

Caso clínico de Microbiologia
Semana 11, aula prática de 19/05

Caso Clínico: Doente com febre, prostração e rigidez da nuca

Uma criança do sexo feminino com 6 anos de idade adoeceu subitamente com cefaleias, febre e vômitos. À observação apresentava febre (39,6°C), prostração acentuada (respondendo apenas a estímulos dolorosos) e rigidez da nuca. Foi feito o diagnóstico clínico de meningite aguda e colhida uma amostra de líquido cefalo-raquidiano para exame laboratorial. Este revelou a presença de 11.000 leucócitos/mm³ com 90% de neutrófilos, proteinorráquia de 1399 mg/dl (normal 14-45 mg/dl) e glicorráquia de 9 mg/dl (normal 40-80 mg/dl). No exame bacteriológico directo, corado de azul de metileno, observaram-se diplococos. Na história progressa há a salientar que a criança tinha uma infecção respiratória superior ligeira há 3 dias, para a qual não se fez qualquer tratamento.

**1- Como se fez correctamente a colheita de líquido cefalo-raquidiano?
(discutir a colheita e condicionamento do LCR para exame microbiológico)**

Deve-se desinfectar cuidadosamente a zona da punção com uma solução alcoólica de iodo.

A colheita é feita por punção lombar. Realiza-se entre L4 e L5 (desenha-se uma linha imaginária que une a o limite superior da crista ilíaca de cada lado e na linha média fazer a punção).

Deita-se 2 a 3 ml num tubo de centrifuga esterilizado. Não se deve nunca refrigerar a amostra.

Faz-se sempre 3 amostras- recolha de 3 colheitas feitas para 3 tubos diferentes, umas em seguida das outras.

Transporte- deve transportar-se o mais rapidamente possível para laboratório (situação de urgência)

**2- Quais os elementos obtidos no exame laboratorial de LCR que permitem fazer o diagnóstico de meningite bacteriana aguda?
(Observar e discutir a importância do LCR corado com azul de metileno e pelo método de Gram)**

A etiologia das meningites pode ser bacteriana, viral e fúngica. A fúngica ocorre principalmente em doentes imunocomprometidos (quer por transplantes, situações iatrogénicas de imunossupressão ou infecção por HIV- neste caso se ocorrer uma meningite é já num estadio muito avançado da doença)

- o aumento de leucócitos predominantemente neutrófilos (90%)
- o aspecto turvo do LCR
- no exame microscópico a presença de bactérias
- proteinorráquia > 100 mg/dl
- glicorráquia < 45 mg/dl

No quadro temos as características que ocorrem em cada etiologia

	Normal	Bactérias	Vírus	Fungos/TB
Aspecto	Límpido	Turvo	Límpido	Turvo
Leucócito/mm ³	0-5	1000-10000	50-100 linfócitos	100-1000
	--	neutrófilos		--
Glicose	40-80 mg/dl	↓↓↓	N	↓↓
Proteínas	14-45 mg/dl	↑↑↑	↑↑	↑↑↑
microscopia	negativo	bactérias	negativo	Fungos/BK

Para além do quadro há ainda a considerar as meningites que ocorrem (ou podem ocorrer) na tuberculose e na brucelose. O padrão de características que apresentam é misto em relação ao apresentado no quadro anterior, para além de não ser típico:

- o líquido pode ser límpido ou turvo
- habitualmente não tem muitos neutrófilos e até pode ter aumento dos linfócitos
- glicose pode estar normal ou só ligeiramente diminuída
- as proteínas também podem estar normais ou um pouco aumentadas
- na microscopia só se detecta se se tiver mesmo à procura destes agentes como causa

São situações complicadas e se ocorrerem já se sabe que teve de ser por via hematogénica.

Para além das características do quadro outros elementos contribuem para a confirmação da etiologia. O principal é a clínica que é muito diferente na bacteriana e na viral. Na bacteriana há todo o quadro característico de rigidez da nuca, confusão, febre, prostração, etc. Na viral pode ocorrer só a rigidez da nuca e mais nenhum sintoma ou sinal.

O exame directo do LCR corado é importante porque permite uma suspeita rápida acerca do microrganismo em causa, para se poder direccionar a antibioticoterapia.

A coloração Gram permite logo distinguir entre os agentes mais prováveis bacterianos:

- pela forma vemos se são diplococos ou não- se não forem o agente é *H. Influenzae*
- pela cor vemos se são Gram positivos ou negativos- se forem diplococos permite distinguir entre *S. pneumoniae* (Gram positivos) e *N. Meningitidis* (Gram negativos).

O azul de metileno é um corante básico que se usa nas colorações do SN e permite também distinguir todos os agentes, incluindo fungos, para além de corar mais rapidamente.

Isto porque a meningite é uma emergência médica e os resultados da cultura do LCR e do sangue demoram um dia. A serologia não é usada porque se trata de uma infecção aguda e não dá tempo para a formação de anticorpos detectáveis.

3- Teria interesse fazer-se hemoculturas a esta doente? Porque?

Normalmente quando se realiza colheita de LCR é aconselhável fazer simultaneamente colheitas de sangue para hemoculturas..

A maioria dos casos de meningite bacteriana tem origem por via hematogénia, por isso a infecção envolve os passos necessários:

- colonização nasofaríngea
- invasão das células do epitélio nasofaríngeo
- invasão da corrente sanguínea
- bacteriémia com sobrevivência intravascular
- passagem na barreira hemato-encefálica e entrada no LCR
- sobrevivência e replicação no espaço subaracnoideu

Dai que o interesse de fazer juntamente com uma punção lombar uma hemocultura seria dar-se o caso do exame do LCR não ser conclusivo, quanto ao microrganismo na origem da meningite (confirmar o resultado da análise ao LCR)

4-Quais os agentes etiológicos mais prováveis?

As agentes etiológicos possíveis da meningite adquirida na comunidade são:

Bacteriana: *Nisseria meningitidis*
Streptococcus pneumoniae
Streptococcus agalactiae
Haemophilus influenza
Listeria monocytogenes
Enterobacteriaceas
Staphylococcus aureus

No recém nascidos os agentes mais comuns bacterianos são

S. agalactiae, *L. Monocytogenes*, *E. coli*

Para bebês com mais de 3 meses, crianças e adultos os mais frequentes são:

Haemophilus influenza- não é frequente causar infecções em indivíduos com mais de 6 anos, excepto em situações que haja outros factores predisponentes como sinusite, epiglote, pneumonia, otite média, trauma craniano com saída de LCR, Diabetes Mellitus, alcoolismo, esplenectomia ou outros estados asplénicos e imunodeficiências.

Neisseria meningitidis (A, B e C)

Streptococcus pneumoniae- agente mais comum nos adultos

Víral: Enterovirus

Virus Scrapie

Cubavirus

LCV

Herpes virus 1 e 2

Outros

Fungica: *Cryptococcus* spp

Neste caso como dizem que se trata de um diplococcus seria *Neisseria meningitidis* ou *S.pneumonia*.

• Haemophilus influenza

Cocobacilos Gram negativos

Pequenos e pleomórficos. São anaeróbios facultativos, fermentadores, não móveis, não esporulados. São parasitas obrigatórios presentes nas membranas mucosas de humanos e certas espécies de animais. Podem ser capsulados ou não.

Na cultura são usados os meios de agar de chocolate e agar de Levinthal, são meios suplementados com factores necessários ao crescimento do microrganismo-factor V (NAD) e factor X (hematina). O crescimento em meio anaeróbio é mais rápido porque neste ambiente o *Haemophilus* não necessita do factor X. As colónias aparecem após 24h de incubação, lisas, opacas e com 1-2 mm de diâmetro. Também podem crescer como “satélites” de colónias de *S. aureus*, mas as colónias são menores.

Haemophilus influenza identifica-se pela necessidade de factor V e X para crescimento, por ser catalase positivo, e por fermentar apenas glucose

• Streptococcus pneumoniae

Cocos Gram +

ovais ou lanceados, arranjados aos pares ou em cadeias pequenas

Colónias das estirpes capsuladas são grandes e redondas, as das estirpes não capsuladas são pequenas e achatadas; parecem alfa hemolíticas se crescerem aerobicamente ou beta hemolíticas se crescerem

anaerobicamente. Crescem em meios enriquecidos suplementado com sangue, mas cresce pouco em meios com grande concentração de glucose. Para a cultura é usado gelose de sangue

Identificação: sofrem lise quando expostas à biliar (teste solubilidade biliar)

Teste de susceptibilidade a optoquina

- Neisseria meningitidis

Diplococos Gram negativo; oxidase e catalase +, com exigências nutritivas para crescer em meios de cultura Oxidam glucose e maltose com formação de ácidos.

As colónias em agar de chocolate são transparentes, não pigmentadas e o crescimento é otimizado com uma atmosfera de 5% de CO₂. Para a cultura são necessários meios enriquecidos, mas o microrganismo morre rapidamente quando exposto a condições frias ou quentes.

Os testes para a detecção de antígenos meningococais são insensíveis e não específicos.

6- Quais os principais factores de virulência dos microrganismos?

Haemophilus influenzae:

- Adesinas pili e não-pili
- lipopolissacarídeo e glicopeptídeos de baixo peso molecular (alteram a função ciliar levando a danos do epitélio respiratório)
- capsula polissacarídica, antifagocitária composta por polirritol fosfato (PRP)

Streptococcus pneumoniae

- proteínas adesinas de superfície
- protease Ig A secretada
- pneumolisina
- ácido teicoico
- fragmentos de peptidoglicano
- peróxido de hidrogénio
- fosforilcolina
- capsula

Neisseria meningitidis

- pili
- capsula antifagocítica
- lipopolissacarídeo (LOS)-efeitos tóxicos

Meningococos entra nas células por um processo de endocitose e segue a via transcelular. O Haemophilus influenzae cria separações entre as junções apicais das células epiteliais e invade por via intercelular.

7- Como podem ser evitadas estas infecções?

Haemophilus influenzae

Profilaxia realiza-se com rifampicina e vacina (contra serotipo b) em crianças em alto risco com mais de 6 meses.

Streptococcus pneumoniae

Profilaxia: Imunização com a vacina 23 valente ou com a mais recente ainda em estudo (7 valente)- mais imunogénica.

Tratamento eficiente de otites médias e infeções respiratórias.

Nisseria meningitidis

Profilaxia: necessário identificar o estado portador

A penicilina não é eficaz a eliminar o estado de portador

A minociclina e rifampicina eram usadas-mas a minociclina é toxica e aumentam as resistências à rifampicina.

Actualmente usam-se as sulfonamida- mas tem muitas resistências- e a rifampicina para contactos próximos durante 2-3 dias e para eliminar o estado de portador.

Vacina polissacarídea (pouca protecção contra grupo B)

Para qualquer um deles considera-se contacto em risco ter estado mais de 7 horas com o doente ou portador num sítio fechado (exclui os colegas de infantário mas inclui a família).

8- A infecção respiratória superior poderá ter tido alguma contribuição para o desenvolvimento da meningite? Porque?

Porque a bactéria que terá causado a infecção respiratória, que não foi tratada, muito provavelmente poderá ter sido a mesma a causar a meningite. Da faringe ganhou acesso até às meninges causando uma meningite. Outra hipótese é a infecção respiratória superior ter sido de etiologia viral e ter deixado a criança num estado geral de vulnerabilidade a infeções possibilitando a infecção meníngea bacteriana

9- Que outras doenças são frequentemente causadas pelas bactérias mais frequentes nesta situação clínica?

Haemophilus influenzae

- meningite
- epiglote
- celulite
- artrite
- otite, sinusite, e infeções respiratórias baixas
- conjuntivite
- febre purpura brasileira

Streptococcus pneumoniae

- pneumonia
- sinusite e otite media
- meningite
- bacteriemia

Nisseria meningitidis

- meningite
- meningococcemia
- pneumonia
- artrite
- uretrite

**10- Como se deve fazer o tratamento correcto das infecções referidas?
(discutir antibióticos mais indicados e alternativas em caso de resistência ou alergia)**

Actual tratamento empirico de meningite:

Cefalosporinas de 3ª geração-cefafoxima, ceftriaxona

Resistências à ampicilina (H. Influenza), penicilina (S. pneumoniae)

Depois da análise laboratorial e identificação do agente e suas susceptibilidades

H. Influenza: co-trimoxazol

Amoxicilina+ac. Clavulanico

Cefuroxima

Ceftriaxone ou cefotaxime

Tratamento por 10 dias

S. pneumoniae: sensível a penicilina: penicilina

Resistência intermédia a penicilina: cefotaxime ou ceftriaxone

Resistente a penicilina: vancomicina+ rifampicina ou ceftriaxone ou cefotaxime

Tratamento por 2-3 semanas (10 dias)

N. meningitidis: penicilina G ou cloranfenicol e rifampicina (para estado de portador)

Tratamento por 10-14 dias

Inês Cristina Gonçalves

Maria Inês Mascarenhas