

**ANÁLISE LABORATORIAL DO LÍQUIDO CEFALORRAQUIDIANO NA
MENINGITE BACTERIANA AGUDA**

**CLINICAL LABORATORY ANALYSIS CEREBROSPINAL FLUID IN ACUTE
BACTERIAL MENINGITIS**

Juçara Noeli da Silva¹; Suely Mitoi YkkoUeda²

¹Graduada em Biomedicina - UNIP; Pós-Graduada em Microbiologia – Uniachieta.

²Orientadora; Docente do Curso de Pós-Graduação em Microbiologia – Uniachieta.

Autor responsável: Suely Mitoi Ykko Ueda - e-mail: suelyueda@hotmail.com

RESUMO

A meningite bacteriana é uma grave doença inflamatória das meninges, as membranas que recobrem e protegem o cérebro e a medula espinhal. A doença está relacionada a uma série de complicações que podem culminar em danos irreversíveis no sistema nervoso central, ou levar à morte. Acomete principalmente crianças durante a primeira infância, e os agentes etiológicos causadores mais comuns são: *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* e *Haemophilus influenzae*. Este trabalho tem com objetivo abordar os principais aspectos dos agentes causadores da meningite bacteriana com ênfase ao diagnóstico citotóxico e microbiológico do exame do líquido cefalorraquidiano, que é considerado o melhor elemento para a pesquisa diagnóstica para a realização de uma conduta terapêutica adequada dos indivíduos acometidos.

Palavras-chave: meningite bacteriana, líquido cefalorraquidiano, microbiologia

ABSTRACT

Bacterial meningitis is the most serious infection of the meninges, the membrane that covers and protects the brain and the spinal cord. The disease is related to a series of complications that could culminate with irreversible damage to the central nervous system, or lead to death. It affects mainly children during the first childhood. The most popular etiologic agents are: *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae*. The purpose of this assignment is to approach the main aspects of etiologic agents that cause bacterial meningitis, and to put emphasis on cytochemical and microbiological diagnosis of the cerebrospinal fluid exam results, considering the

most accurate element for research diagnosis in order to perform the best therapeutic approach to those individuals affected by the disease.

Keywords: bacterial meningitis, cerebrospinal liquid, microbiology

INTRODUÇÃO

As meningites bacterianas agudas (MBA) caracterizam-se por um processo inflamatório do espaço subaracnóideo e das membranas leptomeníngeas (aracnóide e pia-máter) que envolvem o encéfalo e a medula espinhal (Faria e Farhat, 1999). Constituem uma ameaça para milhões de pessoas em todo mundo, sobretudo nos países nos quais não foram adotadas medidas sistemáticas de prevenção (Anjos, 2004). Possui uma taxa de mortalidade elevada (de até 20%) e tem como agentes etiológicos mais comuns: *Haemophilus influenzae* tipo b (Hib), *Streptococcus pneumoniae* e *Neisseria meningitidis* (Rossi *et al.*, 2009).

A MBA é responsável por elevada morbidade e mortalidade em crianças, cerca de 5% a 40% das crianças no mundo ainda morrem em decorrência dessa patologia, na dependência, entre outros fatores, da idade do paciente e do patógeno envolvido. As sequelas neurológicas ocorrem em 5% a 30% dos sobreviventes, e devem-se principalmente ao retardo no estabelecimento do diagnóstico e no início do tratamento antimicrobiano eficaz (Mantese *et al.*, 2002).

Segundo o Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN, 2011), no Brasil, em 2011, foram confirmados 19.427 casos de meningites, desses, 17% (3.396) ocorreram em crianças menores de 2 anos de idade. Do total de casos, 37% foram registrados como etiologia bacteriana. Entre os casos de MB, 38% foram confirmados como doença meningocócica, 16% com meningite pneumocócica e 41% com meningites por outras bactérias. A África é o país com maior número de casos de doença meningocócica no mundo, principalmente na região conhecida como cinturão da meningite, que se estende do Sul do Saara até a linha do Equador. Entre o Gâmbia e o Oeste da Etiópia, a incidência da doença chega a atingir 0,5% a 1% da população (Bricks, 2002).

O líquido cefalorraquidiano (LCR) é um fluido biológico que está em íntima relação com o sistema nervoso central (SNC) e seus envoltórios (meninges). É um

líquido ultrafiltrado produzido pelos plexos coróides e está presente nos ventrículos cerebrais e no espaço subaracnóideo. Por isso, sua análise laboratorial é de grande importância para o diagnóstico e acompanhamento das doenças neurológicas (Dimas e Puccioni-Sohler, 2008), e constitui uma ferramenta eficaz para o diagnóstico de meningites porque permite determinar: a intensidade do processo inflamatório, o agente etiológico e os anticorpos específicos, os quais informam indiretamente a etiologia da infecção (Foccacia *et al.*, 2005), o que assegura a adoção de um tratamento adequado aos pacientes acometidos pela MBA (Bresolin *et al.*, 2005).

Devido à importância epidemiológica da MBA em nosso país, pela magnitude de sua ocorrência, potencial de transmissão e patogenicidade, este trabalho tem como objetivo revisar na literatura os principais agentes etiológicos da MBA, enfatizando os métodos de detecção dos mesmos através da análise laboratorial (citoquímica e microbiológica) do LCR por meio de suas alterações distintas.

Líquido Cefalorraquidiano (LCR): função, coleta e análise laboratorial

A principal função do LCR é a proteção mecânica que amortece o encéfalo e a medula espinhal contra choques e pressão (Dimas e Puccioni-Sohler, 2008). É considerado o melhor elemento para a pesquisa diagnóstica de meningite, pois participa ativamente na resolução do processo infeccioso, seja facilitando o transporte de elementos imunitários sanguíneos às meninges e ao SNC, seja veiculando antimicrobianos administrados terapêuticamente (Moreira *et al.*, 2008).

A coleta é realizada por punção antes do início de tratamento específico (Cabral *et al.*, 2008). Como o procedimento diagnóstico é invasivo, o exame de LCR só pode ser realizado após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), pelo paciente ou por seu representante legal, de acordo com a Resolução nº. 196 do Conselho Nacional de Saúde, de 10 de outubro de 1996 (Puccioni-Sohler *et al.*, 2002).

A punção pode ser via lombar, suboccipital ou ventricular. A punção lombar é feita dos espaços intervertebrais L3–L4–L5 ou L5–S1, por eles atingindo-se o espaço

subaracnóideo lombar (fundo de saco lombar). A punção suboccipital atinge a cisterna magna. Esta só deve ser feita por médicos devidamente treinados para a sua realização. A punção ventricular só é indicada quando há suspeita de processos que acometa o sistema ventricular, como nas ventriculites purulentas (Machado e Gomes, 2003).

Geralmente o LCR é coletado em três tubos estéreis. O primeiro tubo que recebe a primeira alíquota de líquido é utilizado para análises bioquímicas e sorológicas, o segundo em geral é usado para microbiologia, e o terceiro destina-se ao setor de hematologia e/ou citologia para ser feita a contagem celular, já que essa fração da amostra tem a menor probabilidade de conter células introduzidas acidentalmente pelo procedimento de punção espinhal (Strasinger, 2000).

Caso a amostra tenha sido coletada apenas em um único frasco, ela deve ser enviada, primeiramente, à seção de bacteriologia; em seguida, à seção de hematologia e, posteriormente, à seção de imunológica. Tal amostra deve ser transportada imediatamente ao laboratório, no máximo em 2 horas, pois após esse tempo, pode ocorrer degradação e/ou alterações morfológicas de hemácias, leucócitos e outros tipos celulares; diminuição da glicose; aumento de concentração das proteínas e de bactérias. A amostra nunca deve ser refrigerada durante o transporte, temperaturas muito baixas podem conduzir a lise celular pelo frio (Fonseca *et al.*, 2011; Comar *et al.*, 2009). Amostras coletadas com qualquer tipo de anticoagulante e sem identificação ou envelhecidas devem ser rejeitadas (Comar *et al.*, 2009).

Os parâmetros liquóricos normais variam de acordo com a faixa etária (Tabela 1) diferenças que devem ser lembradas ao serem analisadas no resultado do exame do líquido (Xavier *et al.*, 2002).

A aparência inicial do LCR, que é normalmente cristalino, pode fornecer informações diagnósticas importantes. A terminologia mais usada para descrevê-lo é: cristalino ou incolor, opaco ou turvo, leitoso, xantocrômico e sanguinolento ou eritrocômico (Strasinger, 2000).

Em condições patológicas, o LCR pode apresentar aspecto turvo devido ao aumento do número de células (>400 células/mm³) e/ou proliferação de bactérias ou fungos (Dimas e Puccioni-Sohler, 2008). A MBA é caracterizada pela presença de

pleocitose predominantemente neutrofílica (Marinho *et al.*, 1997). Quanto à cor, o LCR pode apresentar-se xantocrômico ou eritrocômico. 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 (Dimas e Puccioni-Sohler, 2008). Em recém-nascidos, principalmente prematuros, é comum observar-se xantocromia devida à imaturidade da função hepática (Strasinger, 2000).

Tabela 1: Valores normais do LCR do adulto e da criança, e época em que o LCR do RN atinge os padrões do adulto.

Parâmetro	RN	2 meses	3 meses	Adultos
Aspecto	Límpido, levemente turvo ou turvo.	Límpido	Límpido	Límpido
Cor	Incolor ou xantocrômico	Incolor	Incolor	Incolor
Número de leucócitos/mm ³	0 a 15	0 a 15	Até 4	Até 4
Eritrócitos/mm ³	0 a 625	Ausentes	Ausentes	Ausentes
Citologia Diferencial:				
Linfócitos	*20% ± 15%	Idem ao RN	Idem ao RN	*60% ± 20%
Monócitos	*70% ± 20%			*30% ± 15%
Neutrófilos	*4% ± 4%			*2% ± 4%
Proteína total (mg/dL)	33 a 119	13 a 35	13 a 35	13 a 35 >60 anos: *15 - 60
Glicose	42 a 78	42 a 78	50 a 80	*50 a 80

(mg/dL)				
Albumina (mg/dL)				*10 - 30
Ácido Láctico (mg/dL)				*9,0 - 26,0 mg/dl
Cloretos (mmol/L)				*115 - 130
LDH (U/L)				*0 - 25 LDH1 > LDH2 > LDH3 > LDH4 > LDH5
Glutamina (mg/dL)				*15 - 20

Fonte: Adaptado Xavier *et al.*, 2002/ *Kjeldsberg; Knight, 1992.

Os níveis de glicose no LCR correspondem a cerca de 2/3 da glicose sanguínea de jejum. A diminuição dos níveis da glicose no líquido (hipoglicorraquia) é um dado importante no diagnóstico das meningites bacteriana, tuberculosa e fúngica, nas quais encontramos geralmente valores baixos (Foccacia *et al.*, 2005), isso devido ao consumo de glicose pela bactéria e pela lesão neuronal (Neumann e Thompson, 1998).

Em relação aos níveis encontrados de proteínas no sangue, o teor de proteínas no líquido é pequeno (45mg/dL), e normalmente equivale a 1% do nível sanguíneo, sendo que 80% são provenientes do plasma. As proteínas no LCR podem estar elevadas (hiperproteínoorraquia) em diferentes patologias, como meningites (especialmente as bacterianas), doenças neurológicas, tumores entre outras. A elevação pode ser decorrente da alteração da permeabilidade da barreira hematoencefálica, da diminuição dos mecanismos de reabsorção e de uma obstrução mecânica do fluxo do LCR (Fonseca *et al.*, 2011). A concentração líquórica do cloreto é normalmente 1 a 2 vezes maior do que o valor sérico e está correlacionada à osmolaridade do meio extracelular e alterações do equilíbrio ácido-básico. Não possui valor diagnóstico, mas sua diminuição é marcante nos processos crônicos, particularmente na neurotuberculose. Caracteristicamente, a meningite tuberculosa apresenta como padrão quimiocitológico

do líquido: pleocitose discreta, proteínas elevadas persistentemente e redução das taxas de glicose e cloretos (Foccacia *et al.*, 2005).

A análise microbiológica do LCR tem a finalidade de identificar a etiologia da meningite (Strasinger, 2000), esse procedimento inclui a bacterioscopia pelo método de coloração de Gram, cultura e a realização de teste para detecção de antígeno (látex ou contra-imunoeletoforese) (Faria e Farhat, 1999). Para detecção de meningite bacteriana, a coloração de Gram possui uma sensibilidade de 60% a 90%, quando realizada por pessoal gabaritado, dependendo da quantidade e do tipo de organismos presentes. O limite de detecção é de aproximadamente 10^5 unidades de colônias em formação/mL (Fonseca *et al.*, 2011).

Os meios de cultura utilizados para semeadura do líquido 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 pesquisa de *Neisseria meningitidis* é o de Thayer Martin. Após crescimento bacteriano em meio de cultura específico, é realizada uma bacterioscopia pelo método de coloração de Gram, em que se verifica a morfologia bacteriana e a presença ou não de contaminação por outras bactérias. Em casos de contaminação, é feito um reisolamento, para posteriormente se proceder à identificação em cultura pura (Fonseca *et al.*, 2011).

A *Neisseria meningitidis* é um diplococo Gram-negativo com forma redonda ou reniforme, possui múltiplos sorogrupos causadores de doença invasiva: A, B, C, X, Y, Z, W135 e L. Os sorogrupos B e C são os responsáveis pela maioria dos casos de doença meningocócica, com maior prevalência, em geral, do sorogrupo B. O sorogrupo A tem sido associado às epidemias da doença (Faria e Farhat, 1999). Os meningococos crescem formando colônias convexas, transparentes, não pigmentadas, não hemolíticas e com diâmetro aproximado de 1-5 mm. As colônias podem assumir aparência mucóide, quando é formada grande quantidade de polissacarídeo capsular, substância integrante da cápsula bacteriana e responsável pelo sistema básico para a tipagem dos sorogrupos (Sotolongo, 1995; Rosenstein *et al.*, 2001).

O *Haemophilus influenzae* é um cocobacilo Gram-negativo pequeno e pleomórfico. Apresenta-se sob a forma capsular com seis tipos antigênicos distintos (a, b, c, d, e, f), e não capsular. As formas invasivas de doença, incluindo meningites, são

em geral determinadas por cepas capsulares do tipo b, enquanto as cepas não capsulares estão habitualmente envolvidas na etiologia de infecções respiratórias, como otite média, sinusite e bronquite (Faria e Farhat, 1999).

O *Streptococcus pneumoniae* é um diplococo Gram-positivo. Noventa sorotipos de pneumococo são identificados, sendo que alguns prevalecem em adultos e outros são mais prevalentes em crianças. No Brasil, Brandileone *et al.* (2003) analisaram 4.858 isolados invasivos de *Streptococcus pneumoniae* e os sorotipos mais frequentes foram 1, 3, 5, 6A, 6B, 9V, 14, 19F e 23F, sendo o sorotipo 14 o mais comum em crianças com meningites e pneumonia, porém menos frequente em adultos.

Os pneumococos apresentam formas ovais ou lanceoladas, dispostos aos pares ou em cadeias curtas, quando são capsulados, as colônias apresentam aspecto mucóide, são alfa hemolíticas, em resultado da degradação da hemoglobina pela pneumolisina produzida (Murray *et al.*, 2006; Instituto Adolfo Lutz, 2007).

CONCLUSÃO

De todas as doenças infecciosas, as meningites bacterianas são as mais relevantes para a saúde pública no Brasil, sendo considerada uma doença grave com uma taxa de mortalidade elevada em determinados grupos de faixas etárias, podendo ocasionar seqüelas para alguns indivíduos sobreviventes. Devido a essa relevância é necessário o conhecimento dos aspectos básicos desta doença como agentes etiológicos, patogenia e medidas de controle.

Atualmente, a vacinação tem se mostrado eficaz, apesar disso nota-se a sazonalidade e a mortalidade ainda elevada (Faria e Farhat, 1999; Bricks, 2002) o que esta intimamente relacionada a fatores sócio-econômicos, principalmente nas populações dos países em desenvolvimento e, ainda, ao crescente desenvolvimento da resistência bacteriana a antibióticos.

O diagnóstico precoce é um dos principais fatores que podem minimizar as consequências das meningites bacterianas e, o exame do LCR é o teste de laboratório

mais importante o qual contribui muito para esse fator, pois permite determinar a intensidade do processo inflamatório; agente etiológico; anticorpos específicos, os quais informam indiretamente a etiologia da infecção. Também, a correta identificação do agente causal possibilita a utilização do melhor antibiótico a ser empregado e isso é fundamental para se evitar associações desnecessárias ou o uso indiscriminado de antimicrobianos de largo espectro.

Assim, nesse trabalho abordamos todos estes aspectos colaborando com os profissionais da saúde na tentativa de mostrar que o exame detalhado do LCR é essencial para a investigação diagnóstica das meningites, o qual possibilita uma melhor conduta terapêutica dos indivíduos acometidos, podendo revelar o agente etiológico precocemente uma vez que o resultado da cultura do mesmo pode demorar alguns dias para ser concluído, e em muitas situações pode acarretar o óbito do paciente. Por isso, concluímos que o diagnóstico precoce seguido de imediato início da terapêutica são fundamentais para o bom prognóstico da doença diminuindo assim a letalidade da doença em nosso país.

REFERÊNCIAS

ANJOS LP ET AL. Prognóstico Audiológico tardio relacionado a meningite em lactentes. *Arq Neuropsiquiatria*, 62(3-A): 635-40, 2004.

BRANDILEONE MCC ET AL. Increase in numbers of β -lactam-resistant invasive *Streptococcus pneumoniae* in Brazil and the impact of conjugate vaccine coverage. *J Med Microbiol.*, 55:567-574, 2006.

BRESOLIN AU. Meningites Bacterianas Agudas e Abscessos Cerebrais Bacteriano. In: Diamant A, Cypel S. (ed) *Neurologia Infantil*, 4ª ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2005, 941-967 p.

BRICKS LF. Doenças meningocócicas – morbidade e epidemiologias últimos 20 anos: revisão. *Pediatria* (São Paulo), 24(3/4):122-31, 2002.

CABRAL DBC *ET AL*. Importância do exame do líquido de controle em meningite bacteriana como critério de alta. *Rev Soc Bras Med Trop*, 41(2):189-92, 2008.

COMAR SR, MACHADO NA, DOZZA TG, HAAS P. Análise citológica do líquido cefalorraquidiano. *Estud Biol*, 31(73/74/75):93-102, 2009.

DIMAS LF, PUCCIONI-SOHLER M. Exame do líquido cefalorraquidiano: influência da temperatura, tempo e preparo da amostra na estabilidade analítica. *J Bras Patol Med Lab*, 44(2): 97-106, 2008.

FARIA SM, FARHAT CK. Meningites bacterianas: diagnóstico e conduta. *J Pediatr (Rio J)*, 75(1): S546-56, 1999.

FOCCACIA R *ET AL*. Veronesi: Tratado de infectologia. 3ª ed. São Paulo: Atheneu, 2005. 1027–60p.

FONSECA FM *ET AL*. Diagnóstico laboratorial das meningites bacterianas. *R Ci Méd Biol Salvador*, 10(1): 77-81, 2011.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Manual técnico. Bacteriologia de *Streptococcus pneumoniae*. Setor de Bactérias Piogênicas e Toxigênicas. Seção de Bacteriologia, São Paulo, 2007. 6-7p.

KJELDSBERG C, KNIGHT J. Body Fluids: laboratory examination of cerebrospinal, seminal, serous & synovial fluids. 3ª ed. Chicago: American Society of Clinical Pathologists; 1992.

MACHADO LR, GOMES HR. Processos infecciosos do Sistema Nervoso. In: Nitri, R. *et al*. A neurologia que todo médico deve saber. 2ª ed. São Paulo: Atheneu, 2003, 205-34 p.

MANTESE OL *ET AL*. Perfil etiológico das meningites bacterianas em crianças. *J Pediatr (Rio J)*, 78(6): 467-74, 2002.

MARINHO SF *ET AL*. Meningite neutrofílica persistente em paciente com Síndrome de Imunodeficiência Adquirida. *Rev Soc Bras Med Trop*, 30(3): 241-245, 1997.

MOREIRA DA *ET AL*. Perfil dos casos de meningite bacteriana e viral na região do Alto Uruguai, RS. *RBAC*, 40(3): 233-36, 2008.

MURRAY PR, ROSENTHAL KS, PFALLER MA. *Microbiologia médica*. 5ª ed. Rio de Janeiro: Mosby Elsevier, 2006. 246-247, 359p.

NEUMANN MA, THOMPSON K D. Acute bacterial meningitis: prevention and treatment. *Clin Microbiol Newsletter*, 20: 181-184, 1998.

PUCCIONI-SOHLER M, MACHADO LR, CANUTO R, TAKAYANAGUI OM, ALMEIDA SM, LIVRAMENTO JA. Coleta do líquido cefalorraquidiano, termo de consentimento livre e esclarecido e aspectos éticos em pesquisa. *Arquivo de Neuropsiquiatria*, 60(3-A):681-4, 2002.

ROSENSTEIN NE *ET AL*. Medical progress: meningococcal disease. *The New England Journal of Medicine*, USA, 344(18):1378-88, 2001.

ROSSI PG *ET AL*. Incidence of bacterial meningitis (2001–2005) in Lazio, Italy: the results of a integrated surveillance system. *BMC Infect Dis*, 9 (13), 2009.

SINAN. Sistema de Informação de Agravos de Notificação. Situação da Doença Meningocócica no Brasil em 2011. Disponível em <http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/visualizar_texto.cfm?idtxt=37810> [2012 ago. 27].

SOTOLONGO FP. *Neisseria meningitidis*: aspectos teórico-prático sobre el diagnostico, classificacion y valoracion de la respuesta inmune. 4ª ed. Cuba: Finlay, 1995. 122p.

STRASINGER SK. Uroanálise e fluidos biológicos. 3ª ed. São Paulo: Premier; 2000, 131-141 p.

XAVIER CC, SIQUEIRA CM, GIANNETTI JG. Meningites Bacterianas na Infância. In: Fonseca, LF *et al.* Compêndio de Neurologia Infantil. Rio de Janeiro: Medsi, 2002. 407-16 p.