

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DAS MENINGITES BACTERIANAS

Bioquímica: Rita de Cássia Campos Bertoncini

Seção de Bacteriologia do LACEN/SC

PRINCIPAIS EXAMES

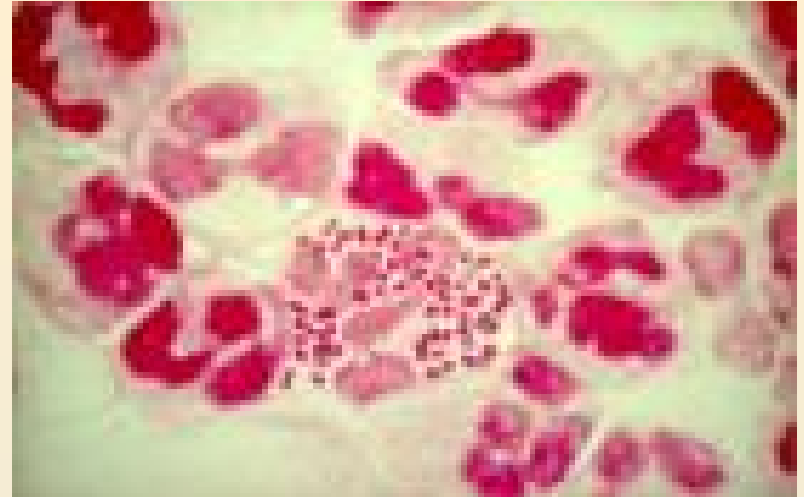
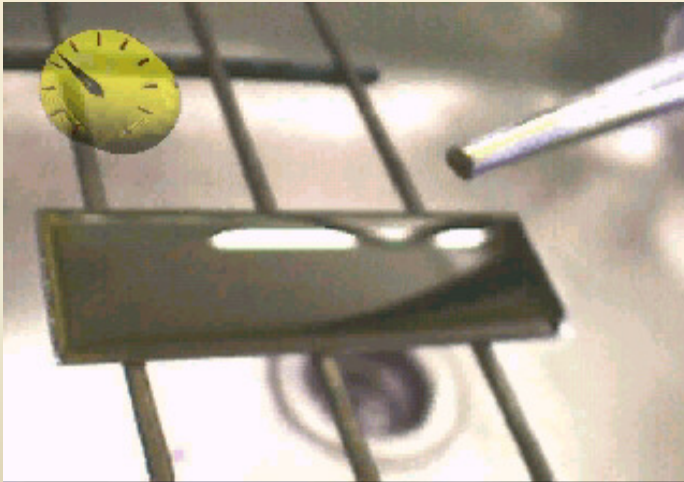
1	Exame físico do LCR Aspecto Cor
2	Exame citomorfológico do LCR Contagem de Células Hemácias
3	Exames bioquímicos
3.1	Determinação da glicose no líquido e sangue
3.2	Determinação de proteína total no líquido
3.3	Determinação de lactato no líquido

PRINCIPAIS EXAMES

4	Bacterioscopia (Gram)
5	Cultura do Líquor – padrão-ouro
6	Hemocultura
7	Contra imunoeletroforese
8	Aglutinação pelo Látex (imunológica) A sensibilidade do método é variável: <i>S. pneumoniae</i> : 65 a 71% <i>H. influenzae</i> : 88 a 95% <i>S. agalactiae</i> : 97% <i>N. meningitides</i> : 64% com especificidade de 98%

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

- **GRAM:** Pode revelar a etiologia (bacteriana ou fúngica)



DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

GRAM

A positividade

- varia conforme agente etiológico:

90% p/ *S. pneumoniae*

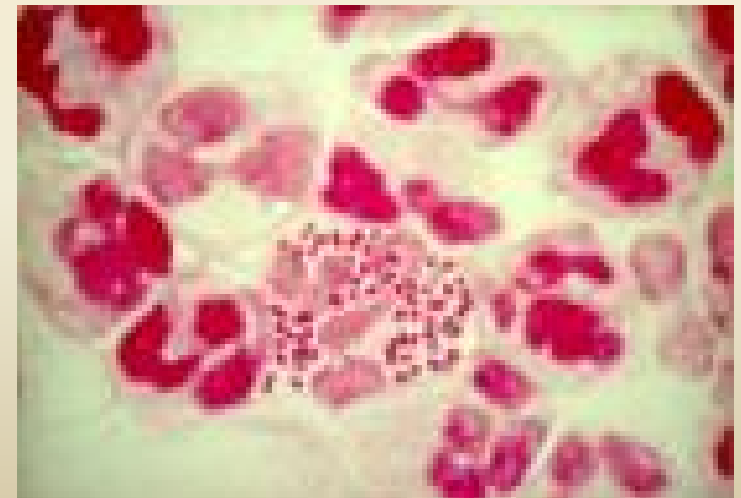
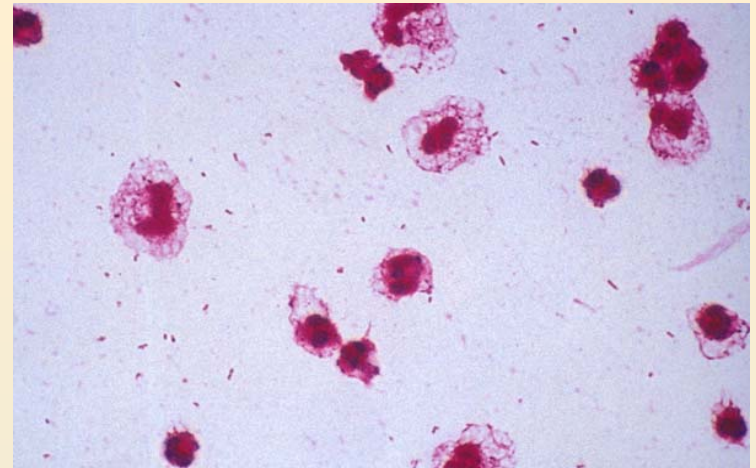
86% p/ *H. influenzae b*

75% p/ *N. meningitidis*

- depende da concentração bacteriana:

- 25% - concentração for 10^3 UFC ou menos

- 97% - concentração for igual ou superior a 10^5 UFC

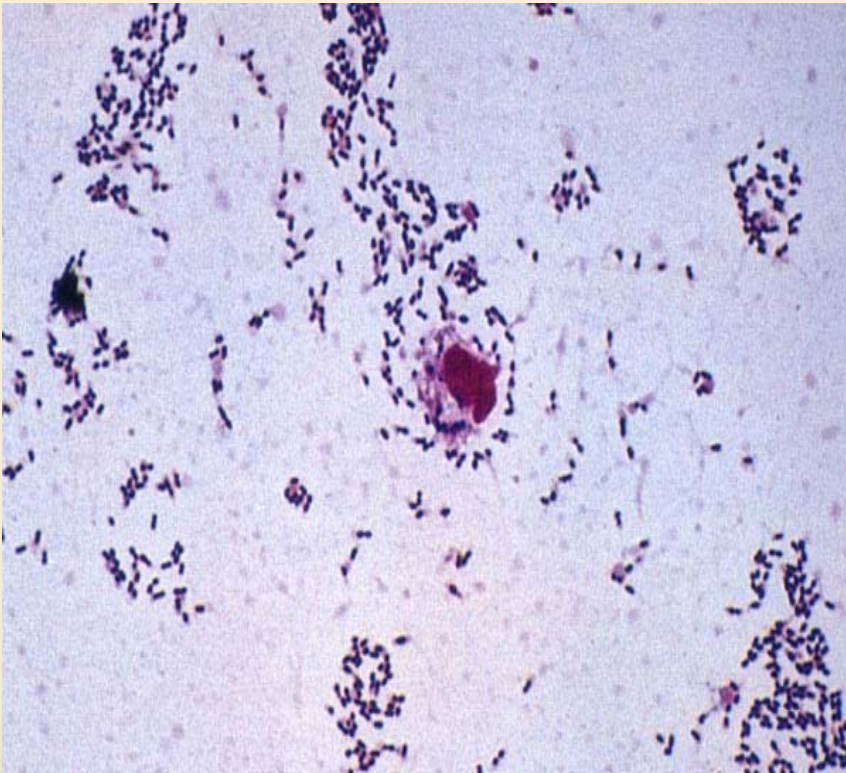


DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

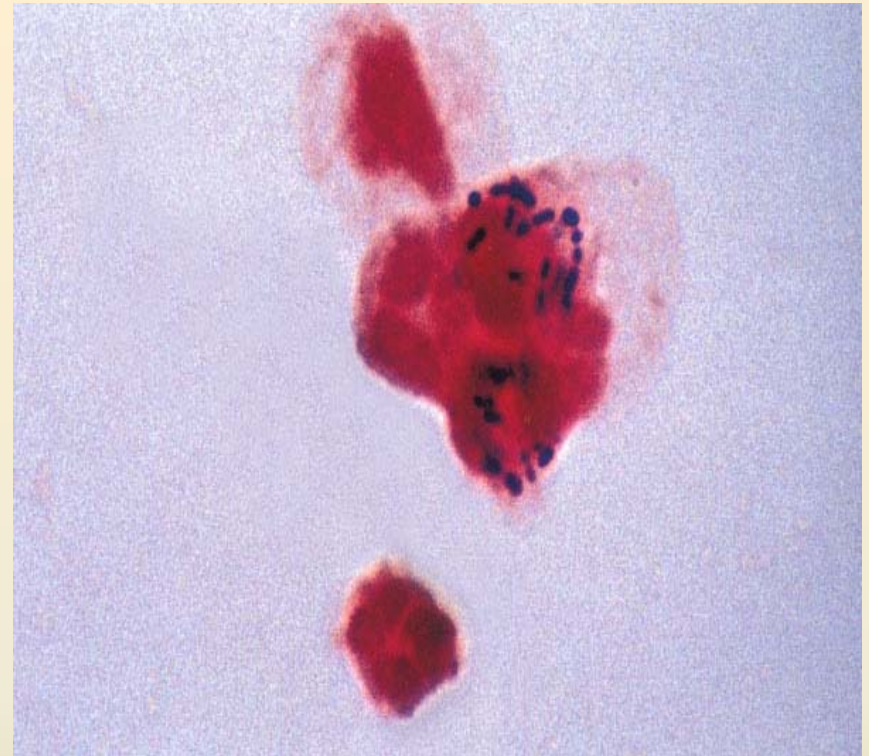
GRAM

- **Sensibilidade** de 60 a 90% e **especificidade** próxima de 100% (quando realizada por profissionais bem treinados)
- **Uso prévio de antimicrobianos:**
as chances de informações sobre a etiologia pelo **Gram** ou pela **cultura** - se reduzem a menos de 50%
 - podendo o LCR ficar estéril em 90-100% dos casos após 24 a 36 horas de antibioticoterapia adequada.

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

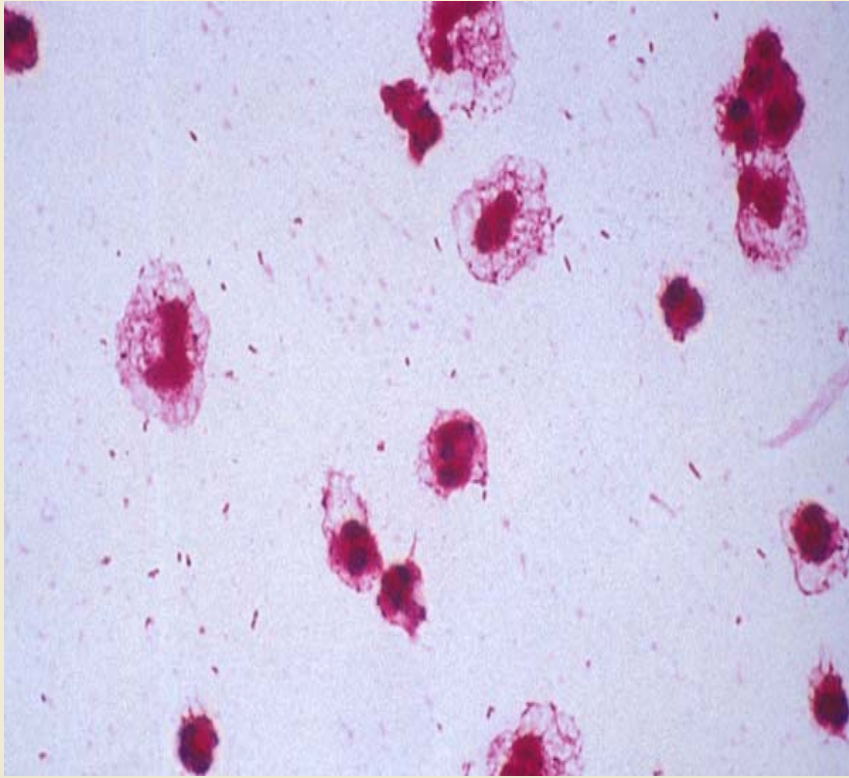


Cocos gram positivos
(*S. pneumoniae*)

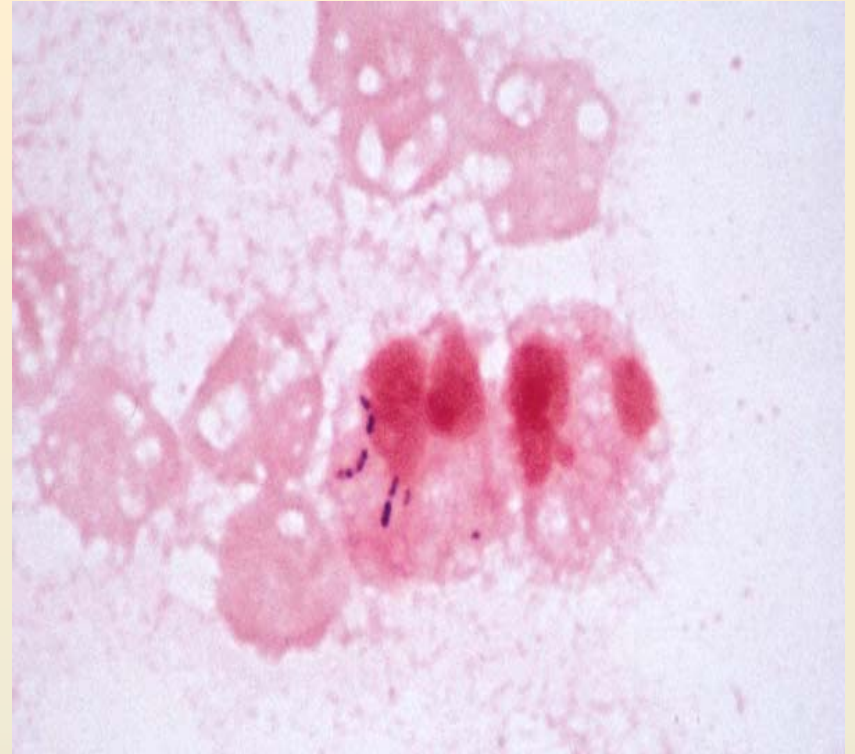


Cocos gram positivos
(*S. agalactiae*)

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL



Cocobacilos gram negativos
(*H. influenzae*)

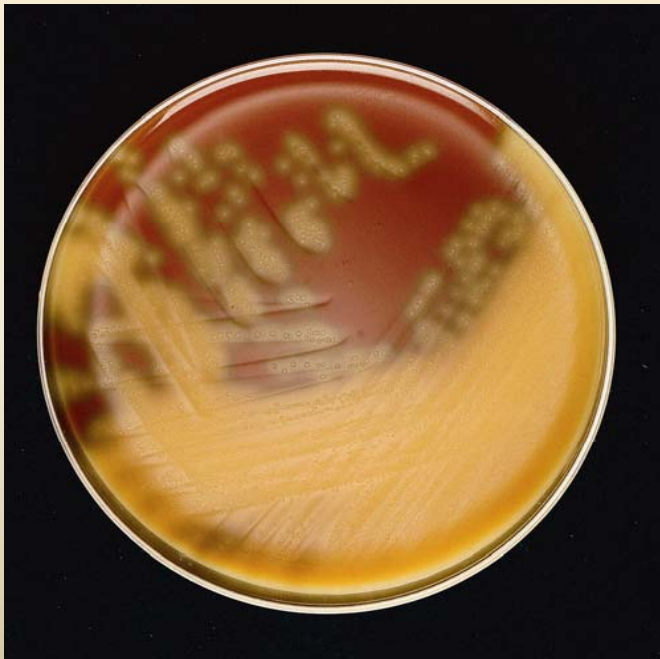


Bacilos gram positivos
(*Listeria monocytogenes*)

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

Cultura do LCR:

- Semear em ágar chocolate
- Identificação



Uninoculated chocolate agar plate



©Dr. med. T. Pietzcker, Ulm

medianovo.de

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

- **Cultura do LCR:**
Identificação de *H. influenzae*

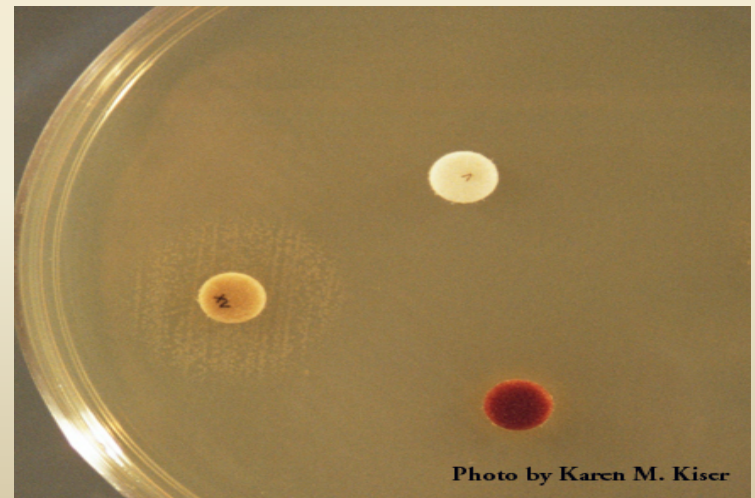
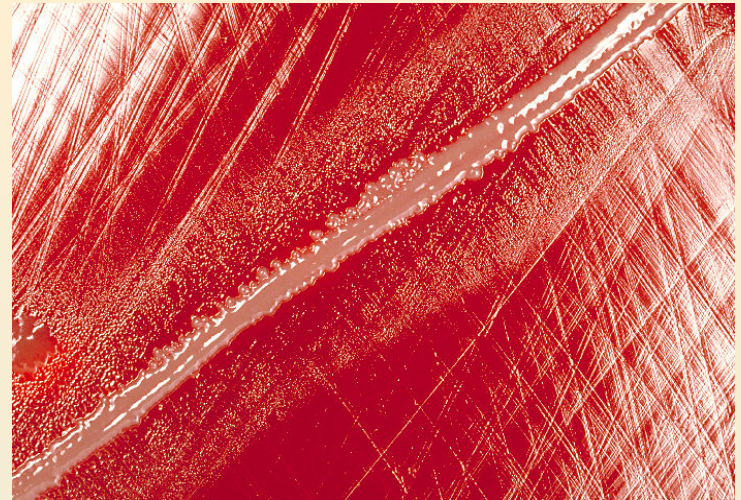
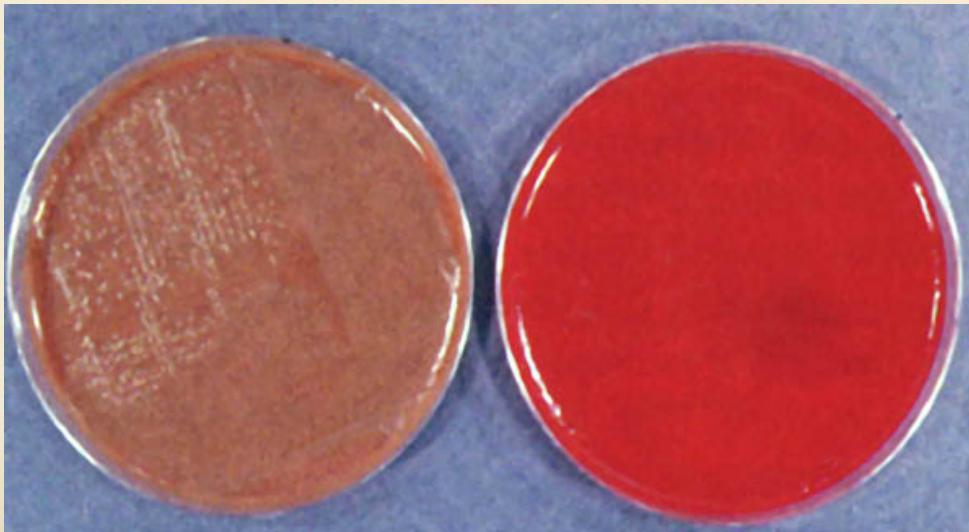
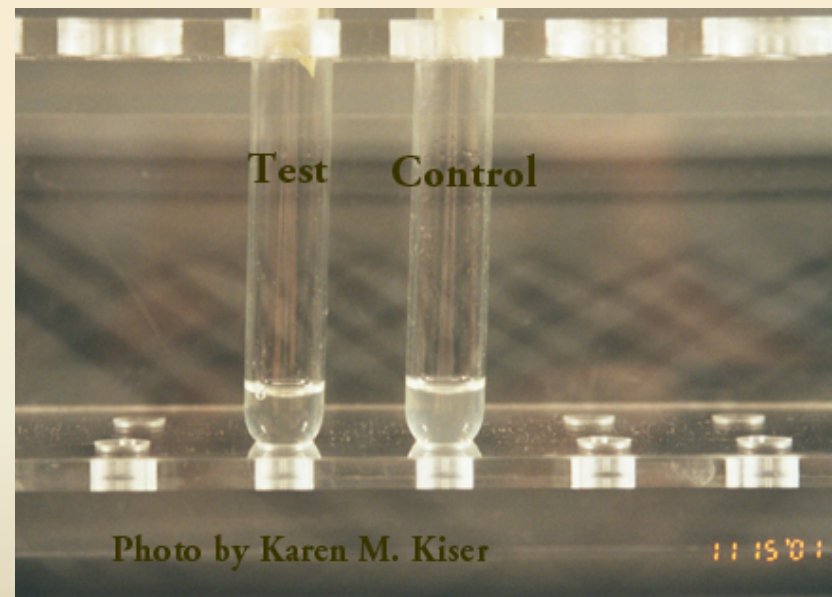


Photo by Karen M. Kiser

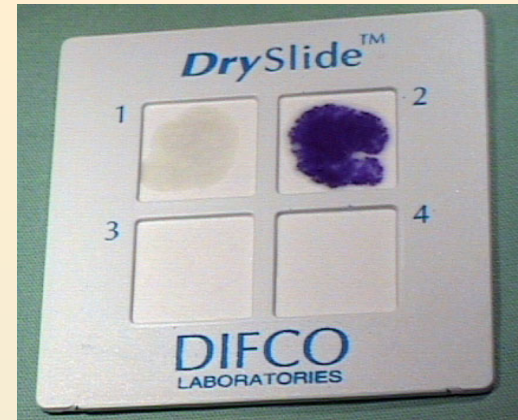
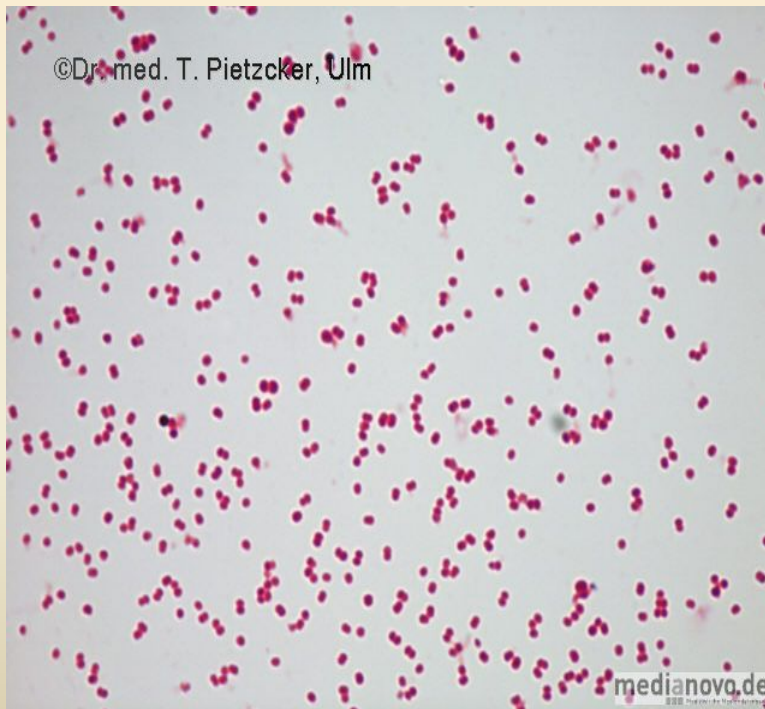
DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

- **Cultura do LCR:**
Identificação de *S. pneumoniae*



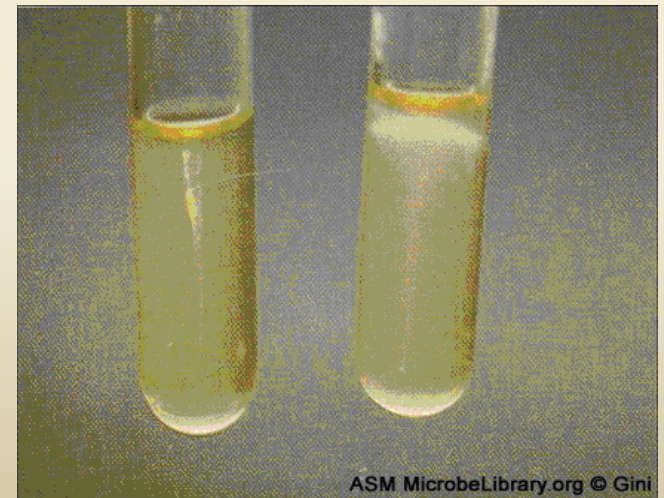
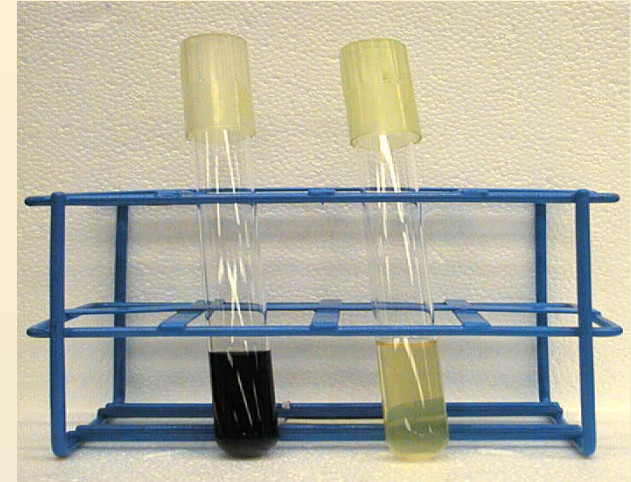
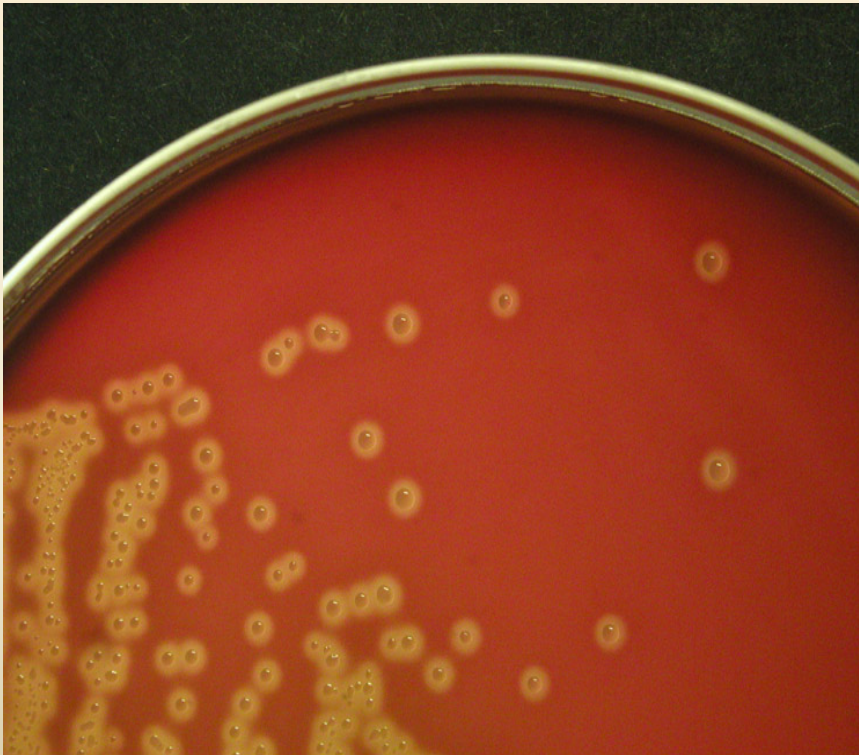
DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

- **Cultura do LCR:**
Identificação de *N. meningitidis*



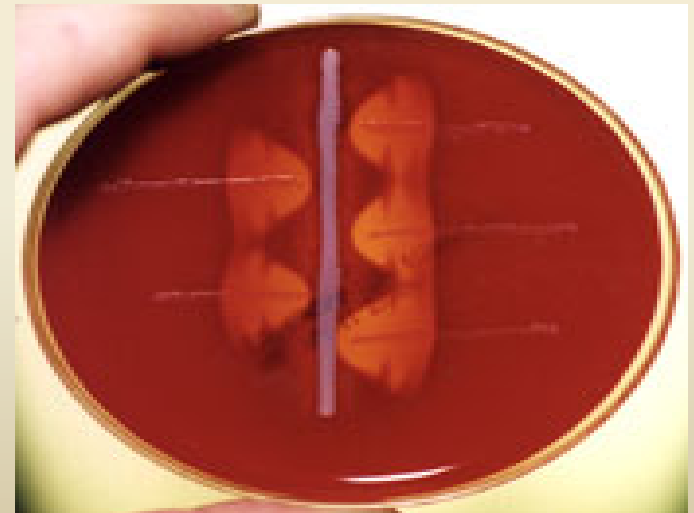
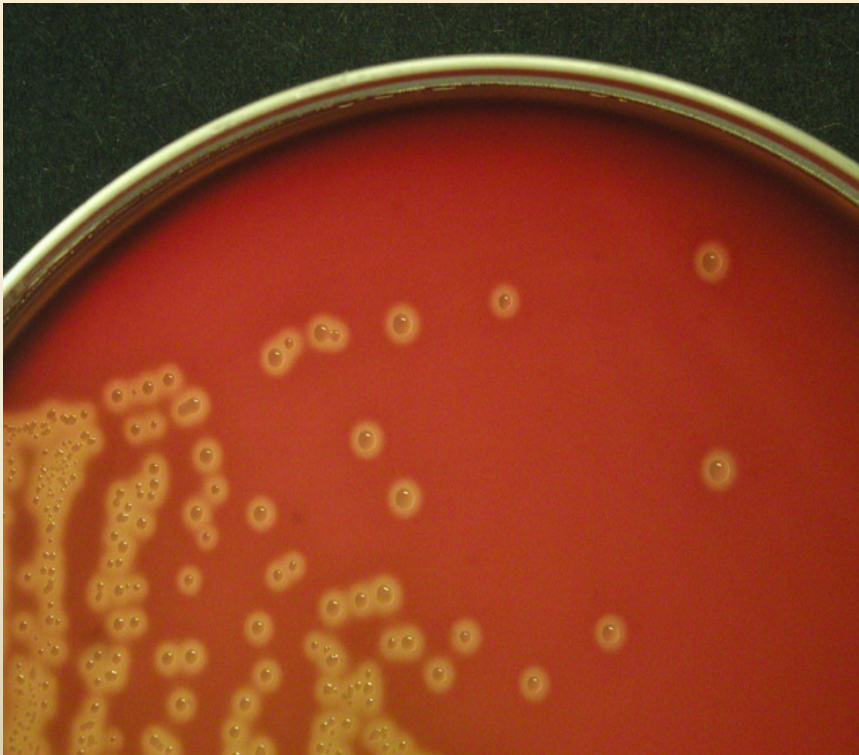
DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

- **Cultura do LCR:**
Identificação de *Listeria monocytogenes*



DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

- **Cultura do LCR:**
Identificação de *S. agalactiae*



DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

Hemocultura:

BHI, TSB, Caldo Colúmbia,
etc

SPS (Polianetol sulfonato de
sódio) - anticoagulante



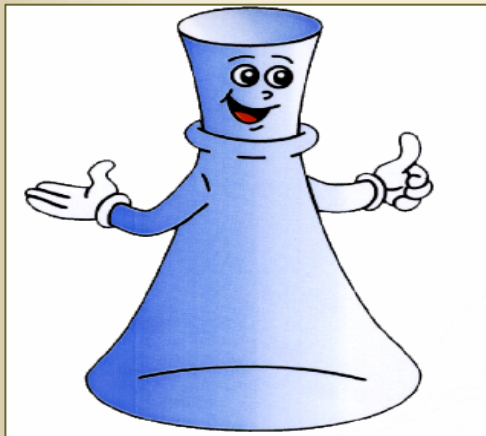
DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

- **Contraímunoeletroforese**
Exame de baixa sensibilidade
Técnica trabalhosa
- **Aglutinação c/ partículas de látex**
Sensibilidade variável

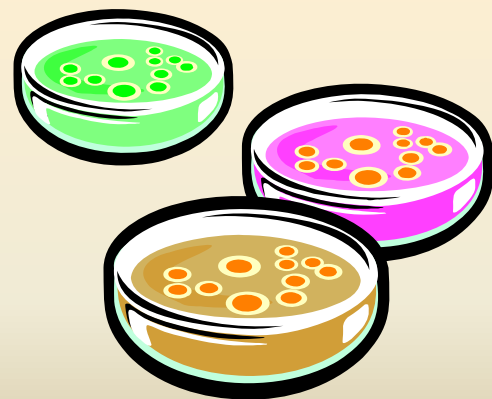


ETIOLOGIA DAS INFECÇÕES DO SNC




Microrganismo	Faixa Etária
<i>E. coli</i> , <i>S. agalactiae</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , herpes simples vírus 2	Recém-nascido
<i>S. agalactiae</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>E. coli</i>	< 2 meses
Vírus, <i>H. influenzae</i> , <i>S. pneumoniae</i> , <i>N. meningitidis</i>	< 10 anos
Vírus, <i>N. meningitidis</i>	Adulto jovem
<i>S. pneumoniae</i> , <i>N. meningitidis</i> , vírus	Adulto
<i>S. pneumoniae</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , bacilo gram negativo	Idoso
<i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i>	Pacientes imunodeprimidos



Importância do LACEN frente as meningites



FLUXO DE ENCAMINHAMENTO DE AMOSTRAS

Hospital 	Paciente Punção lombar e coleta de sangue
Laboratório local 	Exames físicos, químicos e citológicos Bacterioscopia Látex Processamento do Kit de meningite
LACEN 	Bacterioscopia Cultura e sorogrupagem Látex Distribuição do Kit de meningite Capacitação de RH e supervisão

FLUXO DE ENCAMINHAMENTO DE AMOSTRAS



**Laboratório de Referência
Nacional**

IAL

(Instituto Adolfo Lutz)

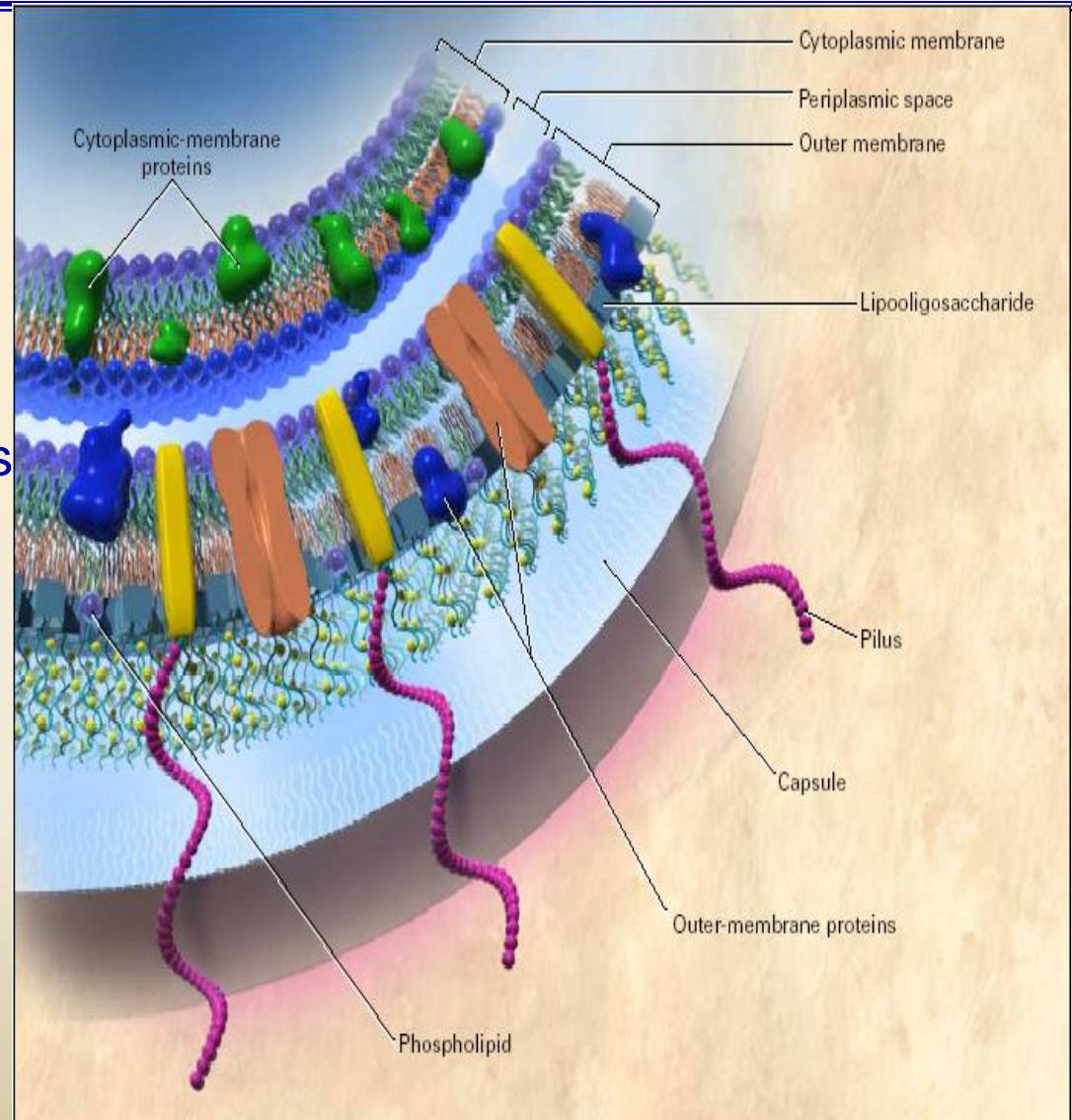
**Confirmação de espécies
Sorogrupos e sorosubtipos
Caracterização molecular
Controle de resistência de cepas
Fornecimento de reagentes
Capacitação e supervisão**

CARACTERÍSTICAS ANTIGÊNICAS DA *N. meningitidis*

Sorogrupos	A B C D 29E L W135 Y X Z H I K	Polissacarídios da cápsula
Sorotipos	2a 2b 4 8 15 16 (+ de 20 sorotipos)	Proteínas de classe 2/3 da membrana externa
Subtipos	P1.1 P1.2 P1.3 P1.7 P1.15 P1.16.....	Proteínas de classe 1 da membrana externa

Envoltório celular de *N. meningitidis*

- membrana citoplasmática
- camada de peptidoglicano
- membrana externa contendo lipopolissacarídeos e proteínas (base da **sorotipagem e subtipagem**)
- cápsula polissacarídica (polissacarídeos - **grupos sorológicos A, B, C, Y, W135, etc**)



FENÓTIPOS DE *N. meningitidis* EM SANTA CATARINA

- *Neisseria meningitidis* B:4,7:P1.19,15
- *Neisseria meningitidis* B:15:P1.16
- *Neisseria meningitidis* B:8: nt
- *Neisseria meningitidis* C:2b:P1.3

OBS.:

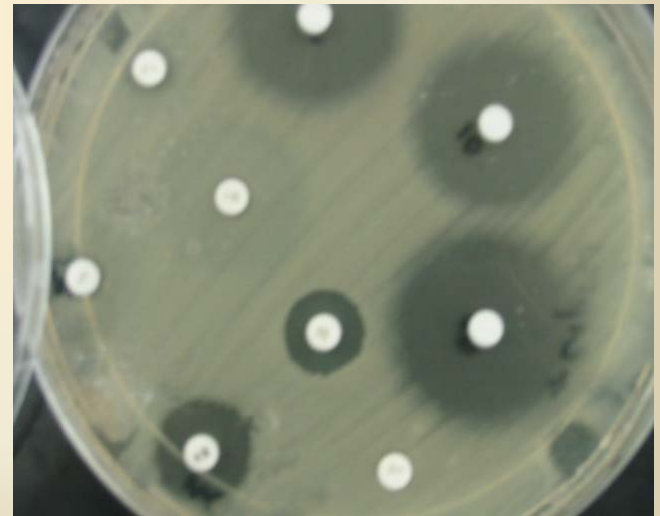
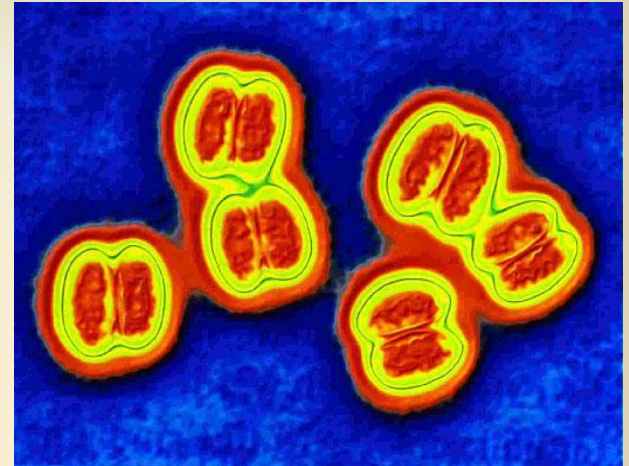
A vacina antimeningocócica B+C só está indicada quando grande parte dos casos for causado pela cepa de meningococo B:4,7:P1.19,15

Streptococcus pneumoniae

- Atualmente a vacina antipneumocócica contém polissacarídios de 23 tipos incluídos os tipos 1, 2, 3, 4, 5, 6B, 8, 9N, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 20, 22F, 23F e 33F.
- Sorotipos 6, 14, 19 e 23 são mais frequentes associados com infecções de crianças do que dos adultos.

Esses estudos são importantes para a vigilância epidemiológica:

- conhecimento das cepas circulantes para a detecção precoce da introdução de cepas pertencentes a clones epidêmicos.
- estudos periódicos para a determinação de sensibilidade aos antimicrobianos.





ESTADO DE SANTA CATARINA
SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
LABORATÓRIO CENTRAL DE SAÚDE PÚBLICA - LACEN
SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE - SUS

KIT DE MENINGITE

Este Kit é composto de:

- 01 frasco com meio de ágar chocolate (frasco com tampa verde);
- 01 frasco para hemocultura - coleta pediátrica (frasco com tampa vermelha);
- 01 frasco vazio estéril para líquido recém punccionado (frasco com tampa azul);
- 01 frasco vazio estéril para soro (frasco com tampa laranja);
- 01 porta-lâmina com 01 lâmina;
- 01 embalagem para transporte de LCR e soro;
- 01 embalagem para transporte de meios de cultura;
- 01 ficha de encaminhamento de amostras clínicas

Conservação em geladeira - temperatura 4 a 8°C.

ORIENTAÇÃO PARA O USO DE KIT DE MENINGITE

- No momento do uso, os meios de cultura devem estar a 35°C.
- Romper o lacre central dos frascos e fazer assepsia das tampas de borracha com álcool 70%.
- Semeie o líquido (LCR) imediatamente no frasco com meio de ágar chocolate (verde). Incubar em estufa a 35°C por 24 a 48 horas e envie ao LACEN.
Transportar em temperatura ambiente.
- Colocar 1 a 2ml de LCR no frasco estéril (azul).
Transportar em isopor com gelo.
- Colocar 1 a 2ml de soro no frasco estéril (laranja).
Transportar em isopor com gelo.
- Adicionar 1 ml de sangue direto no frasco para hemocultura (vermelho). Incubar em estufa a 35°C por 24 a 48 horas e enviar ao LACEN.
Transportar em temperatura ambiente.
- Fazer um esfregaço em lâmina do líquido centrifugado e fixar em temperatura ambiente ou em estufa a 35°C. Não corar.
Transportar no porta-lâmina a temperatura ambiente.

Importante: o LCR e o soro deverão ser colocados no freezer ou congelador até a hora de serem enviados ao LACEN.





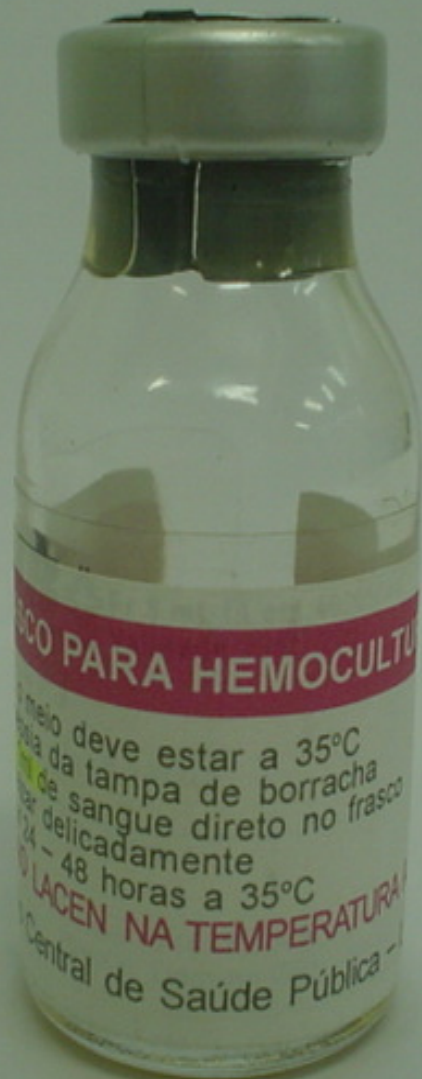
ESTÉRIL PARA LCR

PCR direto no frasco

tampa de borracha

EM ISOPOR COM G

Saúde Pública - LACEN



FRASCO PARA HEMOCULTURA

O meio deve estar a 35°C
A tampa de borracha
de sangue direto no frasco
de delicadamente
24 - 48 horas a 35°C

LACEN NA TEMPERATURA
Central de Saúde Pública







FRASCO PARA HEMOCULTE

deve estar a 35°C
de LCR direto no frasco, com
horas a 35°C
NA TEMPERATURA
de Saúde Pública - LACEN

FRASCO PARA HEMOCULTE

de soro no frasco
EM ISOPOR COM
de Saúde Pública - LACEN

FRASCO PARA HEMOCULTE

o meio deve estar a 35°C
aspsia da tampa de borracha
1ml de sangue direto no
mezizar delicadamente
por 24 - 48 horas a 35°C
AO LACEN NA TEMPERATURA
Central de Saúde Pública

FRASCO PARA HEMOCULTE

de LCR direto no frasco
da tampa de borracha
EM ISOPOR COM
de Saúde Pública - LACEN

KIT DE MENINGITE

Este Kit é composto de:

- a) 01 frasco com meio de agar chocolate (frasco com tarja verde);
- b) 01 frasco para hemocultura – coleta pediátrica (frasco com tarja vermelha);
- c) 01 frasco vazio estéril para líquido recém puncionado (frasco com tarja azul);
- d) 01 frasco vazio estéril para soro (frasco com tarja laranja);
- e) 01 porta-lâminas com 01 lâmina;
- f) 01 embalagem para transporte de LCR e soro;
- g) 01 embalagem para transporte de meios de cultura;
- h) 01 ficha de encaminhamento de amostras clínicas.

Conservação na geladeira – temperatura 4 a 8°C.

ORIENTAÇÃO PARA O USO DE KIT DE MENINGITE

- 1) No momento do uso, os meios de cultura devem estar a 35°C
- 2) Romper o lacre central dos frascos e fazer assepsia das tampas de borracha com álcool 70%.

1) Semeie o líquido (LCR) imediatamente no frasco com meio de agar chocolate (verde). Incubar em estufa a 35°C por 24 a 48 horas e enviar ao LACEN.

Transportar em temperatura ambiente

2) Colocar 1 a 2 ml de LCR no frasco estéril (azul).

Transportar em isopor com gelo.

3) Colocar 1 a 2 ml de soro no frasco estéril (Laranja).

Transportar em isopor com gelo.

4) Adicionar 1 ml de sangue direto no frasco para hemocultura (vermelho). Incubar em estufa a 35°C por 24 a 48 horas e enviar ao LACEN.

Transportar em temperatura ambiente.

Observação: para adulto, utilizar frasco de meio de cultura com 45 ml e adicionar 5 ml de sangue.

5) Fazer um esfregaço em lâmina do líquido centrifugado e fixar em temperatura ambiente ou em estufa a 35°C. Não corar.

Transportar no porta-lâmina a temperatura ambiente

Importante: o LCR e o soro deverão ser colocados no freezer ou congelador até a hora de serem enviados ao LACEN



TRANSPORTE DE MEIOS DE CULTURA

- a) Aproveitar esta embalagem para acondicionar a lâmina e os frascos de **agar chocolate** e de **hemocultura** após incubação prévia por 24-48 horas a 35°C.
- b) Enviar ao LACEN em temperatura ambiente.

LABORATÓRIO CENTRAL DE SAÚDE PÚBLICA – LACEN
Avenida Rio Branco, nº 152 – Fundos – Centro
Fone: PABX: (48)251-7800 – FAX: (48)251-7900
CEP: 88015-201 – Florianópolis – Santa Catarina

e-mail: lacen50anos@sc.mailbr.com.br

ESTADO DE SANTA CATARINA
SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
LABORATÓRIO CENTRAL DE SAÚDE PÚBLICA
SETOR DE BACTERIOLOGIA

FICHA DE ENCAMINHAMENTO DE AMOSTRAS CLÍNICAS

DADOS PESSOAIS	
Nome: _____	Idade _____ Sexo: _____
Município de Residência: _____	Nº da notificação: _____
Procedência: _____	(Hospital, creche, restaurante, evento)
Município de Atendimento: _____	Regional: _____
DADOS DA AMOSTRA	
DIFTERIA	
Amostra: () orofaringe () nasofaringe () lesão cutânea	
Data e hora da Coleta: _____ () Doente () Contato	
COLERA	
Amostra: () fezes "in natura" () swab fecal em Cary-Blair () swab retal em Cary-Blair	
Período de incubação (horas): _____ Data e hora da Coleta: _____	
DOENÇAS TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS (DTA)	
Amostra: () fezes "in natura" () swab fecal em Cary-Blair () swab retal em Cary-Blair	
Nº da amostra: () 1ª () 2ª 3ª () Manipulador () Doente	
Período de incubação (horas): _____ Data e hora da Coleta: _____	
FEBRE TIFÓIDE	
Hemocultura: entre a 1ª e 2ª semana da doença	
Nº da amostra: () 1ª () 2ª () 3ª	
Data da Coleta: _____	
Hora da Coleta: 1ª amostra: _____ 2ª amostra: _____ 3ª amostra: _____	
Amostra: () fezes "in natura" () swab fecal, em Cary-Blair () swab" retal em Cary-Blair	
Nº de amostras: () 1ª () 2ª () 3ª () 4ª () 5ª () 6ª () 7ª Data e hora da Coleta: _____	
Após tratamento: () 30 dias () 60 dias () 90 dias	
MENINGITE:	
Amostra: () Líquor puro () Líquor em Ágar chocolate () lâmina	
Data e hora da Coleta: _____	
Dados dos exames de líquido já realizados: leucócitos: _____ neutrófilos: _____ linfócitos: _____	
glicose: _____ proteína: _____ Gram: _____ Cultura: _____	
MENINGOCOCCEMIA	
Amostra: _____ Nº da amostra: _____ - 1ª, 2ª ou 3ª (1º dia) _____ 1ª, 2ª ou 3ª (2º dia)	
Data e hora da Coleta: _____	
OUTRAS AMOSTRAS/ CEPA BACTERIANA	
Amostra: _____ Origem : _____	
Exame Solicitado _____	
Data e hora da remessa do material: _____	
Responsável: _____ Fone p/ contato: _____	
PARA USO DO LACEN	
Recebimento do material (data e hora): _____	
Tipo de material: _____	
Forma de acondicionamento da amostra: () adequada () inadequada:	
Se inadequada especificar: _____	
Nº do Registro no Setor de Bacteriologia: _____	

CONSIDERAÇÕES FINAIS

**A recuperação do agente etiológico viável
é de extrema importância para sua
caracterização e para o monitoramento da
resistência bacteriana aos diferentes
agentes antimicrobianos.**