

## ESTUDO COMPARATIVO DE MÉTODOS DIAGNÓSTICOS DAS MENINGITES PURULENTAS

Carmo Elias Andrade MELLES (1), Maria Regina Novaes RAMIRES (2), José Manoel Paiva DINIZ (2), Maria das Graças Fernandes ADELINO (2), Augusto de Escragnoille TAUNAY (2) e Carlos Vinicius ROSSI (3)

### RESUMO

Apresentam-se os resultados de diferentes métodos de diagnósticos de laboratório em materiais de 580 crianças em idade de um mês a 12 anos, internadas no "Hospital Infantil Cândido Fontoura", com suspeita de doença meningocócica. O material estudado foi constituído por amostras de líquido purulento no qual foi feita bacterioscopia pela coloração de Gram, semeadura em meios de Mueller Hinton com penicilinase, em ágar-sangue e ágar-chocolate (base Mueller Hinton); imunoeletroforese cruzada em amostras de sangue e líquido, hemocultura e pesquisa de anticorpos pela hemaglutinação passiva. Dos 580 casos suspeitos 462 foram diagnosticados laboratorialmente, sendo que em 7 oportunidades foi identificado o *Streptococcus pneumoniae* e em 455 identificada a *Neisseria meningitidis* por um ou mais métodos empregados. Pelo exame comparativo dos métodos utilizados conclui-se que a reação da hemaglutinação passiva e a bacterioscopia constituíram os recursos fundamentais para o diagnóstico de 99,8% dos casos positivos para *N. meningitidis*.

### INTRODUÇÃO

Dentre as meningites purulentas, a meningocócica com frequência apresenta dificuldades no diagnóstico laboratorial no início da doença, o meningococo é encontrado com frequência no sangue e no líquido cefalorraquidiano, podendo ser facilmente visualizados diplococos Gram-negativos, pela bacterioscopia, principalmente quando o líquido é purulento.

A obtenção de culturas positivas, mesmo a partir de material rico em bactérias nem sempre é fácil, o que tem levado muitos Autores, como DUBOS<sup>1</sup>, a afirmar que em épocas epidêmicas, todo líquido purulento com exame bacteriológico negativo deve ser considerado como evidência presuntiva de infecção meningocócica até prova em contrário.

A presença no líquido de frações antigênicas do meningococo pode ser fácil e rapidamente demonstrada através de provas sorológicas. A especificidade desses métodos possibilita o diagnóstico daqueles casos não esclarecidos pelos métodos tradicionais, permitindo que o mesmo seja feito em material transportado de locais diferentes, e em condições nas quais o meningococo não sobrevive. Em geral, essas provas demonstram a presença de polissacarídeos capsulares e por isso são bastante específicas, permitindo identificar o grupo do meningococo responsável pela infecção<sup>2</sup>. A pesquisa de anticorpos específicos no sangue não é de valia para o diagnóstico imediato da doença, uma vez que os mesmos em geral, aparecem tardiamente. No entanto, para

(1) Faculdade de Medicina da USP e Instituto Adolfo Lutz (São Paulo) S. O. Brasil  
(2) Instituto Adolfo Lutz (São Paulo)  
(3) Hospital Infantil «Cândido Fontoura» (São Paulo)

fins epidemiológicos tem sido de enorme utilidade na confirmação de casos suspeitos de infecção meningocócica<sup>5</sup>.

Ao se caracterizar em 1972 a existência de uma epidemia de meningite meningocócica na cidade de São Paulo, chamou a atenção desde logo a baixa positividade dos exames de líquido cefalorraquidiano (LCR) realizados no Instituto Adolfo Lutz, solicitado pelo Hospital Emílio Ribas. Providências imediatas foram tomadas visando melhorar as condições de exame L.C.R. tais como semeadura imediata em meios apropriados à cultura e, a seguir, incubação em estufa a 37°C. Isso faz com que aumente a positividade dos exames, que era de 38% em 1971 e 45% em 1972 para 57% em 1973, muito longe ainda do que seria desejável<sup>7</sup>.

Numa tentativa de se padronizar métodos de exame a serem utilizados na rotina diagnóstica da doença meningocócica e, contando com a colaboração do Hospital Cândido Fontoura, foi aplicada uma tecnologia múltipla a fim de se avaliar o rendimento dos vários métodos numa rotina diagnóstica.

## MATERIAL E MÉTODOS

Em 580 crianças de idade variando de 1 mês a 12 anos internadas no Hospital Infantil Cândido Fontoura (São Paulo, S.P.) com suspeita clínica de doença meningocócica procederam-se aos seguintes exames no líquido e no sangue:

### 1 — HEMOCULTURA

Sangue colhido na hora do internamento em "Caldo Thiol" (Difco) sempre que possível num volume de 5 a 10 ml para 50 ou 100 ml de meio.

### 2 — EXAME BACTERIOLÓGICO DO LÍQUOR

a) Bacterioscopia feita de início pelo laboratório do Hospital Cândido Fontoura e repetida no Laboratório do Instituto Adolfo Lutz. A coloração usada foi o método de Gram, com centrifugação do líquido caso esta fosse limpo ou pouco turvo; b) Semeadura, no momento da colheita, de 4 a 5 gotas de líquido em ágar-sangue, ágar-chocolate (como base ágar Mueller-Hinton) e caldo Mueller-Hinton ao

qual se juntava 100.000 U. de penicilinase. Incubação de 24-48 horas a 35-37°C em atmosfera de CO<sub>2</sub> (método da vela), em ambiente saturado de umidade. Verificado o crescimento da bactéria procedia-se à sua identificação pelos métodos usuais, que no caso de meningococo foram: bacterioscopia pelo método de Gram, provas de oxidase, fermentação de açúcares (dextrose, maltose e levulose), aglutinação em lâmina com soros aglutinantes anti-meningococo grupo específico.

Foram considerados como *Neisseria meningitidis* os germes que se apresentaram sob forma de diplococos Gram-negativos, com prova de oxidase positiva, utilizando dextrose e maltose e aglutináveis por um dos soros específicos.

3 — Pesquisa de antígenos de meningococos no líquido e soro: Foi feita pela imunoeletroforese cruzada em celogel, segundo a técnica descrita por PALHARES & col.<sup>3</sup> com dois antíseros correspondentes as *N. meningitidis* dos grupos A e C.

4 — Pesquisa de anticorpos específicos no sangue: Exame de duas amostras, a primeira colhida no momento da internação e a segunda quando da alta do paciente. A técnica usada foi a descrita por TAKEDA & col.<sup>6</sup>, considerando-se positivas somente as reações em que houve pelo menos aumento de duas diluições entre os títulos de anticorpos observados na data da entrada e no momento da alta do paciente.

## RESULTADOS

Para um total de 580 casos, em 455 (78,3%) foi possível identificar o agente etiológico da doença meningocócica e em 7 casos (1,3%) de meningite purulenta, o *Streptococcus pneumoniae*. Todavia, em 118 casos (20,3%) não foi possível identificar o agente etiológico, confirmando, como foi dito de início, não ser fácil o diagnóstico de doença meningocócica mesmo quando existem recursos diagnósticos como foi o nosso caso.

Dos 455 casos diagnosticados pelo laboratório, analisando-se porcentual de positividade para cada método, os resultados foram os seguintes.

TABELA I

Resultados obtidos pelos diferentes métodos diagnósticos utilizados

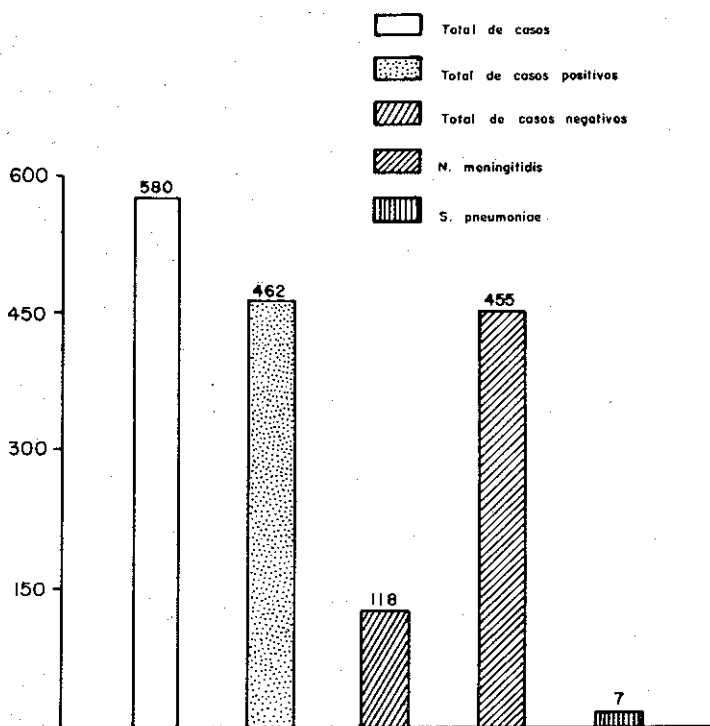
Métodos diagnósticos	Casos positivos	(%)
Hemaglutinação passiva	357	78,5
Bacterioscopia	316	69,5
Imunoelectroforese cruzada do líquor	129	28,4
Cultura em caldo-penicilinase	122	26,8
Cultura em meios sólidos	111	24,4
Hemocultura	56	12,3
Imunoelectroforese cruzada em soro	41	9,0

Através destes dados podemos observar uma vantagem do caldo-penicilinase sobre a cultura em meio sólido da ordem de 2,4%. Tal fato será objeto de investigações posteriores.

Com relação à hemocultura, nossos achados são muito inferiores àqueles citados na literatura, o que nos induz também a pesquisas posteriores, possivelmente usando meio de dupla fase, sólido-líquido.

De todos os métodos utilizados foi o da hemaglutinação passiva que nos deu o maior número de resultados positivos. Associando esse método à pesquisa de diplococos Gram-negativo no líquor, praticamente todos os casos de doença meningocócica são assim identificados, como podemos observar pela Tabela II.

Meningitides purulentas: Total de casos diagnosticados em 580 materiais encaminhados pelo Hospital Infantil Candido Fontoura

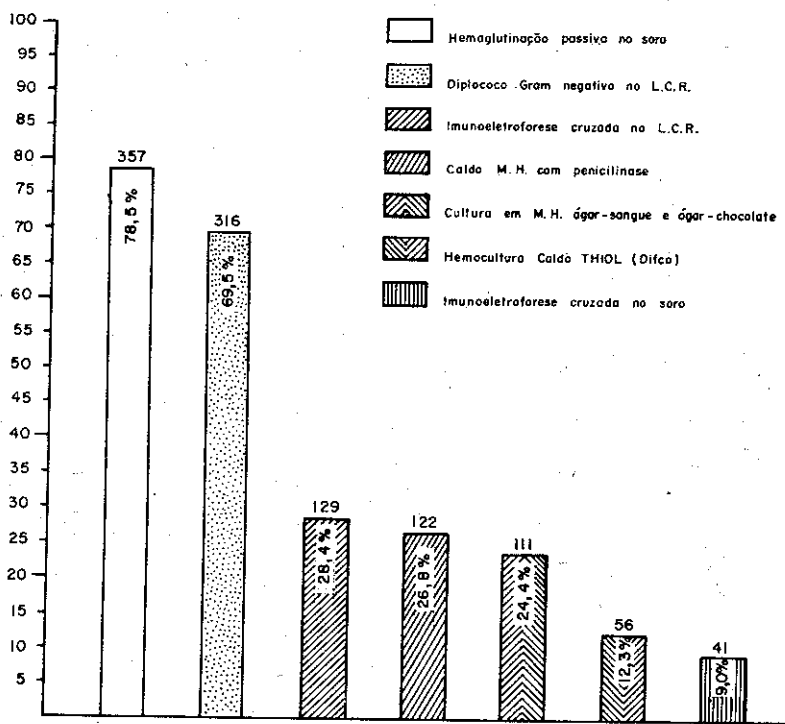


Positivos: 79,7 %

Indeterminados: 20,3 %

Doença meningocócica: Porcentual de positividade para os vários métodos utilizados.

Total de casos: 455



L.C.R. = Líquido céfalo raquidiano

M.H. = Meio de Müller Hinton

TABELA I

Porcentagem de positividade obtida pela associação de um ou mais métodos diagnósticos

Método diagnóstico	Positividade (%)
Hemaglutinação passiva	78,5
Bacterioscopia	69,5
Bacterioscopia + Hemaglutinação passiva	99,8
Bacterioscopia + cultura	73,3
Bacterioscopia + I.E.C. do LCR	71,3
Bacterioscopia + cultura + I.E.C. do LCR	73,7
Bacterioscopia + cultura + caldo-penicilinase	74,2
Hemaglutinação passiva + cultura	81,4
Hemaglutinação passiva + I.E.C. do LCR	81,4
Hemaglutinação passiva + caldo-penicilinase	82,4

DISCUSSÃO

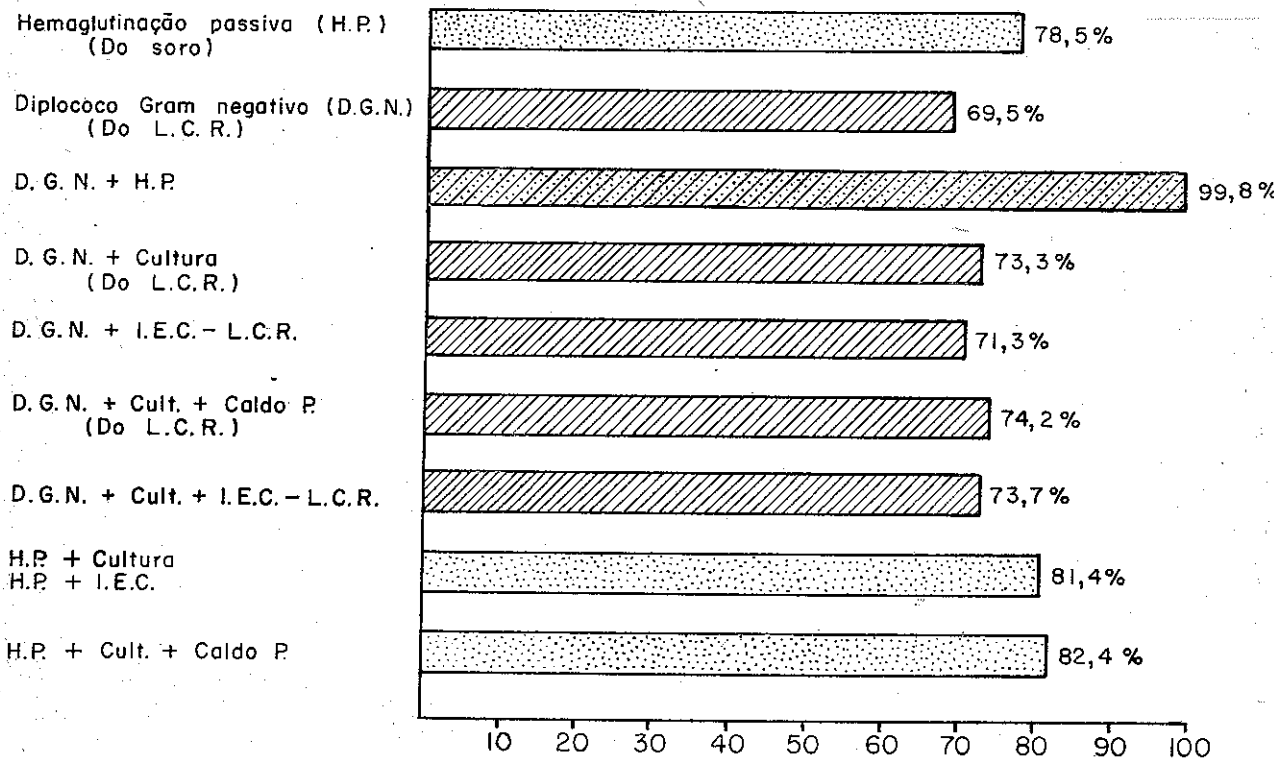
Conclui-se desta análise que qualquer laboratório de poucos recursos que tenha condições de fazer uma bacterioscopia do L.C.R., e de enviar as amostras de sangue necessárias para pesquisa de anticorpos hemaglutinantes a um laboratório de referência, forneceria dados valiosíssimos para o estudo epidemiológico da doença meningocócica, o que é da maior importância para o esclarecimento de surtos epidêmicos.

Os métodos bacteriológicos e a pesquisa de antígenos específicos no L.C.R., considerados isoladamente, esclareceram número re-

lativamente pequeno dos casos. Entretanto, é importante frisar que a bacterioscopia e a cultura do L.C.R. elucidaram 73,3% dos casos de infecção por *N. meningitidis*, ao passo que em verificação anterior esse resultado havia sido de 55%.

Pelo exame desses dados podemos concluir serem da maior importância os cuidados na manipulação inicial do L.C.R., associado a uma bacterioscopia pelo método de Gram e a pesquisa de anticorpos específicos para o sucesso do diagnóstico da doença meningocócica.

### Doença meningocócica: análise porcentual de associações de vários métodos diagnósticos empregados.



I.E.C. = Imunoelektroforese cruzada

Caldo P. = Müller Hinton líquido + Penicilinase

#### SUMMARY

##### Comparative study of diagnostic methods in purulent meningitidis

Spinal fluid was obtained from 580 children admitted to the "Hospital Infantil Cândido Fontoura" of São Paulo City, Brazil, under suspicion of meningococcal infection.

The patients age ranged from 1 month to 12 years. All specimens were examined by (i) Gram staining, (ii) inoculation of Mueller-Hinton broth with penicillinase, blood and chocolate agar with Mueller-Hinton base and (iii) counter immunoelectrophoresis. The later technique was also employed in the serum samples. Besides, blood culture and passive

hemagglutination test of the serum were also carried out.

Out of the 580 suspected cases, 462 were identified as being 455 due to *Neisseria meningitidis*; and 7 cases due to *Streptococcus pneumoniae*.

Passive hemagglutination and Gram staining of the spinal fluid sediment were proved to be adequate for the diagnosis of 99.8% of the cases positive for *Neisseria meningitidis*.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. DUBOS, R. J. & HIRSCH, J. G. — *Bacterial and Mycotic Infections of Man*. 4. ed. Philadelphia. Lippincott, 1965.
2. MAEGRAITH, B. G. — The rapid diagnosis of cerebrospinal fever. *Lancet* 1: 545-546, 1935.
3. PALHARES, M.; GELLI, D. S.; ALMEIDA, M. C. R.; MELLES, C. E. A.; TAKEDA, A. E. & TAUNAY, A. E. — Pesquisa de Polissacárido de *N. meningitidis* do grupo C no líquido cefalorraquidiano por imunoeletroforese cruzada em acetato de celulose. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 33: 85-89, 1973.
4. RAKE, G. — Studies on meningococcus infection the presence of meningococcus precipitinogens in the cerebrospinal fluid. *Exp. Med.* 58: 375-383, 1933.
5. SAUBORN, W. R. & VEDROS, N. A. — Possibilities of application of complement fixation, indirect hemagglutination and fluorescent antibody test epidemiology of meningococcal infection. *Health Lab. Sci.* 3: 111-117, 1966.
6. TAKEDA, A. K.; TAUNAY, A. E.; SCALABRINI, L. G. P. & CASTRO, I. O. — Anticorpos antipolissacarídeo C de *N. meningitidis*; detecção através da hemaglutinação passiva em soros de pacientes vacinados. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 34: 112-133, 1974.
7. TAUNAY, A. E.; PESSÓA, G. V. A.; GELLI, D. S.; MELLES, C. E. A.; TAKEUCHI, C. & BARBOSA, C. B. — Meningites bacterianas diagnosticadas no Instituto Adolfo Lutz no período de junho de 1971 a 20 de outubro de 1974. Trabalho apresentado no XI Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. Rio de Janeiro, 23 a 28 de fevereiro de 1975.

Recebido para publicação em 7/1/1977.