplex viruses (27.34%) were the most common detected viral pathogens in Chinese children <18 years of age (33).

Enteroviruses are responsible for the majority of cases of viral meningitis in the pediatric population, and they present a worldwide distribution in approximately 80 to 90% of cases (34,35). Climate is a factor that contributes to the high prevalence of these agents. In tropical and subtropical regions, the highest prevalence may occur in July, August, and other months of the year (36). In our study, Enteroviruses were the most common pathogens, accounting for 37.5% of cases. This confirms findings from other studies reporting high enterovirus rates (37,38, 39).

Viruses from the Herpesviridae family are strongly associated with acute encephalitis and to a lesser extent meningitis (42). Similar to that described by Imamba et al., the herpesviruses were detected in 8 (25%) of the CSF samples in the present study. IMAMBA et al. (2019) detected 26.4% of different herpesviruses, EBV, HHV-6, HHV-7, CMV and HSV-1, in CSF samples from pediatric patients admitted to a Zambian hospital. 43. Furthermore, a study conducted in Vietnam found that 1.3% of herpes simplex and Cytomegalovirus were present in CSF samples from children with CNS infections. In Brazil, 18.2% of cases were also detected by herpesvirus in the CNS of pediatric patients, with VZV, HSV and CMV being the most prevalent. (39)(44).

Arboviruses depend on geographic region and factors that favor the persistence and viral dissemination, such as climate change, deforestation, population migration, disorderly occupation, and precarious sanitary conditions (45). Brazil is considered to be endemic for the main arboviruses, Dengue, Zika, and Chikungunya, which are

important emerging pathogens causing febrile and neurological syndromes in the general population (46). In our study, arboviruses were identified in seven (21.9%) of the suspected cases of CNS viral infection, four cases of dengue virus, and three cases of Zika virus. Studies conducted in different regions of Brazil have shown variation in the prevalence of arboviruses in the CNS. A study conducted in Salvador, Brazil, with hospitalized patients suspected of viral meningitis, found that arboviruses' dengue, chikungunya, and zika were present in 70.3% of cases (47). Furthermore, a study conducted with patients hospitalized at the Children's Hospital in the city of Belo Horizonte, Brazil, identified 32% of DENV infection in children suspected of having a viral infection of the central nervous system during the dengue epidemic between 2014-15 (48). Two studies conducted in Manaus, the capital of Amazonas, evaluating patients suspected of having a viral infection in the nervous system also identified dengue in 8.2% and 4.3% of CSF samples, respectively. (49,50). In regions where arboviruses are endemic, such as the Amazon, laboratory surveillance for neurological infections is critical for monitoring and differential diagnosis for other encephalitogenic viruses.

The altered cerebrospinal fluid profile provides evidence of a bacterial infection in the presence of a pleocytosis with a predominance of neutrophils, low glucose levels, and high-protein levels (51). Infections differ greatly in their viral presentations, where mononuclear pleocytosis is observed, moderate elevations in proteins and normal glucose levels are seen, reflecting 60-80% of plasma glucose (52). Between the groups of bacterial and viral infections, we observed a statistically significant increase in the cellular and biochemical parameters of the CSF, indicating changes in cellularity, protein, glucose, and lactate. Similar to the study by Nazir et al. (2018) that demonstrated a more altered bacterial CSF profile than the viral and highlighted the

importance of the dosage of lactate in CSF as an important marker to differentiate bacterial infections from viral infections (53). Cerebrospinal fluid parameters are inexpensive and accessible, and therefore essential for the evaluation of bacterial and viral infections. Regions with minimal laboratory infrastructure and few resources, such as the Amazon region, often rely on field-testing. Having a marker such as lactate established has the potential to contribute to clinical management.

This study is limited by information on risk factors and selection bias. The analysis of the data based on the severity of the disease and the outcome for recovery or death was not possible due to the retrospective analysis of laboratory data and medical records. Furthermore, it was impossible to recover information on the vaccination status of children. Because the bacteriology laboratory of FMT-HVD analyzed samples sent by other services or the most critical cases, the total number of infections in the nervous system in the city of Manaus may have been underestimated.

In conclusion, the prevalence of nervous system infections in the pediatric population of Manaus was 15.4%. Even with the vaccination program, there is still circulation of immuno-preventable bacteria like *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, and *Haemophilus influenzae type b*. Furthermore, the most common viral agents were Enterovirus, Herpesvirus, and Arboviruses. Government programs and health institutions should be able to promote public police that can ensure financial, social, and human resources, as well as the diagnosis and prevention of infections in the nervous system.

## REFERENCES

1. BLAUW, Dirkje de; BRUNING, Andrea H.L.; BUSCH, C.B.E; KOLODZIEJ, Lisa M.; JANSEN, N.J.G.; VAN WOENSEL, J.B.M.; PAJKRT, Dasja. Epidemiology and Etiology of Severe Childhood Encephalitis in The Netherlands. **Pediatric Infectious**

- Disease Journal**, [S.L.], v. 39, n. 4, p. 267-272, abr. 2020. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/inf.0000000000002551>
2. SINGHI, Pratibha. Central Nervous System Infections in Children: An Ongoing Challenge! **The Indian Journal of Pediatrics**, v. 86, n. 1, p. 49-51, 2019
  3. ROBERTSON, Faith C. et al. Epidemiology of central nervous system infectious diseases: a meta-analysis and systematic review with implications for neurosurgeons worldwide. **Journal of Neurosurgery**, v. 130, n. 4, p. 1107-1126, 20184
  4. WORMSER, G. P.; NATH, A. Central Nervous System Infections in Childhood. **Clinical Infectious Diseases** Oxford University Press, 15 out. 2015
  5. SINGHI, Pratibha; GRIFFIN, Diane E.; NEWTON, Charles R. (Ed.). **Central nervous system infections in childhood**. London: Mac Keith Press, 2014.
  6. COSTERUS, Joost M; LEMMENS, Cynthia M C; BEEK, Diederik van de; BROUWER, Matthijs C. Cranial Imaging and Lumbar Puncture in Patients With Suspected Central Nervous System Infection. **Clinical Infectious Diseases**, [S.L.], v. 70, n. 12, p. 2469-2475, 22 ago. 2019. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/cid/ciz694>
  7. VETTER, P.; SCHIBLER, M.; HERRMANN, J.L.; BOUTOLLEAU, D. Diagnostic challenges of central nervous system infection: extensive multiplex panels versus stepwise guided approach. **Clinical Microbiology And Infection**, [S.L.], v. 26, n. 6, p. 706-712, jun. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cmi.2019.12.013>
  8. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Meningitis. 21 de jan. de 2020. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/meningitis/index.html>> Acessado em: 26 de dez. de 2021.
  9. STAHL JP, Mailles A, Dacheux L, Morand P. Epidemiology of viral encephalitis in 2011. Vol. 41, **Medecine et Maladies Infectieuses**. 2011. p. 453–64.

10. Paul KK, Sazzad HMS, Rahman M, et al. Vigilância hospitalar para encefalite japonesa em Bangladesh, 2007-2016: Implicações para a introdução da imunização. *Int J Infect Dis.* 2020; 99:69-74. DOI:10.1016/j.ijid.2020.07.026
11. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Managing meningitis epidemics in Africa. A quick reference guide for health authorities and health professionals, 2015. Disponível em: <[https://www.who.int/csr/resources/publications/HSE\\_GAR\\_ERI\\_2010\\_4/en/](https://www.who.int/csr/resources/publications/HSE_GAR_ERI_2010_4/en/)>. Acessado em 25 de novembro 2022.
12. ACOSTA, Jorge Humberto Davila; RANTES, Claudia Isabel Lazarte; ARBELAEZ, Andres; RESTREPO, Feliza; CASTILLO, Mauricio. Noncongenital Central Nervous System Infections in Children. **Topics In Magnetic Resonance Imaging**, [S.L.], v. 23, n. 3, p. 153-164, jun. 2014. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/rmr.0000000000000021>
13. TURNER, Paul et al. The aetiologies of central nervous system infections in hospitalised Cambodian children. **BMC Infectious Diseases**, v. 17, n. 1, p. 1-9, 2017.
14. THOMAS, Mili et al. Clinical Profile and Outcome of Children with Acute Central Nervous System Infection in Kerala, India. **EMJ**, v. 5, n. 4, p. 96-104, 2020.
15. SANTOS, Júlia do Carmo et al. Meningite na infância: uma análise das internações hospitalares no Brasil. **Rev. Cient. Esc. Estadual Saúde Pública de Goiás Cândido Santiago**, p. 7000030-7000030, 2021.
16. FIGUEREDO, Leonardo Patrick et al. Perfil da meningite na população pediátrica no estado de Minas Gerais, Brasil. **Scientia Plena**, v. 17, n. 9, 2021.
17. XU J, Jiang J, Zhang Y, Li W. Cytokine characteristic of cerebrospinal fluid from children with enteroviral meningitis compared to bacterial meningitis. **J Clin Lab Anal.** 2020;34(5):e23198. doi:10.1002/jcla.23198

18. SLACK MPE, Cripps AW, Grimwood K, Mackenzie GA, Ulanova M. Invasive Haemophilus influenzae Infections after 3 Decades of Hib Protein Conjugate Vaccine Use. **Clin Microbiol Rev.** 2021;34(3):e0002821. doi:10.1128/CMR.00028-21
19. SYROGIANNOPOULOS, George A.; MICHOULA, Aspasia N.; GRIVEA, Ioanna N. Global Epidemiology of Vaccine-preventable Bacterial Meningitis. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, v. 41, n. 12, p. e525-e529, 2022.
20. KUCHAR, Ernest; NITSCH-OSUCH, Aneta; RORAT, Marta; NAMANI, Sadia; PABIANEK, Dorota; TOPCZEWSKA-CABANEK, Agnieszka; ZYCINSKA, Katarzyna; WARDYN, Kazimierz; SZENBORN, Leszek. Etiology and Complications of Central Nervous System Infections in Children Treated in a Pediatric Intensive Care Unit in Poland. **Journal Of Child Neurology**, [S.L.], v. 29, n. 4, p. 483-486, 26 fev. 2013. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1177/0883073813477689>.
21. SHEN, Hongwei et al. "The etiology of acute meningitis and encephalitis syndromes in a sentinel pediatric hospital, Shenzhen, China." **BMC infectious diseases** vol. 19,1 560. 26 Jun. 2019, doi:10.1186/s12879-019-4162-5
22. GONÇALVES, Helena Caetano et al. Meningite no Brasil em 2015: o panorama da atualidade. **Arquivos Catarinenses de Medicina**, v. 47, n. 1, p. 34-46, 2018.
23. BENNINGER, Felix; STEINER, Israel. CSF in acute and chronic infectious diseases. **Cerebrospinal Fluid In Neurologic Disorders**, [S.L.], p. 187-206, 2018. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-804279-3.00012-5>
24. OMS publica lista de bactérias para as quais novos antibióticos são necessários com urgência. Organização Mundial da Saúde, 27 de fevereiro de 2017. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/noticias/27-2-2017-oms-publica-lista-bacterias-para-quais-se-necessitam-novos-antibioticos>. Acesso em 13 de outubro de 2022

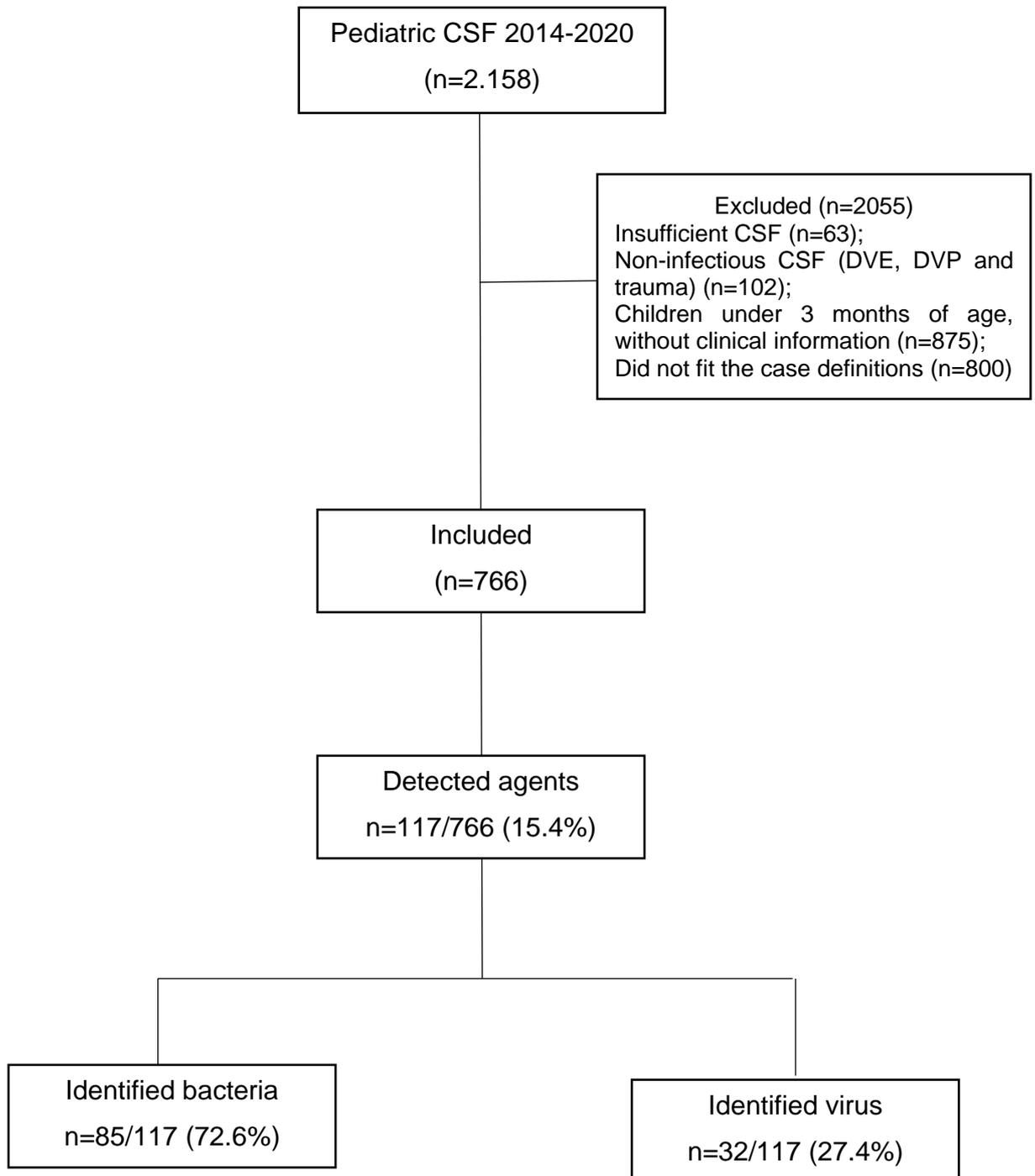
25. THATRIMONTRICHAJ, Anucha; JANJINDAMAI, Waricha; DISSANEEVATE, Supaporn; MANEENIL, Gunlawadee. Neonatal multidrug-resistant bacterial meningitis: a 29-year study from a tertiary hospital in thailand. **The Journal Of Infection In Developing Countries**, [S.L.], v. 15, n. 07, p. 1021-1026, 31 jul. 2021. Journal of Infection in Developing Countries. <http://dx.doi.org/10.3855/jidc.12808>.
26. ARONIN, Steven I. Community-Acquired Bacterial Meningitis: risk stratification for adverse clinical outcome and effect of antibiotic timing. **Annals Of Internal Medicine**, [S.L.], v. 129, n. 111, p. 862, 1 dez. 1998. American College of Physicians. [http://dx.doi.org/10.7326/0003-4819-129-11\\_part\\_1-199812010-00004](http://dx.doi.org/10.7326/0003-4819-129-11_part_1-199812010-00004).
27. TUNKEL, Allan R.; HARTMAN, Barry J.; KAPLAN, Sheldon L.; KAUFMAN, Bruce A.; ROOS, Karen L.; SCHELD, W. Michael; WHITLEY, Richard J.. Practice Guidelines for the Management of Bacterial Meningitis. **Clinical Infectious Diseases**, [S.L.], v. 39, n. 9, p. 1267-1284, 1 nov. 2004. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1086/425368>.
28. SWANSON II, Phillip A.; MCGAVERN, Dorian B. Viral diseases of the central nervous system. **Current opinion in virology**, v. 11, p. 44-54, 2015
29. SCHAAD, Urs B.; SUTER, Susanne; GIANELLA-BORRADORI, Athos; PFENNINGER, Juerg; AUCKENTHALER, Raymond; BERNATH, Otto; CHESEAUX, Jean-Jacques; WEDGWOOD, Joanna. A Comparison of Ceftriaxone and Cefuroxime for the Treatment of Bacterial Meningitis in Children. **New England Journal Of Medicine**, [S.L.], v. 322, n. 3, p. 141-147, 18 jan. 1990. Massachusetts Medical Society. <http://dx.doi.org/10.1056/nejm19900118322030>.
30. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Viral Meningitis. 15 jun de 2016. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/meningitis/viral.html>>. Acessado em: 15 de outubro de 2022

31. HASBUN, Rodrigo; WOOTTON, Susan H.; ROSENTHAL, Ning; BALADA-LLASAT, Joan Miquel; CHUNG, Jessica; DUFF, Steve; BOZZETTE, Samuel; ZIMMER, Louise; GINOCCHIO, Christine C.. Epidemiology of Meningitis and Encephalitis in Infants and Children in the United States, 2011–2014. **Pediatric Infectious Disease Journal**, [S.L.], v. 38, n. 1, p. 37-41, jan. 2019. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/inf.0000000000002081>
32. WANG, Li-Ping; YUAN, Yang; LIU, Ying-Le; LU, Qing-Bin; SHI, Lu-Sha; REN, Xiang; ZHOU, Shi-Xia; ZHANG, Hai-Yang; ZHANG, Xiao-Ai; WANG, Xin. Etiological and epidemiological features of acute meningitis or encephalitis in China: a nationwide active surveillance study. **The Lancet Regional Health - Western Pacific**, [S.L.], v. 20, p. 100361, mar. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lanwpc.2021.100361>.
33. ERICKSON, Timothy A.; MUNOZ, Flor M.; TROISI, Catherine L.; NOLAN, Melissa S.; HASBUN, Rodrigo; BROWN, Eric L.; MURRAY, Kristy O. The Epidemiology of Meningitis in Infants under 90 Days of Age in a Large Pediatric Hospital. **Microorganisms**, [S.L.], v. 9, n. 3, p. 526, 4 mar. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/microorganisms9030526>.
34. POSNAKOGLU, Lamprini; TATSI, Elizabeth-Barbara; CHATZICHRISTOU, Panagiota; SIAHANIDOU, Tania; KANAKA-GANTENBEIN, Christina; SYRIOPOULOU, Vasiliki; MICHOS, Athanasios. Molecular Epidemiology of Enterovirus in Children with Central Nervous System Infections. **Viruses**, [S.L.], v. 13, n. 1, p. 100, 13 jan. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/v13010100>.
35. B'Krong, N.T.T.C., Minh, N.N.Q., Qui, P.T. et al. Enterovirus serotypes in patients with central nervous system and respiratory infections in Viet Nam 1997–2010. **Virology** **15**, 69 (2018). <https://doi.org/10.1186/s12985-018-0980-0>

36. Ai, J., Xie, Z., Liu, G. et al. Etiology and prognosis of acute viral encephalitis and meningitis in Chinese children: a multicentre prospective study. **BMC Infect Dis** **17**, 494 (2017). <https://doi.org/10.1186/s12879-017-2572-9>
37. BRAUNOVA, Adriana; KRBKOVA, Lenka; RAINETOVA, Petra; MUSILEK, Martin; CAPOVOVA, Iva; KLAPACOVA, Lenka; MUSIL, Vaclav; HOMOLA, Lukas; KRAVALOVA, Tamara; BEDNAROVA, Jana. Clinical and laboratory characteristics of enteroviral meningitis in children, including qRT-PCR and sequencing analysis. **Biomedical Papers**, [S.L.], v. 163, n. 4, p. 355-361, 11 dez. 2019. Palacky University Olomouc. <http://dx.doi.org/10.5507/bp.2018.082>.
38. ABID, Fatma Ben; ABUKHATTAB, Mohammed; GHAZOUANI, Hafedh; KHALIL, Obada; GOHAR, Ahmed; SOUB, Hussam Al; MASLAMANI, Muna Al; KHAL, Abdullatif Al; MASALAMANI, Eman Al; DHAHRY, Said Al. Epidemiology and clinical outcomes of viral central nervous system infections. **International Journal Of Infectious Diseases**, [S.L.], v. 73, p. 85-90, ago. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2018.06.008>
39. KO, Y., Jeon, W., Chae, M.K. et al. Clinical characteristics of enteroviral meningitis without pleocytosis in children: a retrospective single center observational study in the Republic of Korea. **BMC Pediatr** **19**, 335 (2019). <https://doi.org/10.1186/s12887-019-1714-1>
40. SONG, Ji Yeon et al. Cerebrospinal fluid non-pleocytosis in pediatric enteroviral meningitis: Large-scale review. **Pediatrics International**, v. 60, n. 9, p. 855-861, 2018
41. DAHM, Tobias, et al. Neuroinvasion and Inflammation in Viral Central Nervous System Infections. **Mediators Of Inflammation**, [S.L.], v. 2016, p. 1-16, 2016. **Hindawi Limited**. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/8562805>.

42. IMAMBA, A. et al. Aetiology of encephalitis and meningitis in children aged 1-59 months admitted to the Children's Hospital, Lusaka, Zambia. **Medical Journal of Zambia**, v. 46, n. 2, p. 81-89, 2019.
43. VAN TAN, Le; QUI, Phan Tu; HA, Do Quang; HUE, Nguyen Bach; BAO, Lam Quoi; VAN CAM, Bach; KHANH, Truong Huu; HIEN, Tran Tinh; CHAU, Nguyen van Vinh; TRAM, Tran Tan. Viral Etiology of Encephalitis in Children in Southern Vietnam: results of a one-year prospective descriptive study. **Plos Neglected Tropical Diseases**, [S.L.], v. 4, n. 10, p. 854, 26 out. 2010. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0000854>.
44. OLIVEIRA, Danilo B. de; CANDIANI, Talitah M.; FRANCO-LUIZ, Ana Paula M.; ALMEIDA, Gabriel M.F.; ABRAHÃO, Jônatas S.; RIOS, Maria; COIMBRA, Roney S.; KROON, Erna G.. Etiological agents of viral meningitis in children from a dengue-endemic area, Southeast region of Brazil. **Journal Of The Neurological Sciences**, [S.L.], v. 375, p. 390-394, abr. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jns.2017.02.02>
45. LOPES, Nayara; NOZAWA, Carlos; LINHARES, Rosa Elisa Carvalho. Características gerais e epidemiologia dos arbovírus emergentes no Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 5, n. 3, p. 10-10, 2014.
46. Dias TT, Tauro LB, Macêdo LEN, Brito LO, Ribeiro VHO, Santos CS, et al. The emergence of arboviruses changes the profile of viral meningitis in Salvador, Bahia: A case series. **Frontiers in Tropical Diseases** [Internet]. 2022 Nov 2;3. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fitd.2022.1023588/full>
47. MARINHO, P.e.s.; KROON, E.G. Flaviviruses as agents of childhood central nervous system infections in Brazil. **New Microbes And New Infections**, [S.L.], v. 31, p. 100572, set. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nmni.2019.100572>.

48. BASTOS, Michele de Souza et al. Importance of cerebrospinal fluid investigation during dengue infection in Brazilian Amazonia Region. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz** vol. 114 e180450. 10 Dec. 2018, doi:10.1590/0074-02760180450
49. BASTOS, Michele S et al. Detection of Herpesvirus, Enterovirus, and Arbovirus infection in patients with suspected central nervous system viral infection in the Western Brazilian Amazon. **Journal Of Medical Virology**, [S.L.], v. 86, n. 9, p. 1522-1527, 24 abr. 2014. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jmv.23953>
50. MOUNT, Hillary R.; BOYLE, Sean D. Aseptic and bacterial meningitis: evaluation, treatment, and prevention. **American family physician**, v. 96, n. 5, p. 314-322, 2017.
51. BARTT, Russell. Acute bacterial and viral meningitis. **CONTINUUM: Lifelong Learning in Neurology**, v. 18, n. 6, p. 1255-1270, 2012 NAZIR, Mudasir; WANI, Wasim Ahmad; MALIK, Muzaffar Ahmad; MIR, Mohd Rafiq; ASHRAF, Younis; KAWOOSA, Khalid; ALI, Syed Wajid. Cerebrospinal fluid lactate: a differential biomarker for bacterial and viral meningitis in children. **Jornal de Pediatria**, [S.L.], v. 94, n. 1, p. 88-92, jan. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpeds.2017.03.007>.



**Figure 1:** Patient inclusion flowchart.

**Table 1:** Sociodemographic and clinical characteristics of 766 pediatric patients with suspected central nervous system infection diagnosed in a reference laboratory in Manaus, Brazil, from January 2014 to December 2020.

<b>Variables</b>	<b><i>phi</i></b>	<b>%</b>
<b>Sex</b>		
Male	431	56
Female	335	44
<b>Age group</b>		
< 1 year	145	19
1 to 4 years	219	28
5 to 9 years	196	26
10 to 15 years	206	27
<b>Signs and symptoms</b>		
Fever	205	26.8
Puke	150	19.5
Headache	137	17.8
Nape Stiffness	74	9.6
Convulsion	57	7.4
Change of consciousness	54	7
Irritability	8	1
Change in strength	8	1
<b>Total</b>	<b>766</b>	<b>100</b>

***phi***: simple absolute frequency; **%**: relative frequency

\*Subject to variation in absolute and relative frequencies due to the patient having more than one sign and symptoms

**Table 2:** Frequency of clinical manifestations, signs, symptoms, hospitalization, and outcome of the 117 pediatric patients with an identified etiological agent in cerebrospinal fluid at a reference laboratory in Manaus, Brazil, from January 2014 to December 2020.

<b>Variables</b>	<b><i>phi</i></b>	<b>(%)</b>
<b>Clinical Manifestations</b>		
Meningitis	56	47,8
Meningoencephalitis	12	10,2
Encephalitis	11	9,4
<b>Signs and symptoms*</b>		
Fever	62	53
Puke	50	42,7
Headache	39	33
Nape Stiffness	22	18,8
Change of consciousness	19	16,2
Convulsion	10	8,5
Irritability	4	3,4
Change in strength	2	1,7
<b>Prior treatment</b>		
Yes	38	32,4
S/I	79	67,6
<b>Length of stay</b>		
<24 hours	2	1,7
24-72 hours	3	2,6
> 72 hours	45	38,4
<b>ICU</b>	16	13,6
<b>Outcomes</b>		
No death	114	97,4
Death	3	2,6
<b>Total</b>	<b>117</b>	<b>100</b>

*phi*: simple absolute frequency; %: relative frequency

\* Subject to variation in absolute and relative frequencies due to the patient having more than one sign and symptoms

**Table 3:** Frequency of bacterial agents isolated in cerebrospinal fluid samples from pediatric patients at a reference laboratory in Manaus, Brazil, from January 2014 to December 2020

<b>Bacterial Agents</b>	<b><i>phi</i></b>	<b>%</b>
Gram Identification	22	26
<i>Neisseria meningitidis</i> serogroup C	19	22,5
<i>Staphylococcus</i> sp.	14	16,4
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	13	15,2
<i>Enterobacterales</i>	10	11,7
<i>Haemophilus influenzae</i> type b	7	8,2
<b>Total</b>	<b>85</b>	<b>100</b>

***phi***: simple absolute frequency; **%**: relative frequency.

**Table 4:** Frequency of viral agents identified in cerebrospinal fluid samples from pediatric patients at a reference laboratory in Manaus, Brazil, from January 2014 to December 2020.

<b>Viral agents</b>	<b><i>phi</i></b>	<b>%</b>
<i>Enterovirus</i>	12	37.5
<i>Herpes simplex type 2</i>	2	6.25
<i>Varicella zoster virus</i>	2	6.25
<i>Epstein Barr virus</i>	2	6.25
<i>Cytomegalovirus</i>	2	6.25
<i>Dengue fever</i>	4	12.5
<i>Zika virus</i>	3	9.4
<i>PVB-19</i>	5	15.6
<b>Total</b>	<b>32</b>	<b>100</b>

***phi***: simple absolute frequency; **%**: relative frequency

**Table 5:** Cellular and biochemical parameters of cerebrospinal fluid samples from pediatric patients with neurological infection diagnosed at a reference laboratory in Manaus, Brazil, from January 2014 to December 2020.

Biochemical parameters	Bacterial infection (Md)	Viral infection (Md)	<i>p</i>
Cytometry	900 (10-22000)	72,5 (0-9060)	<0.05
Glucose	10 (10-91)	58 (17-87)	<0.05
Proteins	243 (0-5379)	64,05 (10-84,5)	<0.05
Lactate	10,1 (0-9,2)	1,75 (0-4,7)	<0.05

**Md**=median