

**VERA PATRÍCIA ANTUNES FERNANDES**

**MENINGITES BACTERIANAS**

Orientadora: Professora Doutora Maria João Simões

**Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias**

**Faculdade Ciências e Tecnologias da Saúde**

**Lisboa**

**2016**

**VERA PATRÍCIA ANTUNES FERNANDES**

**MENINGITES BACTERIANAS**

Dissertação defendida em provas públicas, para a obtenção do grau de Mestrado em Ciências Farmacêuticas, na Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, no dia 31 de Janeiro de 2017, perante o júri com a seguinte composição:

Presidente: Professora Doutora Dulce Várzea

Arguente: Doutora Paula Bajanca Lavado

Orientadora: Professora Doutora Maria João Simões

**Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias**

**Faculdade Ciências e Tecnologias da Saúde**

**Lisboa**

**2016**

## **Agradecimentos**

Agradeço à minha orientadora Dr.<sup>a</sup> Maria João Simões que foi fundamental com as suas sugestões para a conclusão da tese.

Aos meus pais por todo o apoio incondicional e interesse que demonstraram não só ao longo da realização da tese, como também durante esta caminhada de 5 anos. Ao meu irmão pelos momentos de descontração que me permitiram aliar de momentos menos agradáveis. Aos meus avós que são um exemplo de força e coragem e que me apoiaram incondicionalmente sempre que vacilava e que sei que o continuarão a fazer.

## Resumo

A meningite (doença invasiva) é um processo inflamatório que envolve as meninges, tanto as que protegem o encéfalo, como as que protegem a medula espinhal, sendo provocada por diversos agentes, como vírus, bactérias, fungos e parasitas.

As meningites bacterianas são um grave problema de saúde pública e são provocadas principalmente pelas bactérias *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae* e *Listeria monocytogenes* sendo potencialmente graves pelo facto de poderem deixar sequelas ou até mesmo provocar elevadas taxas de mortalidade, afectando principalmente as crianças. Tal situação exige um diagnóstico muito criterioso e assertivo e um tratamento adequado face ao resultado do diagnóstico.

Antes de se ter a confirmação do diagnóstico deve-se aplicar uma terapêutica empírica com base na idade, peso do indivíduo, entre outros factores de forma a mitigar a evolução da inflamação. Após confirmação do diagnóstico será reanalisada e ajustada a terapêutica consoante a bactéria identificada.

Com a introdução das vacinas, foi possível verificar uma enorme alteração na disseminação da meningite, tornando-a mais controlada. Contudo é necessário manter uma vigilância activa, sobre esta patologia e simultaneamente promover o desenvolvimento de novos antibióticos para mitigar a resistência das bactérias.

**Palavras-Chave:** Meningite bacteriana; *Haemophilus influenzae*; *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*; *Streptococcus agalactiae*; *Listeria monocytogenes*

## Abstract

Meningitis (invasive disease) is an inflammatory process involving meninges, those that protect the brain and those that protect the spinal cord, being caused by several agents, such as viruses, bacteria, fungi and parasites.

Bacterial meningitis is a serious public health problem and is mainly caused by the bacteria *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae* and *Listeria monocytogenes*. It is potentially serious because they can cause sequelae or even cause high mortality rates, affecting mainly children. Such a situation requires a very careful and assertive diagnosis and an appropriate treatment against the result of the diagnosis.

Before confirming the diagnosis, empirical therapy should be applied based on the age, weight of the individual, among other factors in order to mitigate the evolution of the inflammation. After confirmation of the diagnosis, the therapy will be re-analyzed and adjusted according to the bacteria identified.

With the introduction of the vaccines, it was possible to verify a huge change in the spread of meningitis, making it more controlled. However, it is necessary to keep an active surveillance on this pathology while simultaneously promoting the development of new antibiotics to mitigate the resistance of the bacteria.

**Keywords:** Bacterial meningitis; *Haemophilus influenzae*; *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*; *Streptococcus agalactiae*; *Listeria monocytogenes*

## Índice

Agradecimentos .....	iii
Resumo .....	iv
Abstract .....	v
Índice de figuras .....	viii
Índice de tabelas.....	ix
Siglas e abreviaturas .....	x
1. Introdução.....	1
2. Anatomia do Sistema Nervoso.....	2
2.1. Encéfalo .....	4
2.2. Medula espinhal.....	5
2.3. Meninges .....	6
2.4. Líquido cefalorraquidiano.....	8
3. História das infecções do Sistema Nervoso Central.....	10
4. Meningites – agentes etiológicos mais frequentes .....	14
4.1. Meningite por <i>Haemophilus influenzae</i> .....	17
4.1.1. Características bacteriológicas do agente.....	17
4.1.2. Patogénese.....	20
4.1.3. Manifestações clínicas.....	21
4.1.4. Profilaxia e controlo.....	21
4.1.5. Epidemiologia.....	24
4.2. Meningite pneumocócica.....	27
4.2.1. Características bacteriológicas do agente.....	27
4.2.2. Patogénese.....	29
4.2.3. Manifestações clínicas.....	29
4.2.4. Profilaxia e controlo.....	30
4.2.5. Epidemiologia.....	33
4.3. Meningite meningocócica.....	35
4.3.1. Características bacteriológicas do agente.....	35
4.3.2. Patogénese.....	37
4.3.3. Manifestações clínicas.....	38
4.3.4. Profilaxia e controlo.....	39
4.3.5. Epidemiologia.....	43

4.4.	Meningite por <i>Listeria monocytogenes</i> .....	46
4.4.1.	Características bacteriológicas do agente.....	46
4.4.2.	Patogénese.....	47
4.4.3.	Manifestações clínicas.....	48
4.5.	Meningite por <i>Streptococcus agalactiae</i> .....	49
4.5.1.	Características bacteriológicas do agente.....	49
4.5.2.	Patogénese.....	50
4.5.3.	Manifestações clínicas.....	51
4.5.4.	Profilaxia e controlo.....	52
5.	Diagnóstico .....	53
5.1.	Diagnóstico laboratorial .....	53
6.	Tratamento .....	61
7.	Conclusão .....	67
8.	Bibliografia .....	68

## Índice de figuras

Figura 1: Constituição do SNC.....	2
Figura 2: Estruturas e respectivas funções do encéfalo .....	4
Figura 3: Medula espinhal e raízes dos nervos raquidianos .....	5
Figura 4: Medula espinhal revestida pelas meninges .....	7
Figura 5: Meninges a revestirem o encéfalo .....	7
Figura 6: Formação e percurso do líquido cefalorraquidiano .....	9
Figura 7: Morfologia do Haemophilus influenzae .....	17
Figura 8: Colónias de H. influenzae no meio de cultura de ágar de chocolate .....	18
Figura 10: Morfologia de Streptococcus pneumoniae .....	27
Figura 11: Colónias de Streptococcus pneumoniae $\alpha$ -hemolíticas e $\beta$ -hemolíticas .....	28
Figura 12: Morfologia de Neisseria meningitidis .....	35
Figura 13: Colónias de Neisseria meningitidis em meio de ágar de sangue com 24h de incubação .....	36
Figura 14: Colónias de Neisseria meningitidis em meio de ágar de sangue com 48h de incubação .....	36
Figura 15: Sinal de Brudzinski .....	39
Figura 16: Sinal de Kernig .....	39
Figura 17: Distribuição global dos serogrupos do meningococos .....	43
Figura 18: Morfologia da Listeria monocytogenes .....	46
Figura 19: Colónias de Listeria monocytogenes em gelose de sangue .....	46
Figura 20: Morfologia do Streptococcus agalactiae .....	49
Figura 21: Recolha de LCR .....	54

## Índice de tabelas

Tabela 1: Agentes etiológicos das meningites .....	15
Tabela 2: Agentes etiológicos da meningite bacteriana tendo em conta a faixa etária .....	15
Tabela 3: Vacinas conjugadas para Hib .....	22
Tabela 4: Programa de vacinação recomendado para 2017 .....	23
Tabela 5: Incidência da meningite por Hib em crianças dos 0 aos 5 anos em diversos países industrializados antes e após a vacinação .....	25
Tabela 6: Tabela resumo das três vacinas conjugadas .....	32
Tabela 7: Vacinas conjugadas monovalentes anti-serogrupo C .....	41
Tabela 8: Esquema vacinal da Bexsero® .....	43
Tabela 9: Critérios e valores de referência para analisar o LCR .....	56
Tabela 10: Significado clínico de acordo com o predomínio celular obtido em contagem diferencial de leucócitos da mostra de LCR .....	58
Tabela 11: Terapêutica antimicrobiana empírica consoante a faixa etária e factores predisponentes específicos .....	62
Tabela 12: Terapêutica antibiótica específica consoante o microrganismo .....	63
Tabela 13: Doses administrar tendo em conta a idade e o peso do indivíduo .....	64
Tabela 14: Duração da terapêutica tendo em conta cada microrganismo .....	65

## Siglas e abreviaturas

SNC	Sistema Nervoso Central
SNP	Sistema Nervoso Periférico
LCR	Líquido Cefalorraquidiano
ml	Mililitros
PRP	Polirribosil-Ribitol-Fosfato
LOS	Lipooligossacarídeos
NAD	Nicotinamida Adenina Dinucleotideo
Hib	<i>Haemophilus influenzae</i> tipo b
IgA1	Imunoglobulinas A1
SARA	Sistema de Alerta e Resposta Aprorpiada
DGS	Direcção Geral de Saúde
mg	Miligrama
kg	Quilograma
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
DTPa	Difteria, Tétano e Coqueluche
VIP	Poliomielite
VHB	Hepatite B
PNV	Plano Nacional de Vacinação
$\alpha$	alfa
$\beta$	beta
VPP23	Vacina polissacarida 23-valente
VCP7	Vacina anti-pneumocócica heptavalente
VCP10	Vacina anti-pneumocócica 10-valente
VCP13	Vacina anti-pneumocócica 13-valente
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
mm H <sub>2</sub> O	Milímetros de água
PCR	Reacção em cadeia polimerase
DNA	Ácido Desoxirribonucleico

## 1. Introdução

A meningite bacteriana é uma doença grave, normalmente com maior incidência em crianças, associada a alta morbidade e mortalidade no caso de diagnóstico e tratamento tardios (Murray, *et al.*, 2010).

Esta doença é caracterizada por ser um processo inflamatório que envolve as leptomeninges e a invasão do Líquido Cefalorraquidiano (LCR) por bactérias. O risco de desenvolver complicações está relacionado com a idade, condições clínicas prévias, agente causal e com a instauração da terapia adequada. Podem registar-se sequelas neurológicas graves, como paralisia cerebral, algumas das quais só detectadas a longo prazo (Sztajnbok, 2012).

Os casos de meningite são suspeitos quando os indivíduos possuem um quadro clínico de febre, cefaleias intensas, meningismo (rigidez da nuca) e alteração do estado de consciência. Podem ser causados por diversos microrganismos como vírus, fungos, parasitas e bactérias (Sztajnbok, 2012).

As principais bactérias que causam a meningite são *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* e *Neisseria meningitidis*, contudo existem outras bactérias que também poderão provocar a meningite como, por exemplo, *Listeria monocytogenes*, e *Streptococcus agalactiae*.

Tratando-se de um problema de Saúde Pública, pretende-se com este trabalho sobre as “Meningites Bacterianas” identificar e caracterizar os seus agentes etiológicos mais frequentes, bem como apontar as respectivas medidas de prevenção e de tratamento.

A vacinação tem um papel fundamental no controlo das infecções, sendo particularmente importante vacinar crianças por estas terem o sistema imunitário ainda imaturo (Agrawal *et al.*, 2011).

Assim, torna-se imperativo a implementação das medidas de prevenção bem como um diagnóstico e tratamento instituído o mais rapidamente possível de maneira a evitar possíveis sequelas.

## 2. Anatomia do Sistema Nervoso

O Sistema Nervoso do ser humano é bastante complexo, sendo subdividido em Sistema Nervoso Central (SNC) e Sistema Nervoso Periférico (SNP).

O SNC é composto pelo encéfalo que se encontra no interior da caixa craniana e pela medula espinhal que está localizada no interior do canal raquidiano (Figura 1).

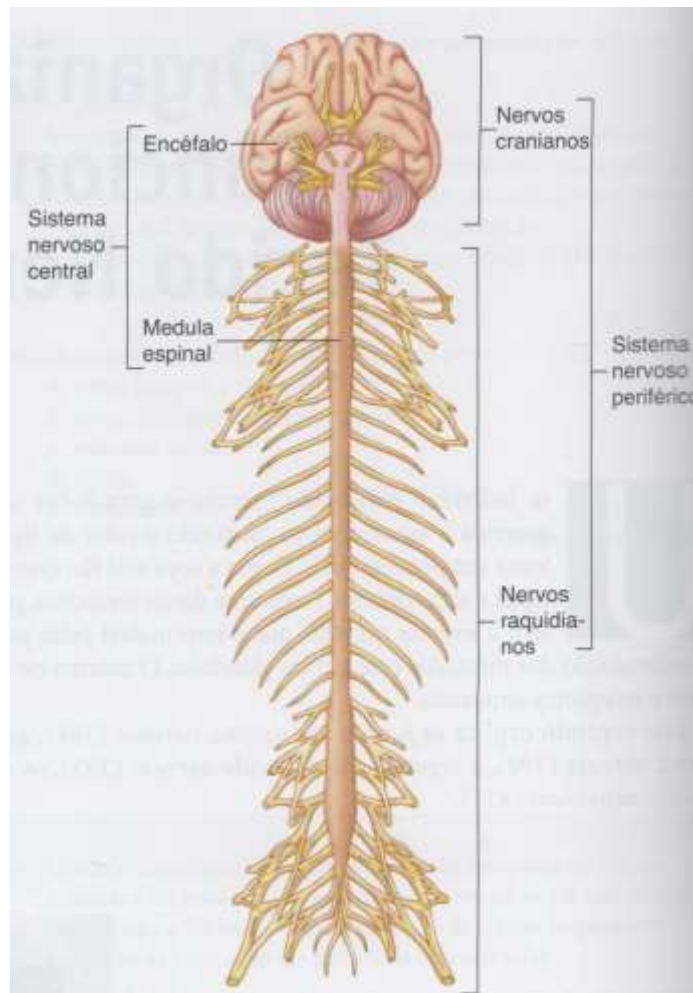


Figura 1: Constituição do SNC (fonte: Seeley *et al.*, 2008)

O SNP é formado por receptores sensoriais, nervos e gânglios. Em relação aos receptores sensoriais, estes encontram-se na pele, músculos, órgãos sensoriais e articulações, sendo responsáveis pela detecção da temperatura, dor, toque, luz, pressão e outros estímulos. Os nervos, como são feixes de axónios, ligam o SNC aos receptores sensoriais e a outros órgãos através das bainhas, já os gânglios são aglomerados de células neuronais que são exteriores ao SNC.

O Sistema Nervoso desenvolve-se logo nas primeiras semanas do embrião, a partir de um tecido ectodérmico. Com o desenvolvimento do embrião precoce (embrião com 21 dias) é possível identificar as várias zonas do encéfalo e a medula espinhal. Com o avançar das semanas é que se desenvolvem os ventrículos e dentro destes o plexo coróide responsável pela produção do Líquido Cefalorraquidiano (LCR), mas apenas é visível se se fizer um corte transversal (Seeley *et al.*, 2008).

## 2.1. Encéfalo

O encéfalo é o principal órgão de controlo, podendo ser dividido em quatro estruturas: tronco cerebral, cerebelo, diencefalo e telencefalo. O tronco cerebral pode ainda ser dividido em bulbo raquidiano, protuberância e mesencéfalo. Na Figura 2 é possível observar todas as estruturas do encéfalo e respectivas funções que desempenham (Seeley *et al.*, 2008).

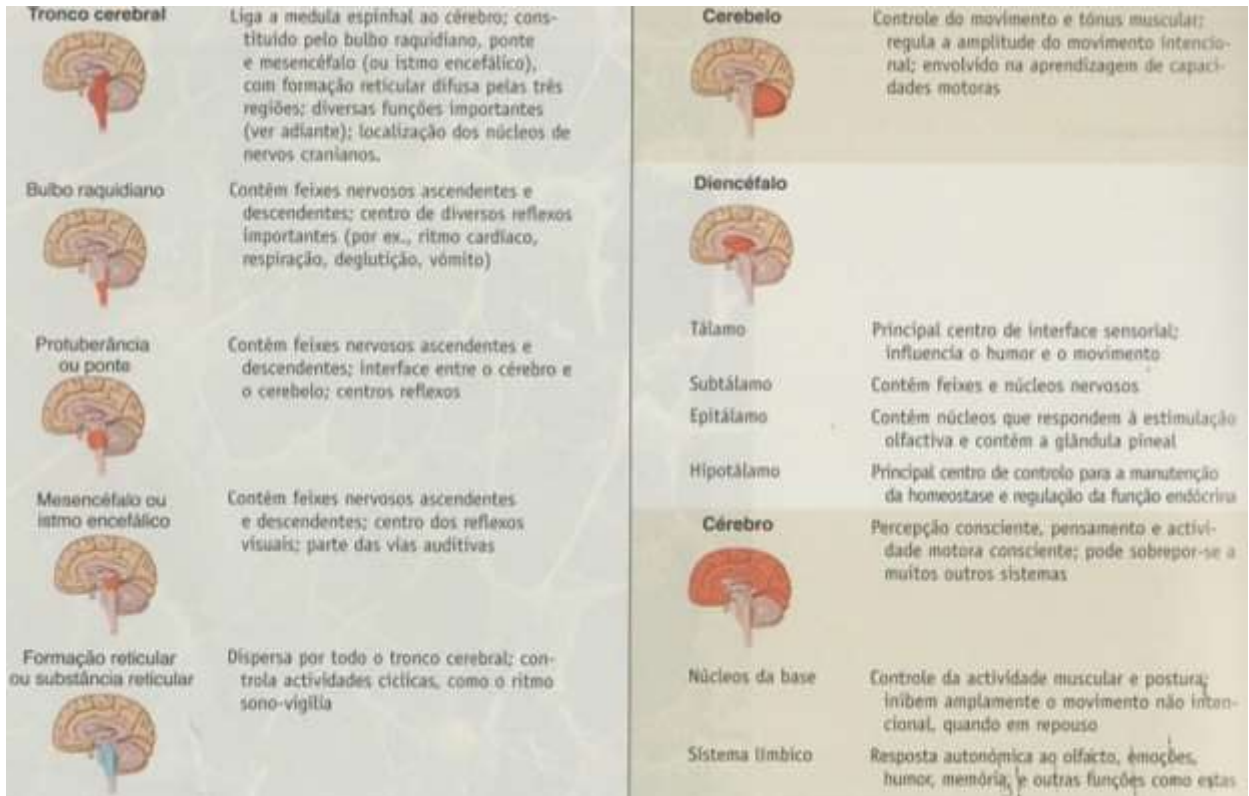


Figura 2: Estruturas e respectivas funções do encéfalo (fonte: Seeley *et al.*, 2008)

As células encefálicas não têm a capacidade de armazenar energia e por isso têm de ter um aporte de sangue elevado e constante de forma a colmatar as necessidades do encéfalo. Assim a irrigação sanguínea é feita pelas artérias carótidas internas e pelas artérias vertebrais. Estas artérias ao se dividirem em capilares e estes ao serem envolvidos por astrócitos irão formar a barreira hemato-encefálica que tem como função filtrar as substâncias que passam para o encéfalo, como por exemplo a bilirrubina (Seeley *et al.*, 2008).

A protecção do encéfalo é feita por membranas, as meninges, que o envolvem e protegem de choques e evitam que ele se desloque. As meninges protegem também a medula espinhal (Seeley *et al.*, 2008).

## 2.2. Medula espinhal

A medula espinhal é fundamental na conexão entre o encéfalo e o SNP na medida que recebe e analisa a informação e formula respostas adequadas. A medula atravessa o buraco occipital e termina ao nível da segunda vertebra lombar. Não possui um diâmetro constante ao longo do seu comprimento, existindo duas dilatações designadas por dilatação cervical e dilatação lombar. Estas dilatações correspondem ao local onde os axónios entram ou saem para servir os membros superiores e inferiores, respectivamente.

Tal como acontece com o encéfalo, também a medula espinhal é protegida pelas meninges. A dura-máter, camada mais superficial, forma um saco designado por saco tecal que envolve a medula mantendo-a no seu lugar com o auxílio de ligamentos dentados e filamento terminal (*filum terminale*). Enquanto que os filamentos dentados ligam a medula espinhal à dura-máter pela margem externa o *filum terminale* estende-se inferiormente até à primeira vértebra coccígea limitando o movimento da medula (Figura 3). As membranas interiores à dura-máter são a aracnóidea e a pia-máter que serão seguidamente mais detalhadas (Seeley *et al.*, 2008).



Figura 3: Medula espinhal e raízes dos nervos raquidianos (fonte: Seeley *et al.*, 2008)

### 2.3. Meninges

As meninges compreendem três membranas, a dura-máter, a aracnóideia e a pia-máter (as últimas duas membranas são também designadas por leptomeninges). Todas elas são constituídas por tecido conjuntivo e são fundamentais na protecção do cérebro e da medula espinhal (Figura 4)(Figura 5) (Seeley *et al.*, 2008; Christodoulides, 2013).

A dura-máter é a membrana mais externa das três e, por isso, a mais espessa e resistente. É composta por tecido conjuntivo denso e irregular (Seeley *et al.*, 2008; Medipédia, 2016). Pode ser classificada como dura-máter craniana e dura-máter raquidiana. A craniana difere da raquidiana, uma vez que está em contacto directo com o crânio e não possui espaço extradural (Esperança Pina, 2000).

A dura-máter encontra-se fortemente ligada à caixa craniana, apesar de ser dividida em duas camadas, a mais externa, dura perióstea que compõe o periósteeo interior do crânio e a mais interna, a dura meníngea. São várias as zonas em que estas camadas estão divididas dando origem à formação de septos duros e seios venosos duros. Os septos duros possuem um tecido conjuntivo mais denso que em conjunto com a dura-máter evitam que o encéfalo se desloque da sua posição com facilidade. Já os seios venosos duros são cobertos por endotélio e são espaços formados pela separação das duas camadas da dura-máter e têm como função o transporte do sangue venoso e do LCR para o exterior do encéfalo (Seeley *et al.*, 2008).

A membrana que se segue é a aracnóideia e também ela se divide em aracnóideia espinhal e aracnóideia encefálica. A aracnóideia encefálica é uma membrana serosa, bastante fina, delgada e elástica (Seeley *et al.*, 2008, Esperança Pina, 2000; Medipédia, 2016). É constituída por dois folhetos, o parietal que se encontra separado da dura-máter pelo espaço subdural e o visceral que une a aracnóideia à pia-máter através de um conjunto de aréolas que atravessam o espaço subaracnóideo, onde circula o LCR. Por norma este espaço é bastante reduzido, contudo existem zonas onde a concentração de líquido é mais elevada formando as cisternas (três na loca cerebral e três na loca cerebelosa)(Esperança Pina, 2000; Medipédia, 2016). É no espaço subaracnóideo que se encontram os vasos sanguíneos que irrigam o encéfalo assim como fios emaranhados provenientes da aracnóideia. No caso de se sofrer algum tipo de traumatismo, pode ocorrer uma acumulação de sangue considerável e provocar rupturas vasculares (Medipédia, 2016).

A terceira membrana é a pia-máter e à semelhança das membranas anteriores também ela se divide em pia-máter raquidiana e encefálica. A pia-máter raquidiana é composta por uma superfície interna que está em contacto directo com a medula espinhal e o bulbo raquidiano e uma superfície externa que está em contacto com o espaço subaracnoídeo que contém o LCR. Já a pia-máter craniana a superfície interna recobre todo o encéfalo (todas as dobras e sulcos) e a superfície externa está em contacto com o espaço subaracnoídeo (Mahendru *et al.*, 2009). A pia-máter craniana é a membrana mais interna, muito fina e delicada que se encontra intimamente ligada à superfície do encéfalo e da medula espinhal (Seeley *et al.*, 2008; Medipédia, 2016).

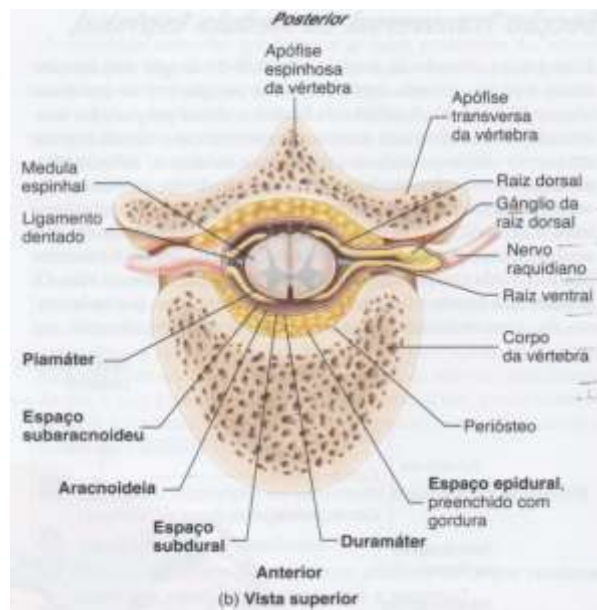


Figura 4: Medula espinhal revestida pelas meninges (fonte: Seeley *et al.*, 2008)

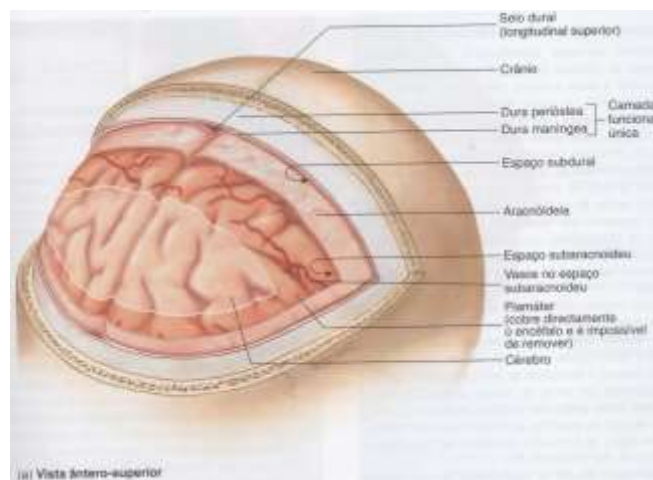


Figura 5: Meninges a revestirem o encéfalo (fonte: Seeley *et al.*, 2008)

#### 2.4. Líquido cefalorraquidiano

O LCR é um líquido estéril e incolor que está presente tanto na cavidade intracraniana, mais propriamente nos ventrículos e no espaço subaracnoídeo, como na medula espinhal e no canal central da mesma (Seeley *et al.*, 2008). O volume médio de LCR é cerca de 150 mililitros (ml) dos quais 25 ml se encontram nos ventrículos e 125 ml se encontram nos espaços subaracnoídeos (Sakka, *et al.*, 2011). A produção do LCR é feita de forma contínua, tendo uma taxa de produção de 20ml/h e grande parte, cerca de 80 a 90%, é produzido por células especializadas, os plexos coroídeos, que estão presentes nos ventrículos laterais (Esperança Pina, 2000). O restante é produzido no terceiro e quarto ventrículo (Seeley *et al.*, 2008). O LCR é renovado cerca de 4 vezes a cada 24h (Sakka *et al.*, 2011) O líquido é essencialmente composto por glicose, proteínas e sais (Di Terlizzi & Platt, 2006).

O LCR, por cobrir o encéfalo, permite que este “flutue” na caixa craniana, não permitindo que esteja em contacto directo com a estrutura óssea protegendo-o dos eventuais choques que possam existir, como os decorrentes do movimento rápido da cabeça. Para além disso, tem a função de remover os metabolitos tóxicos, proporciona nutrientes necessários para um bom funcionamento do SNC e contribui para a homeostase garantindo uma boa actividade neuronal (Comar, *et al.*, 2009; Killer, 2013).

A formação e o percurso do LCR são exemplificados na Figura 6:

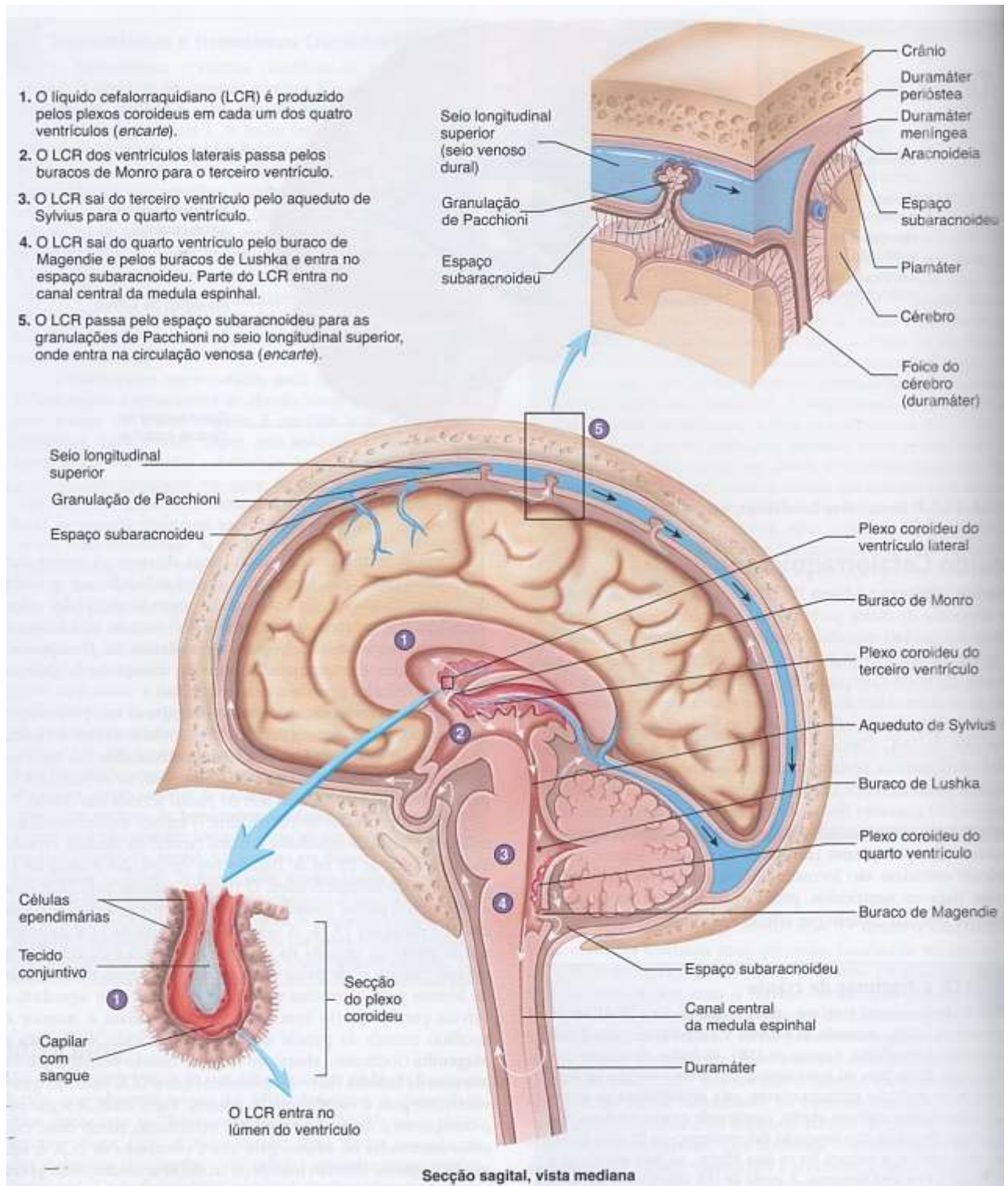


Figura 6: Formação e percurso do líquido cefalorraquidiano (fonte: Seeley *et al.*, 2008)

### 3. História das infecções do Sistema Nervoso Central

As infecções no sistema nervoso remontam à Era Neolítica, apesar de ser na Era Pré-Cristã que se inicia o estudo das mesmas por personalidades como Aristóteles, Hipócrates e Celso. Hipócrates fez algumas descrições de casos em que observou dores de cabeça acentuada, febre e alterações neurológicas em doentes (Tyler, 2009). Hoje em dia, estes sintomas poderão indicar que o doente sofre de uma meningite ou de uma encefalite.

Já no século XVII, Thomas Willis, médico britânico, foi o pioneiro do método experimental para analisar o sistema nervoso recorrendo sempre ao seu conhecimento em neuroanatomia e aos seus resultados dos estudos em fisiologia. Willis compilou todas as suas observações num livro designado «London Practise of Physick» que continha um capítulo designado «Of the Phrensy», cujo significado era descrito como um delírio ou uma privação das principais actividades do cérebro, resultando na inflamação das meninges ou em febre. Em 1661, ocorreu um surto epidémico de febre em Inglaterra que afectava sobretudo o SNC. Willis ao descrever esta epidemia acabou provavelmente por relatar um dos primeiros surtos de meningite meningocócica (Tyler, 2009).

No século XVIII, Robert Whytt, presidente da Universidade Real dos médicos de Edimburgo, e alguns dos seus colegas investigaram e caracterizaram uma nova doença designada hidrocefalia aguda ou edema cerebral. Mas é apenas em 1768 que o filho de Robert Whytt compila todas as investigações mais importantes da autoria do pai e as publica na obra «Observations of the most frequent species of the hydrocephalus internus», na qual são referidos pela primeira vez os edemas nos ventrículos cerebrais. Contudo, acredita-se que alguns doentes sofriam de alguma doença congénita que causava estes edemas enquanto que outros doentes sofriam de meningite tuberculosa (Tyler, 2009). No entanto, a ligação entre a *Mycobacterium tuberculosis* e a meningite levou mais de 100 anos a ser estabelecida (Matos, 2012).

Em 1789, Louis Odier, médico suíço, descreveu uma epidemia de meningite em Genebra. Referiu que a doença não era rara e que existia uma percentagem elevada de mortes sendo que uma grande maioria eram sobretudo crianças. Nos casos que seguiu, Louis Odier descreveu alguns doentes com picos febris elevados e um reflexo anormal das pupilas. Outra epidemia conhecida, provocada por meningococos, ocorreu perto de Genebra no ano de 1805 durante três meses e vitimizou 33 pessoas. Estes casos foram descritos pelo médico suíço Gaspard Vieusseux (Tyler, 2009). Quase ao mesmo tempo, nos Estados

Unidos da América, em Massachusetts, ocorreu também a primeira grande epidemia de meningite, ao que lhe atribuíram o nome de *spotted fever* (em tradução «febre sarapintada») por estar associada ao aparecimento de uma erupção cutânea (Klosterman, 2007).

Vinte anos mais tarde, já no século XIX, exactamente em 1825, Louis Senn, médico francês, dedica-se com mais detalhe à meningite tuberculosa em crianças, apesar de Whytt já ter descrito alguns casos em 1768. Depois das autópsias feitas às crianças, Senn observou pequenas placas no tecido cerebral assim como o aspecto das meninges que eram opacas e grossas o que era característico de doentes com meningite tuberculosa.

Em 1828, John Abercrombie, médico escocês, escreveu um livro sobre neuropatologia, onde dedica um capítulo às inflamações das membranas aracnóidea e pia-máter, empregando o termo meningite (Baxter, 1992; Tyler, 2009). Ao utilizar este termo, ele distinguia a inflamação da dura-máter das outras duas membranas. Depois do trabalho de John Abercrombie ser amplamente divulgado, o termo meningite tornou-se mais geral, apesar do termo ter sido primeiramente usado em 1803 por François Herpin, um cirurgião do exército francês. Herpin observou diversos casos de soldados que sofreram traumatismos na cabeça, e como consequência, uma infecção no SNC, mais concretamente inflamação nas meninges. Em alguns casos, ele reportou a presença de um líquido purulento aquando das autópsias dos soldados.

Com o decorrer dos anos, sentiu-se a necessidade de classificar as meningites, ou seja, separar as meningites agudas, das crónicas assim como dividir as meningites causadas por traumatismos daquelas que estão associadas a outras etiologias. E foi o que ocorreu em 1839, quando Louis Guersent propôs a classificação das mesmas (Tyler, 2009).

Quarenta e seis anos após a classificação das meningites, foi realizado pela primeira vez um exame ao LCR, sem ser pós-morte, por James Leonard Corning, um neurologista nova iorquino que descobriu a epidural inadvertidamente (Looseley, 2009; Tyler, 2009). Esta técnica viria a ser aperfeiçoada por Heinrich Quicke, um médico alemão dotado de uma excelente capacidade observacional, tornando possível a utilização da punção lombar até aos dias de hoje (Bergmann *et al.*, 1966; Tyler, 2009). Assim, foi possível relacionar o baixo teor de glucose no LCR com a presença de bactérias, estando esta descoberta em documentos de Ludwig Lichtheim, Jean Sabrazes e Arnold Netter (Tyler, 2009).

Com a evolução dos anos, Louis Pasteur na França e George Sternberg nos Estados Unidos, descreveram de forma independente, em 1881, pares de bactérias coccóides em forma de lanceta com o recurso da saliva humana. No caso de Pasteur, recorreu à saliva de uma criança que tinha morrido de raiva, ao contrário de Sternberg que utilizou a sua própria saliva. Ambos os investigadores injectaram a saliva em coelhos e posteriormente recolheram uma amostra de sangue para observar. Até à data já existia alguns relatos da identificação destas formas, mas apenas Pasteur e Sternberg demonstraram o potencial patogénico destas bactérias em animais. Assim apesar de ambos os investigadores identificarem o mesmo microrganismo, cada um atribui uma designação, sendo que Pasteur designou por *Microbe septicémique du salive* e Sternberg designou por *Micrococcus pasteurii* (Watson, et al., 1993).

Em 1886, Albert Fraenkel, médico alemão atribuiu a designação de *Pneumococcus* à bactéria por esta estar associada à doença pulmonar e por a terem isolado em pulmões infectados (Cartwright, 2001; NCBI, 2016; Tyler, 2009; Watson et al., 1993). A bactéria é então reclassificada para *Diplococcus pneumoniae* em 1920, apesar deste nome já ter sido proposto por Anton Weichselbaum, médico austríaco em 1886. Foi em 1974 que o *Diplococcus pneumoniae* passou a ter a classificação actual de *Streptococcus pneumoniae* (Watson et al., 1993). No ano de 1887, Anton Weichselbaum identificou, pela primeira vez, no LCR de doentes com meningite, *Neisseria meningitidis* (Cartwright, 2001; Tyler, 2009).

Entre 1892-1893, Richard Pfeiffer, médico alemão, identificou, pela primeira vez, diversos casos de doentes com *Haemophilus influenzae*, ao que ele pensava inicialmente ser o causador da gripe assim como das meningites e conjuntivites (Fildes, 1956; Klosterman, 2007; Tyler, 2009). Anos mais tarde, investigadores descobriram que a gripe não era causada por esta bactéria, mas sim por um vírus.

Crianças com meningite pneumocócica e que sobreviveram a esta infecção normalmente ficavam com sequelas, como a surdez e a cegueira (Klosterman, 2007). Enquanto que estas bactérias foram identificadas no século XIX, Listeria foi, pela primeira vez, isolada em 1929 por Nyfeldt na Dinamarca. Esta bactéria foi isolada a partir de organismos infectados com uma patologia mononucleose-like.

Em relação à evolução da terapêutica, no século XVII e XVIII recorria-se às sangrias para regular os humores e às infusões e ao leite de papoila para sedar os doentes

apesar de por vezes provocar o efeito contrário ao pretendido (Tyler, 2009). Enquanto que no século XIX uma forma de tratamento era a administração de substâncias aos doentes que provocavam o vômito e a diarreia. Uma dessas substâncias era o mercúrio, o que hoje em dia é impensável fazer-se por ser uma substância altamente tóxica. Outra forma de tratamento era a sudorese, em que se acreditava que através da transpiração se conseguia eliminar os agentes que provocavam a infecção.

É então que, no século XIX alguns médicos se dedicaram ao estudo de soros para combater as infecções dos doentes. Assim recorreram ao uso do sangue de animais vivos, normalmente de coelhos que foram primeiramente infectados. Posto isto, injectava-se no doente e esperava-se que o organismo fosse estimulado a produzir os anticorpos necessários à destruição das bactérias. Durante uns tempos o tratamento foi eficaz apesar de se desenvolver graves reacções alérgicas. Felizmente, que se descobriu os antibióticos e posteriormente a vacinação contra vários dos agentes bacterianos causais de meningite, o que permitiu ter um maior controlo na infecção e diminuir acentuadamente a taxa de mortalidade que existia até à data. (Klosterman, 2007)

É apenas no século XX, que se inicia o uso de antibióticos, sendo que a primeira classe antibiótica a ser utilizada foi a classe das sulfonamidas. Com o uso destes antibióticos foi possível observar uma descida abrupta no índice de mortalidade, por volta de 1930. Logo a seguir a esta classe de antibióticos, a penicilina tornou-se o medicamento mais utilizado no combate às meningites, graças à descoberta de Alexander Fleming em 1928. (Klosterman, 2007; Tyler, 2009)

Mais tarde, na década de 70, desenvolveu-se a vacina meningocócica polissacarídea, com a qual se obtiveram bons resultados, apesar de ter sido apenas nos anos 80 que foi introduzida no mercado a primeira vacina meningocócica tetravalente contra meningococos dos serogrupos A, C, Y e W (Sáfadi *et al.*, 2006; WHO, 2014). No fim dos anos 90 foi aprovada a vacina conjugada monovalente contra o serogrupo C e mais recentemente, em 2015, foi aprovada a vacina monovalente conjugada contra o serogrupo B (Novartis, 2015; WHO, 2014).

Nos anos 80 para além da introdução no mercado da primeira vacina meningocócica tetravalente, desenvolveu-se também a vacina conjugada contra *Hemophilus influenzae tipo b* (Tyler, 2009; World Health Organization, 2016). Recentemente, desenvolveu-se a vacina anti-pneumocócica 13-valente (EMA, 2015).

#### 4. Meningites – agentes etiológicos mais frequentes

A meningite é um processo inflamatório que envolve as meninges (aracnóide, pia-máter e duramáter) e o LCR. Pode ter uma etiologia infecciosa ou não infecciosa, sendo que a não infecciosa está relacionada com diversos factores como hemorragias na subaracnóide, traumatismos e neoplasias no SNC (Brasil, 1981; Meirelles *et al.*, 2011).

Na meningite infecciosa a infecção ocorre após a invasão do SNC e pode ser causada por bactérias ou meningites purulentas, vírus ou meningites assépticas, parasitas e fungos. Os agentes etiológicos de meningite mais frequentes são os seguintes:

- **Meningites purulentas**, nas quais as bactérias mais frequentemente envolvidas são *Neisseria meningitidis* (meningococo), *Streptococcus pneumoniae* (pneumococo) e *Haemophilus influenzae*. São infecções com elevada taxa de letalidade sem tratamento antibiótico;
- **Meningites assépticas** são as mais comuns e tendem a ser as menos graves do que as anteriores sendo causadas por vírus como os enterovirus ou o herpes simplex;
- **Meningites fúngicas**, são raras e podem ocorrer a partir da inalação de fungos no meio ambiente, por doentes imunossuprimidos como diabéticos, doentes oncológicos ou com infecção pelo vírus VIH;
- **Meningites causadas por parasitas**, são as menos comuns quando comparada com as meningites virais e bacteriana (CDC, 2016c; “CUF,” 2016).

Para além dos microrganismos acima descritos, a Tabela 1 apresenta outros agentes etiológicos.

Tabela 1: Agentes etiológicos das meningites (fonte: (Brasil, 1981)).

Bactérias	Vírus	Outros
<i>Neisseria meningitidis</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Mycobacterium Tuberculosis</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Pseudomona aeruginosa</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella sp</i> <i>Enterobacter sp</i> <i>Salmonella sp</i> <i>Proteus sp</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Leptospira sp</i>	<b>RNA Vírus</b> • Enterovirus • Arbovirus • Vírus do Sarampo • Vírus da Caxumba • Arenavírus - Coriomeningite linfocitária • HIV 1 <b>DNA Vírus</b> • Adenovirus • Vírus do grupo Herpes • Varicela Zoster • Epstein Barr • Citomegalovírus	<b>Fungos</b> • <i>Cryptococcus neoformans</i> • <i>Candida albicans</i> e • <i>C. tropicalis</i> <b>Protozoários</b> • <i>Toxoplasma gondii</i> • <i>Trypanosoma cruzi</i> • <i>Plasmodium sp</i> <b>Helmintos</b> • Infecção larvária da <i>Taenia solium</i> • <i>Cysticercus cellulosae</i> (Cisticercose)

Todos os casos de meningite bacteriana devem ser considerados emergências médicas, e por isso, deve-se iniciar terapêutica mesmo antes de se conhecer o agente etiológico (Meirelles *et al.*, 2011). Porém, dos agentes etiológicos de meningite bacteriana destaca-se *Neisseria meningitidis* que, do ponto de vista de saúde pública, é considerado o mais importante devido à sua potencialidade de causar surtos epidêmicos (Meirelles *et al.*, 2011; WHO, 2016). Este facto é periodicamente verificado no continente Africano onde ocorrem ondas epidêmicas de meningite meningocócica (WHO, 2016).

Tanto a taxa de mortalidade como o desenvolvimento de sequelas ou óbito variam de acordo com a idade (Tabela 2), condições clínicas prévias, agente etiológico, porta de entrada, gravidade da infecção e o atraso na instituição da terapia adequada (Brouwer, *et al.*, 2010).

Tabela 2: Agentes etiológicos da meningite bacteriana tendo em conta a faixa etária (fonte: (Albert Einstein Hospital Israelita, 2008))

Faixa etária	Agentes mais frequentes
Recém-nascidos e crianças até 3 meses de idade	<i>Streptococcus agalactiae</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i>
Dos 4 meses até 3 anos	<i>Haemophilus influenzae</i> do tipo b, <i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i>
Dos 3 aos 10 anos	<i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i>
A partir dos 10 anos	<i>Streptococcus pneumoniae</i> ,

Certas pessoas têm um risco acrescido de contrair meningite, tendo em conta alguns factores de risco:

- Idade: bebés têm maior risco de contrair meningite, principalmente se forem prematuros, tiverem baixo peso à nascença e se estiverem expostos a infecções provenientes da mãe (infecções no útero e sistema urinário), em comparação a outras faixas etárias. Contudo, em todos os grupos etários registam-se casos de meningite particularmente se existirem factores debilitantes
- Comunidade: quando não existe vacinação
- Condições médicas: certos medicamentos, como os corticosteróides, ou procedimentos cirúrgicos podem aumentar o risco da doença, como por exemplo intubação endotraqueal e o uso de cateter venoso
- Viagens: em certas zonas do globo como na África Subsariana, durante a estação seca ocorrem epidemias de meningite
- Indivíduos imunossuprimidos
- Alcoolismo e Cirrose
- Otites
- Pneumonia e Endocardite
- Deficiências nos factores da via do complemento
- Diabetes (“CDC: Bacterial Meningitis Infection,” 2016; Harrison 1999; Krebs *et al.*, 2004; Oliveira, *et al.*, 2013)

#### 4.1. Meningite por *Haemophilus influenzae*

##### 4.1.1. Características bacteriológicas do agente

*Haemophilus influenzae* é a principal bactéria patogénica pertencente ao género *Haemophilus* que por sua vez pertence à família *Pasteurellaceae* à qual pertencem outros géneros igualmente importantes como *Actinobacillus*, *Aggregatibacter* e *Pasteurella* que são responsáveis por outro tipo de patologias (Murray *et al.*, 2010; Musher, 1996).

A bactéria *H. influenzae* é caracterizada por ser um cocobacilo ou bastonete Gram negativo, pequeno e por vezes pleomórfico (altera a forma conforme a fase do seu ciclo de replicação) podendo ser capsulada ou não capsulada (Figura 7) (Meats *et al.*, 2003; Murray *et al.*, 2010). Quanto à sua morfologia, apresenta uma parede celular composta por lipooligosacáridos (LOS) e glicopeptídeos de baixo peso molecular e no caso de ser capsulada, uma cápsula com politribosil ribitol fosfato (PRP) (Aubrey *et al.*, 2003; Musher, 1996). É uma bactéria aeróbia facultativa, todavia apresenta dificuldades em se desenvolver na ausência do oxigénio (Collee, *et al.*, 1993; Murray *et al.*, 2010).

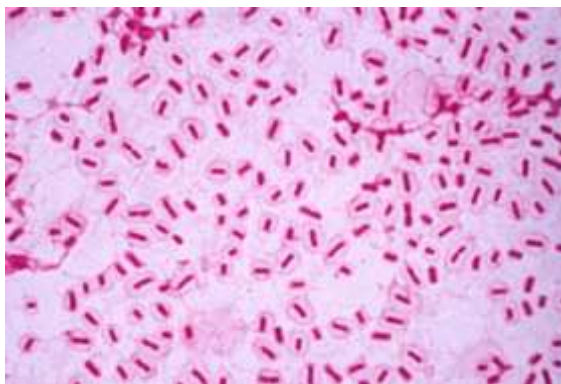


Figura 7: Morfologia do *Haemophilus influenzae* (fonte: [http://www.lookfordiagnosis.com/mesh\\_info.php?term=Haemophilus+Influenzae&lang=4](http://www.lookfordiagnosis.com/mesh_info.php?term=Haemophilus+Influenzae&lang=4))

Para um bom desenvolvimento das espécies de *Haemophilus* devem ter-se em consideração três factores: a composição do meio de cultura, a temperatura e a percentagem de dióxido de carbono. Em relação à composição do meio, factores como a hemina (factor X) e a nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD) (factor V) são essenciais para o crescimento de algumas das espécies.

O meio de cultura mais utilizado para o isolamento desta espécie é o agar chocolate, ou seja, contém sangue aquecido de forma a destruir não só os inibidores da

hemina mas também de libertar o NAD do sangue assim como a hemina das células sanguíneas hemolizadas. Este aquecimento é feito a partir do meio de cultura com sangue de cavalo mas também poderá ser feito a partir de sangue de carneiro (Murray *et al.*, 2010; Prior, 2012). Quanto à temperatura, a ideal para o crescimento será entre os 35 e os 37°C e a percentagem de dióxido de carbono será aproximadamente de 5%.

As colónias no meio de cultura são grandes, redondas, lisas, opacas e com uma tonalidade que varia entre o cinzento e o incolor, como se pode observar na Figura 8. Produzem um cheiro intenso designado por indol que é produzido segundo uma reacção que ocorre entra a enzima triptofenase com o triptofano existente no meio de cultura (Prior, 2012).



Figura 8: Colónias de *H. influenzae* no meio de cultura de ágar de chocolate (fonte: CDC, 2016)

Uma forma de distinguir as estirpes capsuladas das não capsuladas é pelo aspecto, tamanho e cor, uma vez que as capsuladas são mais mucoidais, pequenas e cinzentas (Prior, 2012).

As estirpes capsuladas ou estirpes tipificáveis estão envolvidas por polissacáridos antigenicamente diferentes e são classificados de a a f. Esta classificação é feita sorologicamente, contudo existe uma outra, a bioquímica em que se classifica por biótipos de I a VI. Esta última classificação é feita através de três reacções bioquímicas: a produção de indol, a actividade de urease e a actividade da ornitina descarboxilase (“CDC - *Haemophilus influenzae*,” 2016; Murray *et al.*, 2010; Prior, 2012).

As estirpes não capsuladas ou estirpes não tipificáveis têm esta designação por não estarem envoltas por polissacarídeos. A grande maioria das estirpes de *Haemophilus influenzae* tipo b (Hib) são biótipos I ou II enquanto que a maioria das estirpes não capsuladas são classificadas entre biótipos II a VI. As estirpes isoladas do biótipo I são as que causam pneumonia, já as estirpes isoladas na corrente sanguínea dos recém-nascidos infectados ou em mulheres com sépsis puerperal são biótipos IV (Musher, 1996).

Clinicamente, o tipo b é o mais virulento e tem sido uma das principais causas de morbidade e mortalidade, estando associado a mais de 95% das infecções invasivas, mais concretamente a meningite, sobretudo nas crianças com idade inferior a 5 anos (Bajanca-Lavado *et al.*, 2014; Murray *et al.*, 2010). Já nos adultos as estirpes não capsuladas são as responsáveis pela maior parte das infecções, uma vez que os adultos já adquiriram os anticorpos necessários contra o Hib (Musher, 1996). Apesar de o Hib ser o microrganismo associado às doenças invasivas também *Haemophilus influenzae* tipo a está frequentemente associado a sinusite, ao passo que os tipos e e f estão associados a infecções respiratórias (Collee, *et al.*, 1993).

Com a introdução das vacinas contra o Hib nas crianças, a maior parte das doenças invasivas diminuíram consideravelmente (Bajanca-Lavado *et al.*, 2014; Murray *et al.*, 2010). Por outro lado, existe um elevado risco de aparecimento destas doenças quando o hospedeiro possui algumas fragilidades, nomeadamente, alterações na barreira anatómica, alterações imunológicas e o contacto com crianças não vacinadas até aos quatro anos. Em relação às estirpes não capsuladas, estas raramente provocam doenças invasivas (Silva *et al.*, 2010).

Como reservatório, a bactéria *H. influenzae* pertence à flora comensal do ser humano estando presente no trato respiratório superior de mais de 60% de crianças e adultos saudáveis (Silva, *et al.*, 2010).

Quando existe uma infecção, a transmissão é feita por contacto directo, através de gotículas e secreções nasofaríngeas de doentes ou portadores assintomáticos. Apesar de deixar de ser transmissível ao fim de 24 a 48 horas após o início de uma terapêutica eficaz, a porta de entrada mais comum é a nasofaringe. Quanto ao período de incubação, pensa-se ser à volta de 2 a 4 dias, apesar de ainda não existir confirmação.

A forma mais comum da doença aparecer é sob a forma de casos isolados (casos primários ou endêmicos), ou seja, é quando a transmissão parte de um portador assintomático, no entanto, também poderá acontecer sob a forma de casos secundários, que é quando a transmissão ocorre a partir de outros casos (SARA., 1999).

#### 4.1.2. Patogénese

*Haemophilus influenzae* faz parte da flora comensal do trato respiratório superior e pode provocar doenças sistémicas por invasão, através da penetração das camadas epiteliais e do endotélio capilar (Aubrey *et al.*, 2003). Esta invasão verifica-se nas estirpes capsuladas e, não acontece com as estirpes não capsuladas.

Como já foi referido, a maior parte dos adultos é infectado pelas estirpes não capsuladas e por isso, as menos virulentas. Por serem pouco virulentas são incapazes de penetrar directamente nos vasos capilares e por isso quando ocorrem infecções muitas vezes estão associadas a outras já existentes como é o caso das infecções no ouvido médio e/ou traumatismo craniano (Musher, 1996). Relativamente às estirpes capsuladas, estas conseguem penetrar directamente nos vasos capilares.

Os factores de virulência são fundamentais no auxílio da colonização do hospedeiro e neste caso a cápsula com PRP é crucial (Aubrey *et al.*, 2003; Murray *et al.*, 2010).

Para que ocorra invasão os constituintes da parede celular (lipo-oligosacarídeos e glicopeptídeos de baixo peso molecular) irão destruir o epitélio respiratório o que permitirá a passagem do microrganismo para a corrente sanguínea. Já na corrente sanguínea os leucócitos irão tentar fagocitar o Hib, mas sem sucesso uma vez que este possui cápsula tornando-o anti-fagocitário. (Aubrey & Tang, 2003)(Harrison, 1999). *H. influenzae* é ainda capaz de produzir proteases que facilitam a colonização das superfícies das mucosas (Aubrey *et al.*, 2003).

Se um individuo não possuir anticorpos opsonizantes específicos direccionados contra a cápsula, poderá levar a um desenvolvimento de bacteriemia intensa, com a disseminação para as meninges ou outro foco distal. Todavia, se os anticorpos estiverem presentes, o que só é possível através da vacinação com PRP purificado, ou transferência passiva de anticorpos maternos, pode-se evitar a infecção (Murray *et al.*, 2010).

#### **4.1.3. Manifestações clínicas**

As espécies de *Haemophilus* causam uma variedade de síndromas clínicos. O Hib é o agente patogénico responsável pela meningite que foi muito comum em crianças com idades compreendidas entre 6 meses a 2 anos, antes da introdução da vacina. A infecção é caracterizada por dores de cabeça, náuseas com ou sem vômito, confusão, sensibilidade à luz, meningismo podendo evoluir para coma, e morte no caso de o tratamento ser aplicado tardiamente. Com o tratamento adequado, sequelas como surdez e dificuldades de aprendizagem têm a tendência a diminuir (Musher, 1996). Porém, Hib é também o responsável por causar outras infecções como a epiglote, celulite e bacteriemia.

Quanto às estirpes não capsuladas, estas podem provocar otites médias, principalmente nos bebés e nas crianças pequenas, bronquite e pneumonia nos adultos, em especial se já existir alguma doença subjacente nos brônquios ou pulmões ou se for doente imunodeprimido (CDC, 2016c; “CDC - Hib” 2016; Harrison, 1999; Musher, 1996; SARA.,1999). As estirpes não capsuladas podem provocar também sinusite aguda ou crónica em qualquer idade e infecções obstétricas que pode levar à transmissão materno-fetal do microrganismo, parto prematuro e elevada mortalidade dos lactentes (Harrison, 1999; Musher, 1996).

#### **4.1.4. Profilaxia e controlo**

##### **Quimioprofilaxia**

Todas as crianças com idade inferior a 6 anos e que tiveram contacto com um caso de meningite por *H. influenzae*, devem ficar sob vigilância para o caso de desenvolverem algum tipo de sintoma. Os indivíduos que apresentem febre, quer estejam ou não imunizados devem ser avaliados por um médico (SARA., 1999).

Embora não exista consenso relativamente à necessidade de fazer quimioprofilaxia dos contactos de um caso índice de doença invasiva, quando é instituída deve ser iniciada nas primeiras 24 horas após o contacto e de acordo com as normas de procedimento do Sistema de Alerta e Resposta Apropriada (SARA) da Direcção Geral de Saúde (DGS) (Musher, 1996; SARA., 1999).

O antibiótico de eleição para a profilaxia é a rifampicina que é administrada 20 mg/kg/dia (miligramas/quilograma/dia) durante 4 dias em adultos e crianças com idade superior a três meses. A crianças com idade inferior a 3 meses deve ser administrado 10 mg/kg/dia durante 4 dias. A dose máxima a ser administrada é de 600 mg. Grávidas e lactantes devem também fazer profilaxia com rifampicina. Os indivíduos que façam anticoagulantes, anticonvulsivantes e contraceptivos orais devem ser alertados para o facto da rifampicina interagir com os mesmos (SARA., 1999).

## Vacinação

Visto que as doenças invasivas são provocadas maioritariamente pelo subtipo b houve necessidade de formular uma vacina contra o Hib (Kelly, *et al.*, 2004).

Durante os primeiros dois anos de vida existe um elevado risco de infecção pelo Hib e uma vez que os PRP são antigénios T-independentes a vacina formulada teve de conjugar os PRP com uma proteína transportadora de forma a criar a imunogenicidade necessária à protecção das crianças (Kelly *et al.*, 2004). Como já foi referido, a vacina é produzida pelo método da conjugação e por isso o antigénio T-independente passa a ser T-dependente melhorando significativamente a imunogenicidade, ou seja, há indução da produção dos anticorpos anti-PRP mesmo em crianças com menos de 6 meses de idade (CDC, 2015; Kelly *et al.*, 2004). Outra vantagem é as doses das vacinas conjugadas promoverem um reforço da maturação da imunidade específica das IgG.

Actualmente existem quatro tipos de vacinas monovalentes disponíveis em que a principal diferença entre elas são as diferentes proteínas transportadoras. Na Tabela 3 é possível observar as diferentes vacinas conjugadas.

Tabela 3: Vacinas conjugadas para Hib (fonte: (CDC, 2015; Dias, 1997; Street, 2009))

<b>Tipo</b>	<b>Nome comercial</b>	<b>Proteína transportadora</b>
<b>PRP-D</b>	Prohibit®	Toxoide diftérico
<b>HbOC</b>	Hibtiter®	Proteína conjugada diftérica CRM197
<b>PRP-OMP</b>	PedvaxHid®	Complexo proteico da membrana exterior de <i>Neisseria meningitidis</i>
<b>PRP-T</b>	ActHib® Hiberix®	Toxoide tetânico

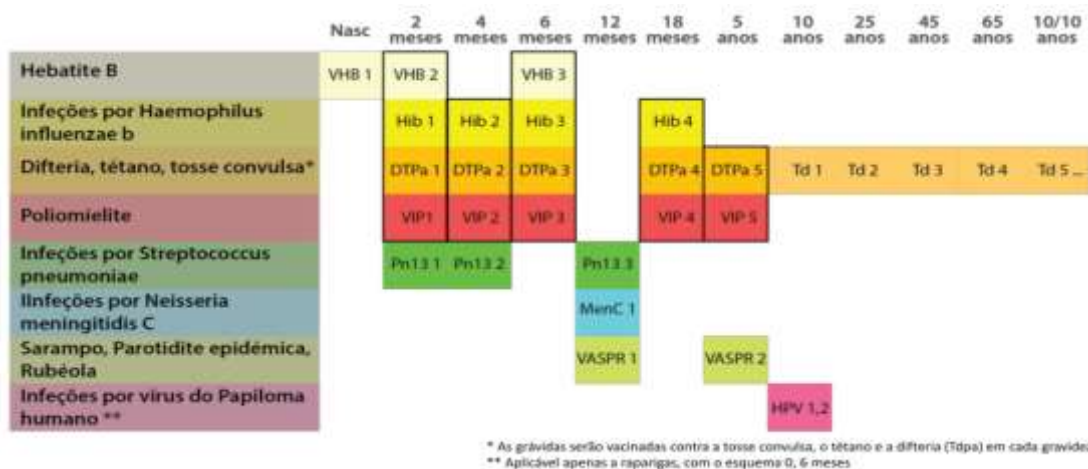
Em Portugal, começou-se por comercializar em 1994, a vacina Hiberix® fazendo parte do Plano nacional de vacinação (PNV) desde 2000 (Bajanca-Lavado *et al.*, 2010). Esta vacina é administrada segundo o esquema de 4 doses em que as doses são administradas aos 2, 4 e 6 meses e uma dose de reforço por volta dos 15-18 meses de idade. Porém, a primeira dose pode ser administrada após as primeiras 6 semanas de vida (FDA, 2009).

A administração da vacina apenas é feita a partir dos 2 meses de idade, porque antes disso pensa-se que pode existir uma tolerância imunológica e assim reduzir a resposta às doses subsequentes (DGS, 2016; WHO, 2016).

Crianças com mais de 5 anos de idade e adultos geralmente não necessitam desta vacina, mas poderá ser recomendada, no caso de os indivíduos não possuírem baço, tiverem uma doença falciforme ou tiverem sofrido um transplante de medula óssea. Poderá ser também recomendada para pessoas dos 5 aos 18 anos de idade que tenham HIV (Vírus da Imunodeficiência Humana)(CDC, 2015).

Desde 2006 que se integrou a vacina Hiberix® nas vacinas DTPa (difteria, tétano e coqueluche) e VIP (poliomielite) originando a vacina pentavalente. Mais tarde, desenvolveu-se a vacina hexavalente, ou seja, uma vacina combinada de DTPa, Hib, VHB (hepatite B) e VIP que é utilizada em crianças e lactentes para vacinação primária e de reforço. A administração é feita aos 2, 3 e 4 meses ou aos 2, 4 e 6 meses com uma dose de reforço aos 12 meses e encontra-se no PNV (Tabela 4) (DGS, 2016; Mallet *et al.*, 2004).

Tabela 4: Programa de vacinação recomendado para 2017 (fonte: (DGS, 2016))



#### 4.1.5. Epidemiologia

A implementação das vacinas alterou drasticamente a epidemiologia da meningite causada por Hib, como é o caso dos Estado Unidos que antes da introdução das vacinas conjugadas os casos de meningite representavam cerca de 45 a 48% das meningites bacterianas em crianças com menos de 5 anos de idade (Brouwer *et al.*, 2010; CDC, 2015)

Após a introdução das vacinas por volta de 1980 a incidência diminuiu consideravelmente, para 7% dos casos de meningite bacteriana. De 2003 a 2010 registou-se uma média de 2562 casos de infecções em todas as idades, no entanto, 398 casos foram registados entre crianças de idades inferiores a 5 anos.

No período de 2010 a 2011, cerca de 33% das crianças com menos de 5 anos algumas delas com menos de 6 meses de idade foram infectadas com Hib e eram muito jovens para terem completado a série de vacinação que é composta por três vacinas. No mesmo período de tempo cerca de 36% das crianças com idades entre 6 meses e 5 anos todas elas com a série de vacinação completa, inclusive algumas delas com a dose de reforço foram infectadas por Hib e desconhece-se a causa da falha. Provavelmente terá sido por outro sorotipo (CDC, 2015).

Nos países industrializados desde a introdução da vacina conjugada os casos diminuíram em cerca de 90% como é possível constatar na Tabela 5 (Brouwer *et al.*, 2010).

Tabela 5: Incidência da meningite por Hib em crianças dos 0 aos 5 anos em diversos países industrializados antes e após a vacinação (fonte: (Brouwer *et al.*, 2010))

Área geográfica / ano em comparação	Número de casos/100 000	
	Pré-vacinação	Pós-vacinação
Estados Unidos (1987 vs 1995)	54	<1
Canadá (1985 vs 1994)	~44	<1
Brasil (1988-1996 vs 1997)	22	10
Chile (1995 vs 1998)	40	<2
Uruguai (1992-1993 vs 1995)	17-22	1
Escandinávia (1970s vs 1995)	31	<1
Áustria (1991 vs 1993-1996)	11	<1
Holanda (1970s vs 1993-1994)	22-40	0.3
Espanha (1993-1995 vs 1997)	14	~0
Suíça (1976-1990 vs 1991-1993)	25	8
Reino Unido (1991-1992 vs 1993-1994)	15	0.6
Israel (1989-1992 vs 1995)	18	<1
Austrália (1991-1992 vs 1993-1994)	21	6

Apesar dos sucessos obtidos com a vacinação conjugada, houve relatos de casos de doenças invasivas por Hib em crianças previamente vacinadas no Reino Unido, talvez porque não se fazia uma dose de reforço. Mais tarde, com a introdução desta dose verificou-se um declínio dos casos tanto em crianças como em adultos (Brouwer *et al.*, 2010).

Na Europa, à semelhança do que se passou nos Estado Unidos antes da introdução das vacinas conjugadas, o Hib causou a maior parte das doenças invasivas, principalmente nas crianças com menos de 5 anos de idade, enquanto que as estirpes não capsuladas estavam envolvidas noutras infecções. Porém, na década de 90 os países da União Europeia introduziram a vacinação na infância o que demonstrou uma diminuição abrupta das infecções por Hib. No entanto, existe uma preocupação quanto às possíveis mudanças na epidemiologia da doença invasiva, como a alteração do serotipo e a alteração para grupos de idade mais avançada.

Dados de 2012 que foram recolhidos pelo Sistema Europeu de Vigilância demonstraram que, neste ano ocorreram pelo menos 3545 casos de infecção por *Haemophilus influenzae*, dos quais 77% dos casos eram infecções causadas por estirpes não capsuladas em crianças com menos de um ano de idade, e 20% dos casos eram

causados por Hib em crianças e adolescentes. Nestes casos foram também notificadas algumas infecções em idosos.

Durante o período de 2008 a 2012 as taxas de notificação para casos de infecção por estirpes não capsuladas aumentaram, rondado os 80% nas faixas etárias dos 15 aos 24 anos e nos idosos enquanto que as notificações para Hib diminuíram quase 50%, em crianças com idade inferior a 5 anos. No entanto, cerca de 21% dos casos de meningite resultaram da presença de Hib. A diminuição do serotipo b que se tem vindo a verificar, é graças aos programas de vacinação que são aplicados pela maioria dos Estados-Membros, contudo as doenças invasivas por *Haemophilus influenzae* continua a ser um problema de saúde e afecta principalmente crianças e bebés (ECDC, 2013).

Estudos de vigilância realizados no Brasil antes e após a introdução da vacina, concluíram que a incidência de Hib diminuiu cerca de 69% dos casos enquanto que a incidência de outras estirpes aumentaram cerca de 9 vezes, nomeadamente o sorotipo a.

Em países subdesenvolvidos, o uso de vacinas conjugadas ainda não foi estudado aprofundadamente, no entanto, existe um ensaio em crianças gambianas que ao recorrer a estas vacinas a incidência anual de Hib passou dos 200 casos de meningite por 100 000 crianças com idade inferior a 1 ano de 1990 a 1993 para nenhum caso em 2002 (Brouwer *et al.*, 2010).

## 4.2. Meningite pneumocócica

### 4.2.1. Características bacteriológicas do agente

*Streptococcus pneumoniae* é uma bactéria que pertence à família Streptococcaceae. É caracterizada por ser um coco Gram positivo, imóvel, disposto aos pares (diplococos) ou em cadeia curta, apresentando um formato oval ou em forma de lança (Figura 10). Todas as estirpes isoladas possuem cápsula e até ao momento conhece-se mais de 90 sorotipos. É uma bactéria hemolítica, aeróbia facultativa e fermentadora de diversos hidratos de carbono, obtendo-se o ácido láctico como um produto metabólico primário (“CDC - Pneumococcal Disease,” 2016; Collee, *et al*, 1993; Murray *et al.*, 2010).

Os pneumococos é um microrganismo fastidioso e apresenta algumas necessidades nutricionais, que são satisfeitas por meios ricos em produtos sanguíneos. Para além disso, o crescimento é potenciado em atmosfera com 5% a 10% de dióxido de carbono e a uma temperatura óptima de 37°C. Em meios que contenham glicose, o crescimento é muito difícil, uma vez que os níveis de ácido láctico são bastante elevados, atingindo concentrações tóxicas.

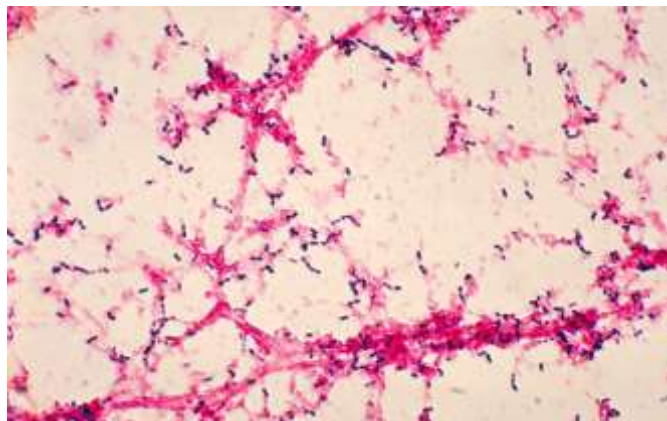


Figura 9: Morfologia de *Streptococcus pneumoniae* (fonte: CDC,2016)

Assim sendo, o meio de cultura utilizado é o agar de sangue, visto que no agar de chocolate foi observada uma concentração elevada de peróxido de hidrogénio inibindo deste modo o crescimento do pneumococos (Collee, *et al*, 1993; Murray *et al.*, 2010).

As colónias no meio de cultura são pequenas, lisas, transparentes, um pouco convexas inicialmente, tornando-se posteriormente achatadas ou com aparência côncava, visto que tendem a sofrer autólise (Collee, *et al*, 1993; Murray *et al.*, 2010).

Quando as colónias são incubadas em aerobiose, estas são designadas de colónias  $\alpha$ -hemolíticas (alfa-hemolíticas), que são o resultado da expressão da pneumolisina, uma enzima que degrada a hemoglobina e, como consequência, há uma aparência esverdeada da gelose. Caso as colónias sejam incubadas em anaerobiose, estas são designadas por colónias  $\beta$ -hemolíticas (beta-hemolíticas) (Figura 11) (Murray *et al.*, 2010; Patterson, 1996).



Figura 10: Colónias de *Streptococcus pneumoniae*  $\alpha$ -hemolíticas e  $\beta$ -hemolíticas (fonte: <https://www.studyblue.com/notes/n/microbiology-lab-study-guides/deck/8055624>).

*Streptococcus pneumoniae* é a principal causa de mortalidade e morbidade em crianças pequenas e adultos. Até ao momento, foram identificados mais de 90 sorotipos, sendo os sorotipos 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9V, 12F, 14, 18C, 19A, 19F e 23F os responsáveis por causar algumas patologias, como doenças pneumocócicas invasivas (meningite e septicémia), otite média, sinusite e pneumonia. Em relação às doenças pneumocócicas invasivas os sorotipos 1, 4, 5, 7F, 8, 12F, 14, 18C, 19A são os mais frequentes (Browall *et al.*, 2014; Song, *et al.*, 2013).

Os pneumococos tem como reservatório único, a nasofaringe do ser humano, sendo que a colonização é mais comum em crianças e em adultos que convivem com crianças, nos quais é possível encontrar a bactéria no trato respiratório superior (Murray *et al.*, 2010; Song *et al.*, 2013). No caso de ocorrer uma infecção a transmissão ocorre por contacto directo, através de gotículas, como tosse e espirros ou por contacto indirecto, através de objectos contaminado (Mook-Kanamori, *et al.*, 2011; SARA., 1999).

Existem alguns factores que contribuem para o aumento do risco da doença invasiva, sendo eles, a debilidade do sistema imunitário, problemas respiratórios crónicos, tabagismo, entre outros. (“CDC: Pneumococcal Transmission,” 2016)

#### 4.2.2. Patogénese

Certos sorotipos têm maior probabilidade de causar doenças invasivas uma vez que fazem parte da flora comensal.

A virulência é determinada não só pela capacidade de colonização da nasofaringe, pela disseminação para compartimentos anatómicos naturalmente estéreis, como os pulmões, seios paranasais e ouvido médio, mas também pelo estímulo da resposta inflamatória local. O mecanismo de patogenicidade ainda permanece incerto, mas sabe-se que os principais factores de virulência são a cápsula e o ácido teicoico (Henriques-Normark *et al.*, 2013; Murray *et al.*, 2010).

Uma vez na nasofaringe, o pneumococos tem como prioridades a adesão, nutrição e replicação e quando oportuno penetra o epitélio. Isto é possível devido à presença de toxinas, como a pneumolisina e a presença de permeases, que têm a capacidade de destruir as células epiteliais e deste modo promover a penetração do microrganismo na corrente sanguínea. Posto isto, tanto o ácido teicoico presente na parede celular como as toxinas irão mediar a mobilização das células inflamatórias, como os leucócitos ao local da infecção. Contudo devido à presença da cápsula o pneumococos torna-se resistente à fagocitose (Murray *et al.*, 2010; Patterson, 1996).

#### 4.2.3. Manifestações clínicas

*Streptococcus pneumoniae* continua a representar um problema médico grave sendo a principal causa de infecções focais e sistémicas, como a meningite bacteriana, pneumonia, endocardite e sépsis em adultos (Kosina, *et al.*, 2013; Patterson, 1996).

A meningite causada por esta bactéria pode ocorrer ou por infecção primária ou pela presença de doenças crónicas que poderão levar a infecções pneumocócicas. Contudo o seu aparecimento pode ser devido a uma otite, sinusite, conjuntivite, complicações da pneumonia e/ou após fractura do crânio com atingimento directo do LCR (Harrison, 1999; Kosina *et al.*, 2013). Os doentes com meningite apresentam um quadro súbito de febre, meningismo, cefaleias, confusão e sensibilidade à luz (“CDC: Pneumococcal Symptoms,” 2016).

Cerca de 20% a 30% das crianças com meningite provocada por *Streptococcus pneumoniae* podem desenvolver convulsões. O mesmo acontece com *Haemophilus influenzae*. Um estudo recente sugeriu que a presença de convulsões complexas aumenta para mais do dobro o risco de meningite. (Tacon, *et al.*, 2012)

#### **4.2.4. Profilaxia e controlo**

De modo a prevenir o aparecimento de doenças invasivas por pneumococos é essencial apostar numa vacinação. Actualmente existem dois tipos de vacinas anti-pneumocócicas disponíveis em Portugal:

- A vacina polissacarídea 23-valente (VPP23) que protege contra os sorotipos 1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F, 33F, contudo não é utilizada em crianças com idade inferior a dois anos, visto que a resposta imunológica a antigénios polissacáridos é timo-independente. Esta vacina tem sido reservada para grupos de risco acima desta idade que possuam imunodeficiência adquirida, incluindo HIV e/ou doenças crónicas que incluam a doença cardíaca, doença pulmonar e insuficiência renal.

- As vacinas anti-pneumocócicas conjugadas, em que os antigénios capsulares são conjugados com proteínas e desencadeiam respostas imunológicas timo-dependente. Estas vacinas têm a vantagem de serem eficazes, mesmo em lactentes e em crianças com menos de 2 anos, visto que esta faixa etária apresenta um elevado risco de doenças invasivas. Outra vantagem, contrariamente à VPP23, é induzirem a memória imunológica, actuando no estado de portador nasofaríngeo e conseqüentemente conferirem protecção indirecta a não vacinados (Sociedade, 2003).

Assim as vacinas conjugadas são:

- A vacina anti-pneumocócica heptavalente (VCP7), designada por Prevenar7® contém os sorotipos 4, 6B, 9V, 14, 18 C, 19F e 23F, foi introduzida em Portugal em 2001, mas não faz parte do PNV (Sociedade de infecciologia Pediátrica, 2003). Os sorotipos incluídos nesta vacina foram escolhidos segundo a sua frequência em crianças com doença pneumocócica invasiva. A maior parte dos estudos realizados com esta vacina mostraram a sua eficácia na protecção contra as doenças invasivas (Browall *et al.*, 2014).

- A vacina anti-pneumocócica 10-valente (VCP10) designada por Synflorix®, inclui 3 novos sorotipos o 1, 5 e 7F para além daqueles que estão na VCP7. A introdução destes novos serotipos proporcionou proteção contra a pneumonia (Browall *et al.*, 2014; Sociedade, 2003).

Quanto ao esquema de administração das vacinas quer da VCP7 quer da VCP10, variam de acordo com a idade da criança:

- Se inicia entre os 2 e os 6 meses de idade, são necessárias 3 doses com um intervalo mínimo de um mês entre cada dose. Aconselha-se uma quarta dose de reforço aos 2 anos.
- Se inicia entre os 7 e os 11 meses de idade, são necessárias 2 doses administradas com um intervalo mínimo de um mês. Aconselha-se uma terceira dose de reforço aos 2 anos.
- Se inicia entre os 12 e os 23 meses de idade são necessárias 2 doses administradas com um intervalo mínimo de 2 meses (Sociedade, 2003).

- A vacina anti-pneumocócica 13-valente (VCP13) designada por Prevenar 13® para além de incluir os sorotipos da VCP10 inclui os sorotipos 3, 6A e 19A. Com a introdução destes novos sorotipos a vacina confere mais proteção contra doenças invasivas, pneumonia e otites médias em crianças com idades compreendidas entre as 6 semanas e os 17 anos e nos adultos confere proteção contra doenças invasivas e pneumonia. O sorotipo 6A tem sido associado a uma diminuição da susceptibilidade aos antibióticos. Recentemente esta vacina foi introduzida no PNV (Cedime, 2014; EMA, n.d.-a, 2015).

O esquema de administração recomendado para a vacina VCP13 é feito da seguinte forma:

- Crianças com idades compreendidas entre 2 a 6 meses são recomendadas quatro doses sendo que as primeiras três doses são administradas com um intervalo de um mês entre cada dose e a quarta dose (dose de reforço) é administrada entre os 11 e os 15 meses de idade. Em alternativa, quando o Prevenar 13® é administrado no âmbito de um programa de imunização de rotina, podem ser administradas duas doses, a primeira aos dois meses de idade e a segunda aos quatro meses, seguidas de uma dose de reforço entre os 11 e os 15 meses de idade;

- Em crianças com idades compreendidas entre os 7 e 11 meses, é recomendado o esquema de duas doses, com um intervalo de pelo menos um mês entre cada dose, e de uma terceira dose aos 2 anos;

- Em crianças com idades compreendidas entre os 12 e os 23 meses devem receber duas doses, com um intervalo de pelo menos dois meses entre cada uma;

- Em crianças com idade superior a 2 anos e adultos apenas recebem uma dose (EMA, 2015).

A Tabela 6 é um resumo das três vacinas conjugadas (VCP7, VCP10, VCP13) (Sociedade, 2003).

Tabela 6: Tabela resumo das três vacinas conjugadas (fonte: (EMA, n.d.-a; Sociedade, 2003))

<b>Vacina</b>	<b>Prevenar 7®</b>	<b>Synflorix®</b>	<b>Prevenar 13®</b>
<b>Ano de comercialização em Portugal</b>	2001	2009	2010
<b>Sorotipos</b>	4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F e 23F	1, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F e 23F	1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F e 23F
<b>Proteína de transporte</b>	Toxóide diftérico	Proteína D de Hi; Toxóide tetânico; Toxóide diftérico	Toxóide diftérico
<b>Esquemas aprovados pela EMEA</b>	3+1 <sup>a</sup>	3+1 <sup>a</sup>	3+1 <sup>a</sup>
<b>Co-administração com outras vacinas do PNV</b>	Possível	Possível	Possível
<b>Aprovada para os grupos etários</b>	2M – 5A	6 semanas – 2A	A partir dos 2 meses

<sup>a</sup> 3 doses no 1º ano de vida (com início até aos 6 meses de vida), com intervalo mínimo de 4 semanas e reforço dos 12 aos 15 meses

#### 4.2.5. Epidemiologia

*Streptococcus pneumoniae* é o agente etiológico mais comum da meningite bacteriana tanto nos Estados Unidos como na Europa, de momento. A estratégia para uma redução da incidência passa pela vacinação. Estudos iniciais realizados ao LCR de doentes com meningite pneumocócica demonstraram que os sorotipos isolados representavam cerca de 74 a 90% dos sorotipos presentes na VPP23 que era utilizada em idosos e imunocomprometidos (Brouwer *et al.*, 2010; Henriques-Normark *et al.*, 2013).

Uma vez que são as crianças com menos de 2 anos as mais vulneráveis às doenças pneumocócicas invasivas e como a vacina 23 valente não tem eficácia nesta faixa etária, foram desenvolvidas as vacinas pneumocócicas conjugadas, como a VCP7 que inclui os sorotipos 4, 6B, 9V, 14, 18 C, 19F e 23F e que contem os antígenos mais frequentemente encontrados em crianças pequenas; a VCP10 que inclui 1, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18 C, 19F e 23F e mais recentemente a VCP13 que inclui os sorotipos 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F e 23F (Brouwer *et al.*, 2010; EMA, 2015; Henriques-Normark *et al.*, 2013; Sociedade, 2003).

Um estudo realizado com a VCP7 avaliou a eficácia em lactentes e crianças e conclui-se que a prevenção das doenças invasivas era cerca de 97,4% o que contribuiu para o declínio da meningite pneumocócica em cerca de 59% das crianças com menos de 2 anos de idade. Segundo, o Serviço Nacional de Internamento, a taxa de incidência da meningite pneumocócica em crianças com menos de 5 anos diminuiu para 33% após a introdução da vacina conjugada (Brouwer *et al.*, 2010).

Em 2012 foram confirmados 20785 casos de doença pneumocócica invasiva na União Europeia sendo que a maior parte destes casos afectaram os lactentes e os idosos. Os sorotipos mais comuns nestes casos foram os sorotipos 3, 7F, 19A, 1, 22F, 8, 14, 12F, 6C e 15A em que o sorotipo 3 foi responsável por alguns óbitos (ECDC, 2013). Para além do sorotipo 3 causar a morte, também os sorotipos 6B e 19F o poderão fazer apesar destes possuírem menor potencial de invasão (ECDC, 2013; Henriques-Normark *et al.*, 2013).

Entre 2010 e 2012 observou-se uma tendência decrescente das infecções provocadas pelos sorotipos que estão incluídos na VCP7, um aumento dos sorotipos 6C, 8, 12F, 22F e 15A, e nenhuma alteração nos sorotipos 3 e 7F. De forma a reverter o aumento dos sorotipos 6C, 8, 12F, 22F e 15A, desenvolveu-se a VCP13 que os engloba, com excepção dos sorotipos 6C e 15A que por enquanto ainda não estão integrados em

nenhuma vacina, apesar de começarem a ser muito comuns nas infecções pneumocócicas (ECDC, 2013).

O aparecimento de sorotipos não vacinais é uma questão crucial e a monitorização contínua é fundamental para avaliar as tendências das mudanças dos sorotipos e a eficácia das intervenções de forma a desenvolver novas vacinas.

Estudos de vigilância de sorotipos que provocam doenças pneumocócicas invasivas em países subdesenvolvidos demonstraram que a VCP7 actualmente não cobriria todos os sorotipos causadores de doenças invasivas e por isso o mais indicado seria recorrer as VCP10 e VCP13 (Brouwer *et al.*, 2010).

### 4.3. Meningite meningocócica

#### 4.3.1. Características bacteriológicas do agente

*Neisseria meningitidis* ou meningococos, como é vulgarmente designada, é uma bactéria que pertence à família *Neisseriaceae*, tal como outros géneros igualmente importantes, nomeadamente *Moraxella*, *Kingella*, e *Acinetobacter* (Morse, 1996).

Os meningococos são caracterizados, por serem diplococos Gram negativo, ovais (idênticos aos grãos de café), imóveis, de crescimento fastidioso, aeróbios e com capacidade de fermentar a glicose e a maltose levando à libertação de ácidos, e oxidase positiva (Figura 12) (Collee, *et al*, 1993; Murray *et al.*, 2010). É uma bactéria não hemolítica e possui cápsula, ou seja, existem diversos serogrupos definidos em função das características antigénicas dos polissacáridos capsulares (Faria & Farhat, 1999). Assim, já foram identificados 13 serogrupos sendo A, B, C, H, I, K, L, M, X, Y, Z, 29E e W (Manchanda, *et al.*, 2006)

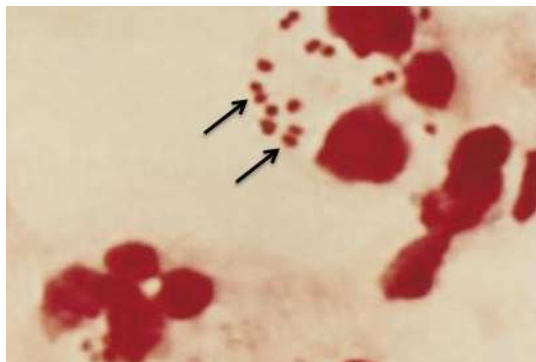


Figura 11: Morfologia de *Neisseria meningitidis* (fonte: CDC, 2016)

Clinicamente os serogrupos com maior importância são os serogrupos A, B, C, W, X, Y, 29E e Z, com especial incidência para os seis primeiros que provocam doenças invasivas como septicémia e meningite (Hedari, *et al.*, 2014; Lewis *et al.*, 2003; Morse, 1996). As doenças pneumonia, miocardite e pericardite são as menos frequentes de aparecer (Hedari *et al.*, 2014).

A bactéria *Neisseria meningitidis* quando incubada durante 24h, gera colónias com uma aparência cinzenta, translúcida e de forma convexa (Figura 13). Ao fim de 48h as colónias são maiores, com o centro opaco e elevado e as margens finas e transparentes (Figura 14). Estas colónias são possíveis de verificar no meio de gelose-sangue, já no meio

gelose-chocolate as colónias apresentam o mesmo aspecto só que a dimensão é maior. Em atmosfera húmida, com 5% a 10% de dióxido de carbono e a uma temperatura óptima de 35-36°C este microrganismo apresenta um bom desenvolvimento (Collee, *et al*, 1993).



Figura 12: Colónias de *Neisseria meningitidis* em meio de ágar de sangue com 24h de incubação (fonte: CDC, 2016)



Figura 13: Colónias de *Neisseria meningitidis* em meio de ágar de sangue com 48h de incubação (fonte: CDC, 2016)

O reservatório de meningococos é exclusivo do ser humano, normalmente na nasofaringe tanto de portadores assintomáticos como sintomáticos. A taxa de colonização assintomática do trato respiratório superior é de 10% na faixa etária dos 0-14 anos e de 30% na faixa etária dos 15-20 anos. Após estas idades a tendência da colonização é diminuir (SARA., 1999). Os mecanismos de transmissão, são geralmente por contacto directo através de gotículas (tosse e espirros), secreções e proximidade física. O período de incubação normalmente não ultrapassa os 3-4 dias, mas poderá variar entre 2 a 10 dias (“CDC: Meningococcal,” 2016; SARA., 1999).

Em menos de 1% de indivíduos colonizados, os meningococos podem entrar na corrente sanguínea e dispersarem-se por diversos órgãos. Em cerca de 50% dos indivíduos com bacteriemia, o meningococo, atravessa a barreira hemato-encefálica causando meningite purulenta (CDC, 1993). Embora tenham sido identificados os serogrupos H, I, K e L, ainda não foi possível identificar as patologias a eles associadas (Collee, *et al*, 1993). Contudo já existe vacinação que nos protege dos serogrupos A, B, C, Y, e W (Cavaco, *et al.*, 2014; Murray *et al.*, 2010).

#### **4.3.2. Patogénese**

*Neisseria meningitidis* é um microrganismo que pertence à flora comensal do ser humano, porém ocasionalmente pode provocar doenças invasivas dependendo de algumas características como a idade, a raça e o estado do sistema imunitário do hospedeiro. Os factores ambientais também devem ser tidos em consideração e incluem a superlotação e viagens a zonas endémicas (Hedari *et al.*, 2014).

As doenças invasivas poderão ocorrer segundo os seguintes pontos: colonização da nasofaringe; penetração na mucosa; sobrevivência do microrganismo e resposta celular.

Para que ocorra colonização na nasofaringe, os meningococos para além de possuírem na sua membrana externa as adesinas que promovem a fixação selectiva em receptores específicos localizados nas células da mucosa possuem também LOS que têm uma actividade endotóxica e são os responsáveis por provocar danos directos nas células endoteliais e provocar o aumento da permeabilidade vascular e perda da tromborresistência. Quando oportuno, a bactéria penetra a mucosa por endocitose. Uma vez na circulação sanguínea os neutrófilos e os macrófagos tentarão fagocitar o «invasor», contudo devido à existência da cápsula o microrganismo evitará a morte celular, visto que a cápsula contém propriedades antifagocíticas (CDC, 1993; Hedari *et al.*, 2014; Murray *et al.*, 2010).

A doença meningocócica só é possível na ausência de anticorpos bactericidas séricos para a cápsula polisacáridica ou para outros antigénios bacterianos (Murray *et al.*, 2010).

### 4.3.3. Manifestações clínicas

A infecção por *Neisseria meningitidis* resulta, na grande maioria dos casos, da disseminação sanguínea da bactéria (Morse, 1996). A meningococemia aguda é bastante grave e muitas vezes leva à inflamação das meninges manifestando-se com calafrios, febre progressiva, vômitos, cefaleias, taquicardia, taquipneia, confusão, convulsões, neuropatia e paralisia dos nervos cranianos. Outra manifestação é o aumento da pressão intracraniana podendo resultar em edema cerebral (Harrison, 1999; Morse, 1996). Contudo cerca de 20 a 40% dos casos de meningite não decorrem com meningococemia.

Quanto à meningococemia crônica, esta pode manifestar-se por febre recorrente, erupção petequeial e artrite. As manifestações raras da infecção meningocócica incluem sinusite, conjuntivite, pneumonia, endocardite, uretrite e endometrite (Harrison, 1999).

Os lactentes com meningite raramente apresentam sinais meníngeos, podendo manifestar-se em idades superiores a 18 meses. Contudo, a presença da infecção pode apresentar-se por irritabilidade, falta de apetite, choros e gemidos, instabilidade térmica (hipotermia mais comum em recém-nascidos) e fontanela anterior abaulada devido ao aumento da pressão intracraniana. Vômitos e diarreia também poderão estar presentes, apesar de ser numa fase inicial da doença. Com a evolução da doença outros sinais poderão ocorrer como a intolerância ao ruído, letargia, convulsões e coma (Faria *et al.*, 1999; Morse, 1996; Prata, *et al.*, n.d.).

Nas crianças e nos adultos é frequente observar sintomas e sinais como febre, arrepios, vômitos, náuseas, fotofobia, alterações comportamentais e convulsões. É ainda frequente o aparecimento de cefaleias devido ao aumento da pressão intracraniana e ainda de sinais meníngeos, como a rigidez cervical (Sinal de Brudzinsky) e rigidez toracolombar (Sinal de Kernig) (Faria *et al.*, 1999; Prata *et al.*, n.d.). Com o decurso da doença os doentes poderão apresentar sinais como sepsis, coma e petéquias (pequenas manchas hemorrágicas na pele) ou púrpura (hemorragias na pele) que se desenvolvem do primeiro ao terceiro dia da doença em cerca de 30 a 60% dos indivíduos (Morse, 1996).

Em relação aos sinais meníngeos, o Sinal de Brudzinski é caracterizado pela flexão involuntária de um ou ambos os joelhos quando se levanta a cabeça do doente, como sinal de dor devido ao estiramento ou compressão nervosa (Figura 15). O doente encontra-se na posição decúbito dorsal.



Figura 14: Sinal de Brudzinski (fonte: [http://neuroinformacao.blogspot.pt/2013/03/pequeno-dicionario-de-termos-medicos\\_23.html](http://neuroinformacao.blogspot.pt/2013/03/pequeno-dicionario-de-termos-medicos_23.html))

O sinal de Kernig é caracterizado pela flexão do joelho oposto do dobrado ou flexão do pescoço, quando se flexe, em ângulo recto, a coxa sobre a bacia e se estende a perna sobre a coxa (Figura 16).



Figura 15: Sinal de Kernig (fonte: [http://neuroinformacao.blogspot.pt/2013/03/pequeno-dicionario-de-termos-medicos\\_23.html](http://neuroinformacao.blogspot.pt/2013/03/pequeno-dicionario-de-termos-medicos_23.html))

#### 4.3.4. Profilaxia e controlo

##### Quimioprofilaxia

Há semelhança do que ocorre nas infecções por Hib, a quimioprofilaxia é indicada para indivíduos que tenham contacto directo com os doentes, devendo ser iniciada nas primeiras 24 horas que se segue ao contacto com o caso índice (Musher, 1996; SARA., 1999).

Na meningite causada por *Neisseria meningitidis*, a quimioprofilaxia é recomendada para os seguintes casos:

- Contactantes domiciliare
- Quarteis e orfanatos
- Creches e pré-escolas: crianças da mesma sala
- Pessoas expostas directamente às secreções

- Profissionais de saúde que se tenham exposto às secreções respiratórias sem uso de máscara. (Ministério da Saúde, 2010)

O antibiótico de eleição para a profilaxia nas crianças é a rifampicina enquanto que nos adultos se recorre à ciprofloxacina. Como esquema profilático da rifampicina é recomendada a administrada por via oral de 5 mg/kg de 12 em 12h durante 2 dias em recém-nascidos; 10 mg/kg de 12 em 12h durante 2 dias em crianças com idade superior a 1 mês e nos adultos a dose máxima a administrar é de 600 mg de 12 em 12h durante 2 dias. O esquema profilático da ciprofloxacina é de uma única dose de 500 mg por via oral (SARA., 1999; State department Oklahoma, 2015).

A rifampicina é contra-indicada para casos de hipersensibilidade, hepatotoxicidade, porfíria e alcoolismo e em indivíduos que façam anticoagulantes, anticonvulsivantes e contraceptivos orais. Como não é recomendado o uso de rifampicina nem de ciprofloxacina em grávidas, recorre-se como alternativa ao ceftriaxone utilizando como esquema de administração 125 mg numa dose única por via intramuscular em idades inferiores a 15 anos e 250 mg numa dose única em idades superiores a 15 anos (SARA., 1999; State department Oklahoma, 2015).

## **Vacinação**

A vacinação é a melhor estratégia de prevenção permitindo um melhor controlo das epidemias e uma diminuição na resistência dos antibióticos. Actualmente existem três tipos de vacinas disponíveis no mercado, as polissacarídeas, as conjugadas e a mais recente, a vacina contra o serogrupo B que utiliza as proteínas da membrana externa da bactéria (Hedari *et al.*, 2014).

A *Neisseria meningitidis* tem uma elevada importância clínica e por isso 5 dos 13 serogrupos já possuem vacinação, nomeadamente os serogrupos A, B, C, Y e W (Murray *et al.*, 2010).

As primeiras vacinas a serem utilizadas para controlar surtos foram as vacinas polissacarídeas contra os serogrupos A e C, nos Estados Unidos na década de 70. Mais tarde, foram utilizadas em regiões hiperendémicas e em viajantes que fossem para áreas endémicas. Actualmente, estão licenciadas as vacinas bivalentes (serogrupo A e C), trivalentes (serogrupos A, C e W) e tetravalentes (serogrupos A, C, Y e W).

Na Europa, ainda estão licenciadas as vacinas bivalentes e trivalentes, mas já não estão disponíveis por terem sido substituídas pelas vacinas tetravalentes, Menomune® (Sanofi-Pasteur, Lyon, França) e Mencevax® (GlaxoSmithKline plc, Brentford, Reino Unido).

Até há pouco tempo, as vacinas polissacarídeas, eram utilizadas em países em desenvolvimento para controlar as epidemias, especialmente a meningite provocada pelo serogrupo A em África. Nos países desenvolvidos são utilizadas como medida preventiva em viajantes, em indivíduos que tenham imunodeficiência e em militares (Hedari *et al.*, 2014).

De forma, a ultrapassar as desvantagens das vacinas polissacarídeas, desenvolveram-se as vacinas conjugadas que promoviam a imunidade em crianças com idades inferiores a 2 anos e promoviam a memória imunológica em todas as faixas etárias. Assim, desenvolveu-se a vacina conjugada monovalente anti-serogrupo A para a vacinação da população africana com idades compreendidas entre 1 e 29 anos. No continente africano o serogrupo A é o responsável pela maior parte dos surtos meningéus.

Seguidamente desenvolveu-se a vacina monovalente anti-serogrupo C devido a um surto epidémico em alguns países da Europa, Canadá e Estados Unidos na década de 90. Actualmente, existem três vacinas comercializadas, como é possível constatar na Tabela7, mas apenas as duas primeiras são utilizadas em Portugal (Hedari *et al.*, 2014).

Tabela 7: Vacinas conjugadas monovalentes anti-serogrupo C (fonte: Hedari *et al.*, 2014(Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2015; Baxter, n.d.))

Vacina	Composição	Empresa	Idade
Meningitec	MenC-CRM <sup>(a)</sup>	Pfizer	>2 meses
Menjugate	MenC-CRM <sup>(a)</sup>	Novartis	>2 meses
Neis Vac-C	MenC-TT <sup>(b)</sup>	Baxter	>2 meses

(a) CRM: proteína transportadora de *Corynebacterium diphtheriae*

(b) TT: proteína toxoide tetânico

A Menjugate é a vacina que se encontra no PNV desde 2006. É composta por polissacáridos capsulares da *Neisseria meningitidis* C com uma proteína transportadora. A vacina é administrada em crianças a partir dos 2 meses de idade, adolescentes e adultos em dose única, porém actualmente é administrada aos 12 meses de idade segundo o PNV. (DGS, 2016; INFARMED, 2014)

Em 2005, desenvolveu-se a vacina tetravalente conjugada com o nome Menactra® e é constituída pelos serogrupos A, C, W e Y conjugado com a proteína transportadora toxina de difteria. A vacina pode ser administrada a crianças a partir dos 9 meses até aos adultos com 55 anos de idade. Entre os 9 e os 23 meses a administração da vacina é feita em duas doses enquanto que a partir dos 2 anos é feita numa dose única. Este esquema de administração foi aprovado pela FDA (*Food and Drug Administration*). Desde então já foram produzidas novas vacinas tetravalentes, nomeadamente a Nimenrix® que foi aprovada para uso na União Europeia para indivíduos com idade igual ou superior a 12 meses tendo sido utilizada a proteína transportadora toxoide tétano.

Recentemente desenvolveu-se a vacina contra o serogrupo B, por este ter uma incidência elevada em países desenvolvidos. Contudo, a sua produção foi complicada por o polissacárido capsular ser pouco imunogénico devido à sua similaridade com as células neuronais humanas. Porém em 2013, conseguiu-se produzir a primeira vacina, a Bexsero® (Hedari *et al.*, 2014). Esta vacina é constituída por vesículas da membrana externa, lipooligosacárideos e proteínas recombinantes (Cavaco *et al.*, 2014).

Como mecanismo de acção esta vacina destina-se especificamente para estimular a produção de anticorpos bactericidas que reconhecem os antigénios existentes na vacina. (EMA, n.d.-b) Esta vacina ainda não se encontra no PNV, contudo irá constar a partir de Janeiro de 2017 (DGS, 2016).

Em estudos que se fizeram, a vacina demonstrou ser imunogénica, segura em lactentes, crianças e adolescentes e capaz de induzir memória imunológica em todas as faixas etárias. Demonstrou também ser um pouco reactogénica quando administrada em simultâneo com outras vacinas do PNV e com a vacina pneumocócica conjugada (Cavaco *et al.*, 2014).

Na Tabela 8 é possível observar o número de doses necessárias tendo em conta a idade a que se começa.

Tabela 8: Esquema vacinal da Bexsero® (fonte: (Cavaco *et al.*, 2014))

Idade de início da vacinação	Imunização primária	Intervalos entre as doses	Dose de reforço
2 a 5 meses	3 doses	Mínimo 1 mês	Uma, entre os 12 e 23 meses
6 a 11 meses	2 doses	Mínimo 2 meses	Uma, entre os 12 e os 23 meses, no mínimo 2 meses após a última
12 a 23 meses	2 doses	Mínimo 2 meses	Uma, 12 a 23 meses após a primovacinação
2 a 10 anos	2 doses	Mínimo 2 meses	Não estabelecida
Adolescentes e adultos até aos 50 anos	2 doses	Mínimo 1 mês	Não estabelecida

#### 4.3.5. Epidemiologia

Os padrões de doenças variam amplamente entre regiões, grupos etários, serogrupos e localização geográfica (Figura 17). O pico de incidência da doença meningocócica ocorre entre crianças com menos de 2 anos, adolescentes e idosos. A maioria das doenças meningocócicas ocorre em países subdesenvolvidos enquanto que nos países desenvolvidos a incidência da doença diminuiu consideravelmente, sendo que os casos que ocorrem ocasionalmente são causados pelos serogrupos B e C. O serogrupo C está associado a maior número de mortes do que o serogrupo B (Hedari *et al.*, 2014).

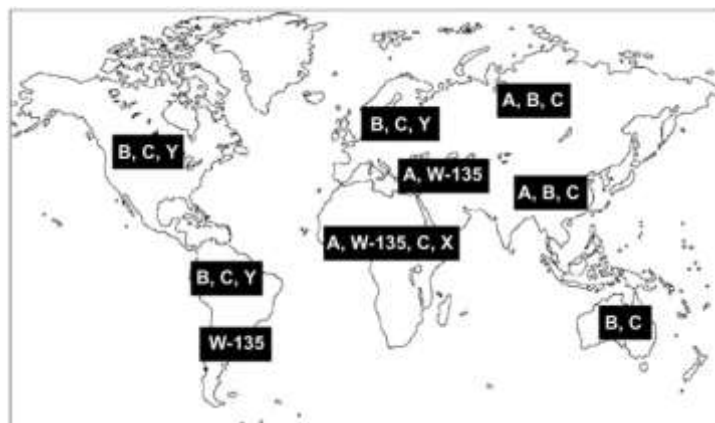


Figura 16: Distribuição global dos serogrupos do meningococos (fonte: (Hedari *et al.*, 2014))

Nos países desenvolvidos mais de 98% dos casos de doença meningocócica invasiva são esporádicos. Em 2008, a doença causada pelo serogrupo B (32% dos casos), o

serogrupo C (32% dos casos) e o serogrupo Y (24% dos casos) representaram a maior parte da doença endémica, causando meningite em 53% dos casos. Noutras zonas do globo foram encontrados outros serogrupos responsáveis pelas epidemias de meningite meningocócica como o serogrupo A que tem vindo a ser relatado em países da África subsariana, Brasil, China e Nepal.

Um surto de doença meningocócica foi registado no ano de 2000 durante a peregrinação a Meca em que a doença foi causada pelo serogrupo W. Após este surto, o serogrupo W espalhou-se por todo o globo e causou uma grande epidemia de meningite meningocócica no ano de 2002 em Burkina Faso. Em 2006 registou-se uma elevada incidência do serogrupo X em Níger, em que cerca de 1139 casos de meningite meningocócica confirmada, 51% era provocado por este serogrupo.

Depois destas epidemias, houve necessidade de prevenir as infecções meningocócicas invasivas pela vacina polissacarídea quadrivalente contra os serogrupos A, C, Y e W em populações que apresentam um maior risco. No entanto, esta vacina não foi recomendada nos Estados Unidos, devido à incapacidade de proteger contra a doença do serogrupo B e à incapacidade de conferir uma protecção duradoura em crianças. Com o sucesso das vacinas conjugadas contra *Haemophilus influenzae* e *Streptococcus pneumoniae* foram desenvolvidas vacinas conjugadas para *Neisseria meningitis* (Brouwer *et al.*, 2010).

Na União Europeia, no ano de 2012, foram confirmados 3463 casos de doença meningocócica invasiva, com especial incidência do serogrupo B (68% dos casos) em crianças com menos de um ano de idade. O serogrupo C foi registado em 17% dos casos em crianças com menos de 5 anos de idade o que corresponde a 10 vezes menos do que os casos de infecção pelo serogrupo B. O serogrupo Y teve uma elevada incidência em especial nas crianças com menos um ano de idade, em idosos e entre indivíduos dos 15 aos 24 anos.

Durante o período de 2008 a 2012, observou-se uma tendência decrescente do serogrupo C devido à introdução da vacina conjugada nos mais diversos países enquanto que houve um aumento das taxas de notificação do serogrupo Y afectando principalmente idosos e lactentes. O serogrupo A desapareceu praticamente da Europa. Contudo, apesar do declínio do serogrupo B, casos esporádicos continuam a ser relatados na Europa e a disponibilidade da vacina proporciona o potencial de redução da incidência (ECDC, 2013).

Nos países subdesenvolvidos, em especial na África subsariana, têm-se observado uma elevada incidência do serogrupo A sendo a responsável pela maior e mais devastadora epidemia de meningococos assim como no sudeste da Ásia (Harrison, 2010; Hedari *et al.*, 2014). Nestas zonas as crianças e os adolescentes são afectados em mais de 75% dos casos. Para além da incidência deste serogrupo, o serogrupo X também se está a tornar cada vez mais comum em algumas zonas de África, apesar de serem pequenos surtos (Hedari *et al.*, 2014).

#### 4.4. Meningite por *Listeria monocytogenes*

##### 4.4.1. Características bacteriológicas do agente

*Listeria monocytogenes* é uma bactéria Gram positivo que pertence à família *Listeriaceae*. Dentro do género *Listeria*, apenas esta espécie é considerada patogénica. É caracterizada por ser um bastonete recto ou ligeiramente curvo, frequentemente disposto aos pares ou em cadeias curtas (Figura 18)(Collee, *et al*, 1993; Hof, 1996; Murray *et al.*, 2010). A temperatura ambiente desenvolve os flagelos estruturas que permitem a sua mobilidade (Hof, 1996). O microrganismo é ainda aeróbio facultativo e tem a capacidade de fermentar a glicose e a maltose originando a produção de ácidos e também de produzir catalase, contudo não produz gás.

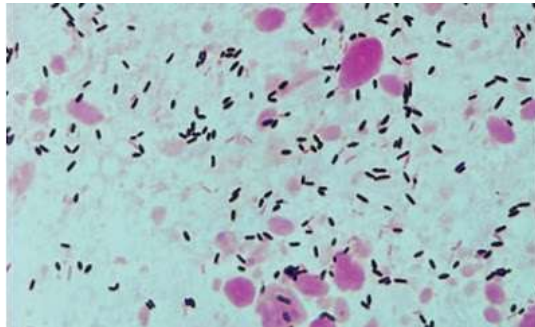


Figura 17: Morfologia da *Listeria monocytogenes* (fonte: [http://www.tuyenlab.net/2016/08/microbiology-atlas-of-direct\\_16.html](http://www.tuyenlab.net/2016/08/microbiology-atlas-of-direct_16.html))

Para um bom desenvolvimento do microrganismo deve-se ter em conta a temperatura óptima de 37°C, no entanto, a 4°C ainda existe desenvolvimento apesar de ser mais lento. O meio de cultura utilizado é o meio de agar de sangue que quando encubado durante 24h apresenta colónias com um aspecto pequeno, liso, translúcido e rodeadas por uma zona estreita de hemólise ( $\beta$ -hemólise ainda que fraca)(Figura 19) (Collee, *et al*, 1993; Hof, 1996; Murray *et al.*, 2010)



Figura 18: Colónias de *Listeria monocytogenes* em gelose de sangue (fonte: [http://people.upei.ca/jlewis/html/lab\\_4\\_coryne.html](http://people.upei.ca/jlewis/html/lab_4_coryne.html))

A listeriose é causada pela ingestão de alimentos contaminados, como leite não pasteurizado, queijo feta, vegetais crus, produtos fumados (enchidos, carnes), entre outros, tendo um período de incubação que pode variar entre os 3 e os 70 dias após o consumo dos mesmos. Afectam principalmente idosos, grávidas, recém-nascidos e adultos com o sistema imunológico debilitado (“CDC: Listeria Sources,” 2016; Governo de Macau, 2016; Hof, 1996; Murray *et al.*, 2010; Pourkaveh, *et al.*, 2016).

É comum encontrarmos o microrganismo nos solos, na água e nos animais sem que estes apresentem sintomas e muito raramente a sua transmissão ocorra em hospitais (“CDC: Listeria Sources,” 2016). Esta bactéria tem a particularidade de resistir a ambientes frios o que, ao contrário de outras bactérias, não só impede que seja destruída como permite a sua multiplicação caso esteja em algum alimento refrigerado. Uma forma de as combater é recorrer à pasteurização e à fervura (“CDC: Listeria Sources,” 2016).

#### **4.4.2. Patogénese**

Após a ingestão de alimentos contaminados, *Listeria monocytogenes* tem a capacidade de resistir à acção enzimática e ao ácido estomacal, tendo como porta de entrada a mucosa intestinal (Lee *et al.*, 2010).

O microrganismo tem a capacidade de se multiplicar não só no meio extracelular e invadir as células epiteliais e células parenquimatosas como também no meio intracelular e multiplicar-se no interior dos macrófagos após a fagocitose. Antes de ocorrer a fagocitose a bactéria tem de aderir ao hospedeiro e só é possível devido à existência de proteínas na superfície da bactéria que vão interagir com os receptores glicoproteicos presentes na superfície celular do hospedeiro. A bactéria já envolta pelos fagossomas produz uma toxina que irá provocar a lise da membrana e libertar a bactéria no citoplasma (Hof, 1996; Lee *et al.*, 2010; Murray *et al.*, 2010). Uma vez que, o microrganismo foi libertado, movimenta-se em direcção a outras células exercendo uma determinada pressão na membrana celular formando uma protusão designada por filopódio que permite à bactéria infectar as células adjacentes (Murray *et al.*, 2010).

A listeriose não é muito comum, uma vez que o sistema imunológico competente consegue eliminar a infecção antes que se dissemine (Hof, 1996).

#### 4.4.3. Manifestações clínicas

A listeriose quando não está associada à gravidez surge geralmente em indivíduos imunodeprimidos ou em pessoas idosas e manifesta-se por dores de cabeça, rigidez na nuca, confusão, perda de equilíbrio e convulsões (Harrison, 1999; CDC, 2016a). Quando associada à gravidez, cerca de 35% a 50% das grávidas apresentam febre, mialgias, mal-estar e por vezes problemas gastrointestinais. Caso ocorra uma disseminação transplacentária da infecção pode levar a uma corioamnionite, parto prematuro, aborto, morte fetal ou infecção neonatal (Harrison, 1999; Pourkaveh, *et al.*, 2016).

A infecção neonatal pode ser de início precoce (<7 dias) ou de início tardio. Em geral, a infecção de início precoce ocorre nos primeiros dois dias de vida e manifesta-se através de sepsis, dificuldade respiratória, lesões cutâneas ou abscessos disseminados afectando múltiplos órgãos. Os lactentes com infecção de início tardio têm meningite com maior probabilidade meningoencefalite, conjuntivite e pneumonia (Harrison, 1999; Polanco *et al.*, 2016). Eventualmente, poderá aparecer complicações como a hidrocefalia aguda (Lee *et al.*, 2010).

Em indivíduos imunocomprometidos, como os doentes transplantados ou doentes com terapêutica imunossupressora, *Listeria monocytogenes* causa encefalites, endocardites, septicémia e infecções no SNC, como a meningite (Polanco *et al.*, 2016).

#### 4.5. Meningite por *Streptococcus agalactiae*

##### 4.5.1. Características bacteriológicas do agente

*Streptococcus agalactiae* é uma bactéria que pertence ao grupo B na classificação de Lancefield. É caracterizada por ser um coco, por vezes ovóide, Gram positivo de crescimento rápido, forma longas cadeias no meio de cultura e cadeias curtas em amostras clínicas, é imóvel e capsulado (Figura 20). O microrganismo é  $\beta$ -hemolítico e aeróbio facultativo que fermenta alguns hidratos de carbono com produção de ácido láctico (Collee, *et al*, 1993; Gomes, 2013; Murray *et al.*, 2010).



Figura 19: Morfologia do *Streptococcus agalactiae* (fonte: <http://www.microbiologyinpictures.com/bacteria-micrographs/gram-stain/gram-positive/streptococcus-group-b.html>)

As estirpes desta espécie são classificadas pelos polissacarídeos capsulares, sendo que existem nove tipos (Ia, Ib, II a VIII). Os mais comuns são os tipos Ia, III e V; (Murray *et al.*, 2010).

O meio de cultura ideal utilizado para o seu isolamento a partir de amostras polimicrobianas é o meio Columbia CNA que é composto por agentes antimicrobianos como a colistina, o ácido nalidíxico e a aztreonam que têm como função inibir o crescimento de bactérias Gram negativo (Becton, 2011). Este meio é incubado durante 24h a uma temperatura óptima de 36°C e com uma atmosfera com 5% de dióxido de carbono. Seguidamente faz-se uma subcultura em meio ágar-sangue para se obterem colónias de bactérias não sujeitas à pressão de antibióticos e utilizam-se as mesmas condições de temperatura e de dióxido de carbono (“CDC: Prevention of Perinatal Group B,” 2016).

*Streptococcus agalactiae* é uma bactéria que pertence à flora comensal do ser humano, encontrando-se no trato gastrointestinal e sobretudo no trato geniturinário em cerca de 30% das mulheres sendo o principal local de colonização (Korir *et al.*, 2016; Patras *et al.*, 2016). A prevalência de colonização materna por estreptococos é influenciada pelo período de gravidez, raça, idade e nível socioeconómico (Costa HPF., 2011).

Quando surgiu *Streptococcus agalactiae* era identificado como o principal responsável pela sépsis puerperal. Hoje em dia, o seu aparecimento é raro passando a estar associado a outras doenças. (Collee, *et al*, 1993).

Cerca de 60% de crianças que nascem a partir de mães colonizadas, têm a probabilidade de adquirir as estirpes maternas e tornarem-se colonizadas, sendo que esta probabilidade é maior se a mãe estiver densamente colonizada e o bebé não tiver qualquer tipo de anticorpos específicos contra os polissacarídeos capsulares que são transferidos da mãe para o bebé nas últimas 10 semanas de gestação (Costa HPF., 2011; Murray *et al.*, 2010). Desta forma, bebés prematuros de mães colonizadas, estão mais suscetíveis de desenvolver doenças invasivas precoces, no entanto, apenas 1% a 2% dos filhos de mulheres com cultura vaginal positiva apresentam sépsis neonatal precoce (Costa HPF., 2011). Para além destes factores, o deslocamento da placenta e a febre intraparto, também contribuem na colonização.

Os sorotipos mais comuns, associados à doença neonatal de início precoce são os sorotipos Ia com uma frequência compreendida entre 35% a 40%, sorotipos III com uma frequência de 30% e o sorotipo V com uma frequência de 15%, sendo que só é adquirida durante a gravidez ou aquando do parto. O sorotipo III é responsável pela maioria das doenças de início tardio e os sorotipos Ia e V são os mais comuns nas doenças que afectam os adultos (Murray *et al.*, 2010).

#### **4.5.2. Patogénese**

A bactéria *Streptococcus agalactiae* como muitas outras bactérias patogénicas codifica alguns factores de virulência como os polissacarídeos da cápsula que são ricos em ácido siálico tornando-a anti-fagocitária. A existência de adesinas permite à bactéria fixar-se nas células do hospedeiro, ocorrendo depois a libertação de algumas toxinas que irão promover a entrada da bactéria na corrente sanguínea assim como promover a invasão das células do hospedeiro, como as células epiteliais do pulmão e da barreira hematoencefálica

(Rajagopal, 2009). Após a invasão, a bactéria desenvolve mecanismos que lhe permitem sobreviver ao sistema imunitário, como é o caso da produção de proteases que irão inibir a presença dos neutrófilos no local da infecção (Murray *et al.*, 2010; Rajagopal, 2009).

#### 4.5.3. Manifestações clínicas

*Streptococcus agalactiae* pertence à flora comensal, porém existem algumas mulheres densamente colonizadas que poderão infectar o bebê aquando do parto. Muitas mulheres não apresentam qualquer tipo de sintoma, no entanto poderá vir a manifestar-se por ardor, prurido vaginal juntamente com leucorreia e eritema da mucosa. (Savini *et al.*, 2013) Caso não se detecte a tempo a grávida poderá desenvolver infecções no trato urinário, infecções na placenta e líquido amniótico, endometrites e sépsis (Murray *et al.*, 2010).

Quando os bebês são infectados a doença poderá ter início sob duas formas:

- Início precoce, o bebê torna-se doente nos primeiros 7 dias de vida e pode desenvolver pneumonia, meningite e septicémia. Os sintomas surgem na maioria das vezes algumas horas após o nascimento ou nas primeiras 24 a 48h. O desconforto respiratório está presente em 35% a 55% dos doentes e os sinais clínicos de sepsis aparecem em 25% a 40% dos casos, com evolução rápida para choque séptico nas primeiras 24 horas de vida. Pode ocorrer meningite em 5% a 15% dos bebês assim como de pneumonia. A evolução para o óbito ocorre comumente no segundo dia de vida (Costa HPF., 2011).

- Início tardio, o bebê torna-se doente entre uma semana a três meses podendo desenvolver bacteriemia com meningite e pode manifestar-se por dificuldade em respirar, febre, dificuldade em se alimentar, letargia e irritabilidade (Mayo clinic, 2016).

Crianças com meningite e que tenham sobrevivido, a longo prazo, podem desenvolver sequelas neurológicas, como cegueira, surdez e défice cognitivo (Kim *et al.*, 2015). Relativamente aos adultos e aos doentes crónicos pode ocorrer celulite, sepsis, infecções no trato urinário, pneumonia, patologias osteoarticulares, endocardite e meningite (Collee, *et al.*, 1993; Murray *et al.*, 2010; Patras *et al.*, 2016).

#### 4.5.4. Profilaxia e controlo

A prevenção da doença por *Streptococcus agalactiae* depende mais da conduta obstétrica do que dos cuidados neonatais. Assim as estratégias a adoptar passam por uma assepsia do canal de parto e da quimioprofilaxia intra-parto.

A assepsia do canal de parto é feita com cloro-hexidina em irrigação vaginal a cada 6h até ao nascimento, contudo em Portugal não existir esta solução. A solução de cloro-hexidina tem uma excelente acção sobre bactérias Gram positivo, uma boa acção residual e baixa toxicidade. Outra forma de prevenção é através da quimioprofilaxia intra-parto, ou seja, a administração de antibióticos após o início do trabalho de parto ou aquando da rotura da placenta. Deve ser feito com penicilina (5.000.000U inicialmente e, depois, 2.500.000U a cada 4 horas até o nascimento) ou com ampicilina (2g inicialmente e, depois, 1g a cada 4 horas até o nascimento) (Costa HPF., 2011). A eficácia da penicilina e da ampicilina como agentes intrapartos na prevenção da doença por *Streptococcus agalactiae* foi demonstrada em ensaios clínicos (CDC, 2010).

## 5. Diagnóstico

O diagnóstico precoce e a rápida instauração da terapêutica são fulcrais para o combate da morbidade e mortalidade causada pelas meningites bacterianas. O diagnóstico clínico de meningite é feito tendo em conta os sinais e sintomas clínicos do indivíduo e as sequelas variam de acordo com a faixa etária (Faria *et al.*, 1999). A confirmação do caso é feita pelo diagnóstico laboratorial, com detecção e identificação do agente causal e teste de susceptibilidade aos antibióticos.

### 5.1. Diagnóstico laboratorial

Sempre que exista indícios que sugiram a presença de meningite deve-se proceder a um exame laboratorial, através do qual pode ser confirmada a presença ou ausência de meningite. Nos casos de meningite bacteriana, o exame laboratorial tem um papel fundamental visto que possibilitará identificar o agente causal (Collee, 1993). Assim, é de extrema importância a realização de uma punção lombar de forma a recolher o LCR que permitirá a análise citobacteriológica e a confirmação do caso. Porém, existem algumas contra-indicações para a realização da punção e por isso deve ser evitada nas seguintes situações:

- Comprometimento cardio-respiratório, principalmente nos recém-nascidos
- Suspeita de hipertensão intracraniana com sinais papiledema
- Infecções no local da punção
- Trombocitopénia
- Alterações na coagulação (Faria *et al.*, 1999; Sztajn bok, 2012).

No caso de existirem indivíduos que tenham alguma contra-indicação em recorrer à punção lombar, deve-se recorrer à tomografia computadorizada cerebral (Faria *et al.*, 1999). Nas diretrizes internacionais actuais recomenda-se este tipo de exame em adultos com suspeita de meningite, antes de se realizar a punção lombar, devido à preocupação de a punção induzir hérnia cerebral. Contudo, estas diretrizes dão ênfase ao tratamento antibiótico precoce e ao realizar uma tomografia antes da punção implica um atraso na instauração da terapêutica antibiótica, e com isto, estar associado a um desfecho fatal (Glimåker *et al.*, 2013).

Como já foi referido anteriormente, não se deve fazer punção em indivíduos que se suspeite de hipertensão intracraniana, sob pena de existir um elevado risco de

deslocamento do cérebro e herniação das amígdalas cerebelares podendo resultar em morte.

A punção lombar é um procedimento em que se recolhe uma pequena quantidade de LCR, da medula. Por norma, este procedimento é feito com anestesia local, mas em indivíduos agitados, crianças, doentes com transtornos recorre-se à anestesia geral (Doherty *et al.*, 2014).

Após uma assépsia adequada do local onde se vai fazer a punção, (efectuada por exemplo com uma solução de iodopovidona ou álcool a 70%), insere-se uma agulha fina e longa de calibre 20 ou 22, entre as vertebrae lombares L3/L4 ou L4/L5 até a uma profundidade de 4 a 6 cm, juntamente com o estilete que se encontra no interior da mesma. O estilete tem a função de impedir a implantação de células potencialmente tumorais no interior do espaço subaracnoídeo.

Posto isto, o estilete que preenche a agulha é então retirado, e, se a agulha estiver correctamente introduzida, ao fim de uns segundos aparecem as primeiras gotas de LCR. Seguidamente, a agulha é retirada e faz-se pressão no local da punção com uma compressa estéril para evitar a saída do líquido e mantém-se o doente deitado durante um tempo (Figura 21) (Collee, 1993; Doherty & Forbes, 2014).

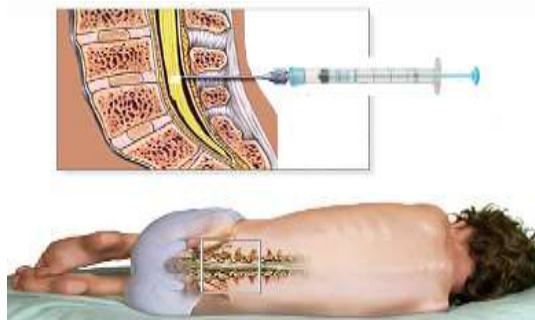


Figura 20: Recolha de LCR (fonte: <http://marcotuliosette.site.med.br/index.asp?PageName=Mielografia>)

Antes da remoção do LCR deve-se colocar um manómetro para medir a pressão de abertura, sendo que nos adultos a pressão normal é de 60-200 mm H<sub>2</sub>O (milímetros de água) e nos obesos a pressão pode tomar valores até 250 mm H<sub>2</sub>O. Já nas crianças jovens varia de 10-100 mm H<sub>2</sub>O e em crianças com idade superior a 8 anos de idade tem como valor normal 250 mm H<sub>2</sub>O (Comar *et al.*, 2009; Doherty & Forbes, 2014).

Se esta técnica for executada correctamente não existem praticamente riscos, contudo pode existir uma dor no local da punção e/ou cefaleias, sendo ambas temporárias. Outros riscos são o aparecimento de hematomas localizados, sangramento e desconforto local (Doherty *et al.*, 2014).

A recolha do LCR é feito geralmente para três ou mais tubos devidamente identificados, esterilizados e protegidos da luz (Doherty *et al.*, 2014). Normalmente tem uma ordem sequencial, sendo que o tubo número 1 contém as primeiras gotas do LCR e é onde geralmente se fazem os testes bioquímicos. No tubo 2 procede-se ao exame microbiológico e no tubo 3 procede-se ao exame citológico, uma vez que a probabilidade de conter material, introduzido acidentalmente aquando da punção é menor. Após efectuar a recolha do LCR deve-se proceder imediatamente à sua análise de forma a evitar a sua degradação, como a desintegração dos leucócitos (Collee, 1993; Gray *et al.*, 1992). Não se deve colocar no frigorífico, pois no caso de estarem presentes bactérias, estas podem tornar-se inviáveis e darem origem a culturas falsamente negativas, por isso é preferível colocar a amostra numa estufa a 37°C, ainda que seja por pouco tempo.

A probabilidade de detectar os microrganismos em exame directo corado pela técnica de Gram e por cultura está relacionado com o volume de LCR que é retirado e com a carga bacteriana presente. Volumes de LCR de 1-2 ml são geralmente suficientes para detectar bactérias mas para detectar fungos e micobactérias são necessários no mínimo 3 ml (Gray *et al.*, 1992). De forma a minimizar possíveis riscos prejudiciais ao doente deve-se recolher no máximo 5 ml de líquido e a um ritmo lento, cerca de 4 a 5 gotas por segundo (Comar *et al.*, 2009; Doherty *et al.*, 2014).

Para além da recolha do LCR deve-se também obter uma amostra de sangue, para hemocultura. Esta recolha é importante, porque muitas vezes a meningite bacteriana está associada à bacteriemia e o agente causal poderá isolar-se na circulação sanguínea (Collee, 1993).

Já no laboratório, um dos tubos que contém a amostra de LCR é centrifugado para se obter duas porções: o líquido (sobrenadante) que é reservado para o teste de detecção de antígenos bacterianos solúveis por aglutinação em látex, e o sedimento que se formou para ser utilizado na preparação da coloração de Gram e inoculação do meio de cultura (Collee, 1993; Comar *et al.*, 2009; WHO, 2011).

## Análise citológica e bioquímica

Primeiramente, faz-se uma observação macroscópica, tanto da coloração como do aspecto do LCR. Em condições normais o líquido é incolor e límpido, todavia em condições patológicas ou de contaminação da amostra poderá apresentar alterações na coloração.

Assim, a alteração da coloração é designada por xantocrômica, sendo que a tonalidade rosa, amarelo ou laranja ocorre quando há presença de hemoglobina ou concentrações elevadas de proteínas ou bilirrubina. Nos prematuros é comum observar este fenómeno devido à imaturidade da função hepática (Comar *et al.*, 2009). A Tabela 9 reúne algumas características do LCR de indivíduos saudáveis, importantes a ter em conta quando se interpretam os resultados laboratoriais da análise do LCR.

Tabela 9: Critérios e valores de referência para analisar o LCR (fonte: <http://www.fleury.com.br/medicos/educacao-medica/manuais/manual-de-neurodiagnosticos/pages/liquido-cefalorraquidiano.aspx>; Comar, SR., *et al* 2009)

Critérios / Valores de referência									
Aspecto e cor	Límpido e incolor								
Pressão inicial Pressão final	Decúbito lateral: 5 - 20 cm H <sub>2</sub> O 2,5 – 10cm H <sub>2</sub> O								
Quocientes raquidianos(Qr)	Condições normais: 3-7 Qr>7: Hipertensão por aumento do volume de LCR Qr<3: Hipertensão líquórica por processo expansivo intracraniano								
Índice de pressão (IP)	Condições normais IP<60% IP>60%: bloqueios cervicais ou torácicos								
Citologia diferencial	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Adultos</th> <th>Recém-nascidos</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Linfócitos: 60% ± 20%</td> <td>Linfócitos: 20% ± 15%</td> </tr> <tr> <td>Monócitos: 30% ± 15%</td> <td>Monócitos: 70% ± 20%</td> </tr> <tr> <td>Neutrófilos: 2% ± 4%</td> <td>Neutrófilos: 4% ± 4%</td> </tr> </tbody> </table>	Adultos	Recém-nascidos	Linfócitos: 60% ± 20%	Linfócitos: 20% ± 15%	Monócitos: 30% ± 15%	Monócitos: 70% ± 20%	Neutrófilos: 2% ± 4%	Neutrófilos: 4% ± 4%
Adultos	Recém-nascidos								
Linfócitos: 60% ± 20%	Linfócitos: 20% ± 15%								
Monócitos: 30% ± 15%	Monócitos: 70% ± 20%								
Neutrófilos: 2% ± 4%	Neutrófilos: 4% ± 4%								
Leucócitos	< 1ano: 0 - 30 /µl 1 a 4 anos:< 20/µl 5 anos até puberdade:< 10/µl Adultos: 0 - 5 /µl								
Estudo bioquímico	Proteínas totais	Adultos: 15 - 45 mg/dl Adultos >60 anos: 15 - 60 mg/dl Recém-nascidos: 15 - 100 mg/dl							
	Albumina	10-30 mg/dl							
	Glicose	50-80 mg/dl (2/3 da glicemia)							
	Ácido láctico	9,0 - 26,0mg/dl;							
	Ureia	Até 40 mg/dL							
	Glutamina	15-20 mg/dl							

Aquando da punção podem ocorrer traumas que levam ao sangramento e conseqüentemente causar erros de diagnóstico, como por exemplo achar-se que a amostra resulta de uma hemorragia subaracnoídea. Para evitar estes erros existem procedimentos para se distinguir uma contaminação de uma hemorragia subaracnoídea, através do método dos três tubos, o da pressão inicial e a observação visual da amostra após a centrifugação. Pode também ocorrer a formação de coágulos, o que deve ficar registado, para o caso de existir uma discrepância na contagem das células, principalmente as células inflamatórias (Comar *et al.*, 2009).

#### Contagem global celular

A contagem global de hemácias e leucócitos pode ser feita numa câmara de Fuchs-Rosenthal ou numa câmara de Neubauer e utiliza-se um tubo com amostra de LCR que não foi centrifugada (Comar *et al.*, 2009; Sukcharoen, Ngeamjirawat, Chanprasit, & Aribarg, 1994; Yamanishi, Imai, Suehisa, Kanakura, & Iwatani, 2007).

Para além da contagem global celular faz-se também a contagem diferencial de leucócitos, ou seja, avalia a predominância de linfócitos ou de neutrófilos. Na meningite bacteriana o predomínio é de neutrófilos. A contagem diferencial dos leucócitos é fundamental, pois conforme a linha celular predominante assim se estabelece uma terapêutica adequada, dependendo do significado clínico (Tabela 10).

Na meningite purulenta poderá existir cerca de 10-2000 células por  $\text{mm}^3$ , a maioria das quais neutrófilos, apesar de em alguns casos, se observem números bastante mais elevados. Na meningite asséptica (causada por vírus) há normalmente 10-500 células por  $\text{mm}^3$  na maioria linfócitos, embora possam predominar os polimorfonucleares na fase inicial da doença (Collee, 1993; Pandey, *et al.*, 2015).

Todavia, para uma melhor conduta médica a contagem global e a diferencial dos leucócitos não deve ser usada isoladamente, na tentativa de distinguir as diversas meningites. (Comar *et al.*, 2009)

Tabela 10: Significado clínico de acordo com o predomínio celular obtido em contagem diferencial de leucócitos da mostra de LCR. (fonte: Comar, S., *et al*, 2009)

Predomínio celular	Significado clínico
Linfócitos	Meningite viral, tuberculosa e fúngica. Ocasionalmente, em meningite bacteriana. Esclerose múltipla.
Neutrófilos	Meningite bacteriana, fase inicial de meningite viral, tuberculosa e fúngica. Hemorragia subaracnóidea, injeções intratecais, tumores meningeais.
Reação celular mista (linfócitos, neutrófilos e monócitos)	Meningite bacteriana parcialmente tratada, meningite bacteriana crônica, abscesso cerebral, meningite tuberculosa, meningite fúngica e meningite amebiana.
Eosinófilos	Infecções parasitárias, reações alérgicas, derivação ventricular.
Macrófagos	Meningite crônica, meningite bacteriana tratada, injeções intratecais e hemorragia subaracnóidea.
Macrófago eritrófago (contendo hemácias)	Hemorragia subaracnóidea (12 horas a 1 semana).
Macrófago siderófago (contendo hemossiderina)	Hemorragia subaracnóidea (2 dias a 2 meses).
Macrófago hematoidinófago (contendo cristais de hematoidina)	Hemorragia subaracnóidea (2 a 4 semanas).
Macrófago lipófago (contendo gordura)	Necrose cerebral, infarto, anoxia e traumatismo craniano.
Plasmócitos	Células linfóides malignas.
Células linfóides malignas	Linfoma, leucemia.
Blastos	Linfoma, leucemia.
Outras células malignas	Tumor cerebral primário, tumor metastático.
Células ependimais e do plexo coroide	Trauma, cirurgia, derivação ventricular, recém-nascidos e injeções intratecais.
Condrócitos	Punção traumática
Células da medula óssea	Punção traumática.
Agrupamentos de células imaturas, semelhantes a blastos	Hemorragia subaracnóidea em prematuros e recém-nascidos, possivelmente originadas da matriz germinal.

Relativamente na análise bioquímica tem-se em consideração os valores das proteínas e da glicose uma vez que em meningites bacterianas a concentração de glicose diminui (inferior a 40 mg/dl), devido ao seu consumo pelos agentes etiológicos, enquanto que a concentração de proteínas aumenta (Comar *et al.*, 2009; Pandey, *et al.*, 2015).

## Análise microbiológica

### Coloração Gram

O sedimento que se formou após a centrifugação irá ser utilizado na preparação do esfregaço que deve ser corado pelo método de Gram (Collee, 1993).

A coloração de Gram é um método que permite diferenciar espécies bacterianas com base nas propriedades químicas e físicas da sua parede celular. As bactérias Gram positivo retêm o corante primário (violeta) enquanto que as bactérias Gram negativo retêm o corante de contraste (vermelho). O sedimento é colocado numa lâmina com uma quantidade suficientemente densa que permita identificar as características morfológicas do agente em questão. A pesquisa das bactérias na preparação deve ser muito cuidadosa e deverá ser feita no mínimo em 10 minutos, antes de se ter qualquer tipo de confirmação. Neste teste são utilizadas amostras controlo positivo e negativo (WHO, 2011).

Quando se detecta a presença de bactérias com morfologia compatível com meningococos, pneumococos, *Haemophilus*, estreptococos ou listeria deve-se comunicar este resultado ao médico de forma a poder adequar a terapêutica (Collee, 1993).

#### Cultura do LCR

O sedimento é também utilizado em meios de cultura adequados, como a gelose de sangue e a gelose de chocolate, incubado em ambiente húmido com 5-10% de dióxido de carbono. Após incubação durante 24h, identifica-se as bactérias que se tenham desenvolvido e faz-se o teste de susceptibilidade aos antibióticos. Se não existir proliferação, ao fim de 24h, deve-se voltar a incubar as placas até ao dia seguinte (Collee, 1993).

A grande maioria das bactérias é inoculada nos meios de gelose de sangue e gelose de chocolate (Collee, 1993).

#### Antigénios bacterianos solúveis

Através da reacção de aglutinação de látex é possível obter uma indicação rápida do agente de infecção, identificando o agente causador pelos antigénios capsulares (Collee, 1993). Este teste de detecção dos antigénios bacterianos tem a vantagem de ser rápido de realizar e permite fazer a detecção directa de antigénios. Tem uma boa especificidade mas a sensibilidade é limitada, ou seja, os resultados negativos não são conclusivos relativamente à meningite bacteriana (Faria *et al.*, 1999).

### PCR (Reacção em cadeia polimerase)

Apesar dos métodos de detecção e caracterização dos microrganismos serem a cultura, coloração de Gram e aglutinação em látex, houve necessidade de desenvolver outro método que fosse mais rápido, específico e sensível para detectar a presença de agentes patogénicos nas amostras de LCR ou sangue (Guiver *et al.*, 2001).

Embora a cultura seja o método mais recorrente, por vezes obtém-se falsos resultados negativos devido às condições de armazenamento e de transporte da amostra e/ou tratamento antibiótico administrado antes da colheita. Quanto ao teste de aglutinação de látex os resultados são subjetivos e podem ser de difícil interpretação, especialmente quando a carga bacteriana de uma amostra é baixa. Por isso, a amplificação por PCR revolucionou a forma de confirmação de casos de meningite (Guiver *et al.*, 2001, National Center for Immunization and Respiratory Diseases, 2014).

A técnica de PCR por detectar ácidos nucleicos, não requer células vivas ou intactas pelo que é muito útil para detectar agentes patogénicos bacterianos a partir de amostras clínicas onde as bactérias podem já não estar viáveis devido às condições de armazenamento inadequadas ou tratamento antibiótico prévio.

A primeira técnica molecular a ser utilizada para pesquisa de agentes bacterianos de meningite foi a de PCR convencional, na qual o DNA (ácido desoxirribonucleico) é amplificado e posteriormente visualizado por electroforese em gel de agarose. A realização da electroforese implica a abertura e manipulação de tubos de PCR com DNA amplificado com um elevado risco de contaminação do laboratório, equipamento e reagentes. Outra desvantagem é o facto de esta técnica ser demorada. Posteriormente, desenvolveram-se técnicas de PCR em tempo real para a pesquisa dos mesmos agentes a qual é de mais fácil execução, mais sensível e específica, promovendo a redução das potenciais contaminações, uma vez que o sistema é fechado. Esta técnica recorre a sondas marcadas com fluoróforos em que o produto amplificado é visualizado em tempo real através da utilização de um software apropriado (National Center for Immunization and Respiratory Diseases, 2014).

## 6. Tratamento

Um diagnóstico precoce e a instituição imediata da terapêutica são fundamentais para um melhor prognóstico da doença (Sztajnbok, 2012). Tendo em conta a mortalidade e as sequelas associadas às meningites bacterianas deve-se instituir a terapêutica antimicrobiana antes dos resultados dos exames laboratoriais.

Geralmente, a terapêutica adequada passa pela utilização de antibióticos, que são escolhidos de uma forma empírica tendo por base os seguintes factores:

- Idade do doente
- Estado imunológico
- Presença ou ausência de traumatismo craniano
- Neurocirurgia
- Susceptibilidade das bactérias aos antibióticos
- Conhecimento dos dados epidemiológicos da comunidade
- Local de aquisição (hospitalar ou comunitária)
- Agente causador
- Capacidade do medicamento penetrar no SNC
- Concentração adequada do medicamento no LCR
- Baixa toxicidade para o doente (Faria *et al.*, 1999; Harrison, 1999; Sztajnbok, 2012).

O tratamento empírico inicial é feito com administração endovenosa de antibióticos que devem estar direccionados para os microrganismos mais frequentes, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* e *Neisseria meningitidis* (Sztajnbok, 2012). Após confirmação do diagnóstico, através dos resultados da análise laboratorial do LCR, verifica-se se o tratamento é adequado ao microrganismo, caso contrário será necessário modificá-lo e direccioná-lo para o microrganismo identificado (Harrison, 1999).

Ao longo dos anos, os esquemas terapêuticos têm vindo a sofrer alterações, alguns dos quais estão associados a corticosteroides. Muitas destas alterações estão relacionadas com o facto de o número de antibióticos existentes no mercado serem diversificados e uns serem mais eficazes do que outros (Pereira, *et al.*, 2013).

Consoante a etiologia das meningites e tendo em conta a faixa etária, assim se adequa a terapêutica empírica, como é possível verificar na Tabela 11.

Tabela 11: Terapêutica antimicrobiana empírica consoante a faixa etária e factores predisponentes específicos (fonte: (Tunkel *et al.*, 2004))

<b>Faixa etária / Factor predisposto</b>	<b>Agente patogénico mais comum</b>	<b>Terapêutica empírica</b>
<b>Recém-nascido</b>	<i>Streptococcus agalactiae</i> , <i>Listeria monocytogenes</i>	Ampicilina + cefotaxima + gentamicina
<b>1-23 meses</b>	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Streptococcus agalactiae</i> , <i>Haemophilus influenzae</i>	Ceftriaxona ou cefotaxima + vancomicina
<b>2-50 anos</b>	<i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i>	Ceftriaxona ou cefotaxima + vancomicina
<b>&gt;50 anos</b>	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> ,	Ceftriaxona ou cefotaxima + vancomicina + ampicilina
<b>Fratura no crânio</b>	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Haemophilus influenzae</i>	Vancomicina + Ceftriaxona ou cefotaxima

Em todas as faixas etárias é comum recorrer às cefalosporinas de 3ª geração, nomeadamente cefotaxima e ceftriaxona, para as quais existe grande susceptibilidade bacteriana, com boa penetração nas membranas meníngeas e atingimento rápido do LCR com reduzidos efeitos adversos. Existem poucas diferenças entre ambas as cefalosporinas em relação à actividade bactericida e à sua eficácia, contudo a sua escolha é feita de acordo com a experiência de utilização das mesmas.

No recém-nascido recorre-se à cefotaxima não só por haver bons resultados como também pelo facto da excreção não ser biliar. Não se utiliza a ceftriaxona uma vez que a sua eliminação é feita por via biliar e pode suprimir a flora bacteriana intestinal (Faria *et al.*, 1999). Estudos *in vitro* demonstraram ainda que a ceftriaxona pode deslocar a bilirrubina dos locais de ligação à albumina sérica (INFARMED, 2010). No caso de suspeita de meningite por *Listeria monocytogenes* deve-se adicionar ampicilina às cefalosporinas de 3ª

geração e à vancomicina ou gentamicina para uma maior cobertura antimicrobiana (Faria *et al.*, 1999).

Quando existe suspeita de infecção por *Streptococcus pneumoniae* pode ser adicionada vancomicina ao tratamento empírico juntamente com uma cefalosporina, de forma não só a alargar o espectro de acção, como também de combater a frequente resistência bacteriana à penicilina (Tacon *et al.*, 2012).

Nos casos de infecção por *Haemophilus influenzae* e *Neisseria meningitis* recorre-se às cefalosporinas de 3ª geração mas, no caso de existir algum tipo de alergia deve-se recorrer às alternativas, como por exemplo o cloranfenicol (Faria *et al.*, 1999).

Após confirmação do diagnóstico com a identificação do microrganismo e com os testes de sensibilidade realizados poderá existir a necessidade de se alterar a terapêutica empírica. Assim poderá ou não ser instituída a terapêutica que se encontra na Tabela 12.

Tabela 12: Terapêutica antibiótica específica consoante o microrganismo. (fonte: (Tunkel *et al.*, 2004))

<b>Microrganismo</b>	<b>Terapêutica standard</b>	<b>Terapêutica alternativa</b>
<b><i>Streptococcus pneumoniae</i></b>	Cefotaxima ou ceftriaxona + Vancomicina	Fluoroquinolona (moxifloxacina ou gatifloxacina)
<b><i>Neisseria meningitidis</i></b>	Penicilina G ou ampicilina	Cefotaxima ou ceftriaxona + cloranfenicol
<b><i>Haemophilus influenzae</i></b>	Cefotaxima ou ceftriaxona	Cefepime, cloranfenicol ou fluoroquinolona
<b><i>Listeria monocytogenes</i></b>	Ampicilina ou penicilina G + Gentamicina	Cloranfenicol
<b><i>Streptococcus agalactiae</i></b>	Ampicilina ou penicilina G + Gentamicina	Cefotaxima ou ceftriaxona

As doses recomendadas a administrar de antibióticos devem ter em conta a idade e o peso do indivíduo, de acordo com a Tabela 13.

Tabela 13: Doses administrar tendo em conta a idade e o peso do individuo (fonte: (Tunkel *et al.*, 2004))

<b>Medicamento</b>	<b>Dose para neonatos com 7 dias</b>	<b>Dose para neonatos entre 8-28 dias</b>	<b>Dose pediátrica</b>	<b>Dose adulta</b>
Ampicilina	150 mg/kg 8/8h	200 mg/kg 8/8h	300 mg/kg 6/6h	12 g 4/4h
Cefepime	-	-	150 mg/kg 8/8h	6 g 8/8h
Cefotaxima	100–150 mg/kg 8/8h ou 12/12h	150–200 mg/kg 6/6h ou 8/8h	225–300 mg/kg 6/6 ou 8/8h	8–12 g 4/4h ou 6/6h
Ceftazidima	100–150 mg/kg 8/8h ou 12/12h	150 mg/kg 8/8h	150 mg/kg 8/8h	6 g 8/8h
Ceftriaxona	-	-	80–100 mg/kg 12/12h 24-24h	4 g 12/12h 24/24h
Cloranfenicol	25 mg/kg 24/24h	50 mg/kg 12/12h ou 24/24h	75–100 mg/kg 6/6h	4–6 g 6/6h
Gatifloxacina	-	-	-	400 mg 24/24h
Gentamicina	5 mg/kg 12/12h	7.5 mg/kg 8/8h	7.5 mg/kg 8/8h	5 mg/kg 8/8h
Moxifloxacina	-	-	-	400 mg 24/24h
Penicilina G	0.15 mU/kg 8/8h ou 12/12	0.2 mU/kg 6/6h ou 8/8h	0.3 mU/kg 4/4h ou 6/6h	24 mU 4/4h
Vancomicina	20–30 mg/kg 8/8 ou 12/12h	30–45 mg/kg 6/6h ou 8/8h	60 mg/kg 6/6h	30–45 mg/kg 8/8h 12/12h

No caso de ocorrer uma melhoria significativa num período de 24h após a introdução da terapêutica, não há necessidade de repetir a punção lombar durante ou após a terapêutica. Caso contrário, se não se verificar qualquer tipo de melhoria ou se for mais lento que o esperado, o exame deve ser repetido. Em recém-nascidos deve-se repetir o exame 24 a 36h após o início e no fim do tratamento (Faria *et al.*, 1999).

A duração da terapêutica é variável de acordo com o agente causal como é possível observar na Tabela 14.

Tabela 14: Duração da terapêutica tendo em conta cada microrganismo (fonte: (Tunkel *et al.*, 2004))

<b>Microrganismo</b>	<b>Duração do tratamento</b>
<b><i>Streptococcus pneumoniae</i></b>	10 a 14 dias
<b><i>Neisseria meningitidis</i></b>	7 dias
<b><i>Haemophilus influenzae</i></b>	7 dias
<b><i>Listeria monocytogenes</i></b>	21 dias
<b><i>Streptococcus agalactiae</i></b>	14 a 21 dias

A duração da terapêutica nos recém-nascidos deve ser prolongada por mais 14 dias após a esterilização do LCR (Faria *et al.*, 1999).

Com a evolução do conhecimento da fisiopatologia das meningites bacterianas foi possível relacionar a evolução clínica e as sequelas da doença com a resposta inflamatória do hospedeiro. Assim, foram feitos estudos clínicos para comprovar a eficácia na utilização de uma terapêutica adjuvante com corticosteroides, mais propriamente a dexametasona (Pereira, *et al.*, 2013). Os corticosteroides apenas devem ser administrados quando existem evidências clínico-laboratoriais compatíveis com meningite bacteriana e não devem ser utilizados em meningites assépticas.

Confirmou-se que a utilização da dexametasona, em crianças (0,15mg/kg a cada 6h por 2 a 4 dias) é benéfica visto que reduz a perda auditiva nos casos de meningite por *Haemophilus influenzae* do tipo b e meningite pneumocócica. Em recém-nascidos e bebês com idade inferior a 6 semanas, não é recomendado o uso de corticosteroides, por não existirem estudos suficientes que suportem o seu uso. Em adultos, evidências clínicas demonstraram que o uso de dexametasona é recomendada apenas em doentes com meningite pneumocócica.

A dexametasona deve ser administrada antes do antibiótico, cerca de 10-20 minutos antes, de forma a inibir a resposta inflamatória desencadeada pela lise bacteriana induzida pelo antibiótico (Tunkel *et al.*, 2004). Reduz também a libertação de citocinas e como consequência diminui a pressão intracraniana, o edema cerebral, e em último caso, reduz as sequelas neurológicas das meningites (Faria *et al.*, 1999).

Apesar de todos os benefícios da dexametasona existem algumas preocupações sobre o seu uso em doentes com meningite pneumocócica causada por estirpes altamente resistentes à penicilina e às cefalosporinas. Esta preocupação advém dos doentes necessitarem de uma terapêutica com vancomicina e ao utilizar os corticosteroides existirá a diminuição da resposta inflamatória resultando na redução da penetração da vancomicina no LCR. Todavia, a administração da dexametasona com a vancomicina é possível, no entanto a dose de vancomicina entra sempre em maior percentagem (Tunkel *et al.*, 2004).

## 7. Conclusão

A meningite bacteriana é uma doença infecciosa, muito grave, especialmente em crianças, podendo ser provocada principalmente pelas bactérias como *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *Listeria monocytogenes* e *Streptococcus agalactiae*, sendo que a infecção é facilitada na maior parte dos casos por baixas de imunidade, idade do indivíduo e co-morbilidades.

Sem um diagnóstico rápido e instituição de uma terapêutica antibiótica adequada as sequelas poderão ser irreversíveis para o SNC. Para isso é imprescindível a recolha e análise microbiológica de LCR através da punção lombar, o que irá permitir identificar o microrganismo responsável pela patologia. Com a evolução da tecnologia, foi possível desenvolver testes específicos e de alta sensibilidade que permite eliminar e/ou minimizar possíveis erros, dos quais se destaca o PCR.

Quanto à terapêutica instituída antes de se identificar o microrganismo, é feita empiricamente sendo depois reajustada consoante o resultado da análise laboratorial. Normalmente recorre-se às cefalosporinas de 3ª geração com ótimos resultados. Nas crianças por vezes adiciona-se um aminoglicosídeo, por norma a gentamicina, devido ao seu largo espectro de acção. Ao adicionar-se corticosteróides à terapêutica verificou-se que esta era vantajosa na medida em que diminuía os casos de crianças com sequelas relativas à perda auditiva.

Contudo, com o decorrer do tempo tem-se verificado resistência das bactérias aos antibióticos e por isso é cada vez mais importante implementar medidas preventivas, bem como incentivar a novas descobertas científicas na área dos antibióticos. As medidas preventivas passam principalmente por vacinação, a qual tem contribuído para uma diminuição da morbidade e da mortalidade com a utilização das vacinas conjugadas.

## 8. Bibliografia

- Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (2015). Texto De Bula Vacina Adsorvida Meningocócica C (Conjugada - Crm197). (Consultado a 21 de Dezembro de 2016 de [http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila\\_bula/frmVisualizarBula.asp?pNuTransacao=9200452013&pIdAnexo=1851196](http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila_bula/frmVisualizarBula.asp?pNuTransacao=9200452013&pIdAnexo=1851196))
- Agrawal, S., & Nadel, S. (2011). Acute Bacterial Meningitis in Infants and Children. *Pediatric Drugs*, 13(6), 385–400.
- Albert Einstein Hospital Israelita. (2008). Diretrizes Assistenciais. *Diretrizes Assistenciais*, 1–5
- Aubrey, R., & Tang, C. (2003). The Pathogenesis of Disease Due to Type b Haemophilus influenzae. In *Haemophilus influenzae Protocols* (pp. 29–50). New Jersey: Humana Press.
- Bajanca-Lavado, M. P., & Betencourt, C. (2010). Changes in the epidemiology of Haemophilus influenzae invasive disease, in Portugal, after the introduction of the Hib vaccine. *International Journal of Infectious Diseases*, 14(Icid), e219.
- Bajanca-Lavado, M. P., Betencourt, De Jesus, A. M., Oliveira, H., Castro, A. P. (2014). Characteristics of Haemophilus influenzae invasive isolates from Portugal following routine childhood vaccination against H. influenzae serotype b (2002-2010). *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 33(4), 603–610.
- Baxter. (n.d.). vacina meningocócica C (conjugada), 12–13.
- Baxter, P. A. (1992). A beloved physician; John Abercrombie MD (EDIN) FRCSE, FRCPE, MD (Oxon) 1780-1844. *Scottish Medical Journal*, 37(4), 119–21.
- Becton Dickinson GmbH. (2011). Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II. *Deutschsprachige Gebrauchsanweisung*, 1–5.
- Bergmann, G., Quincke, H., Major, R. H., Quincke, H., Quincke, H., Quincke, H., & Quincke, H. (1966). HEINRICH IRENAEUS QUINCKE (1842-1922)—CLINICIAN OF KIEL. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*, 196(13), 1152.
- Brasil, N. (1981). Meningites. *Guia de Vigilância Epidemiológica*, 0, 39–60.
- Brouwer, M. C., Tunkel, A. R., & van de Beek, D. (2010). Epidemiology, diagnosis, and antimicrobial treatment of acute bacterial meningitis. *Clinical Microbiology Reviews*, 23(3), 467–92.
- Browall, S., Backhaus, E., Naucler, P., Galanis, I., Sjöström, K., Karlsson, D., Henriques-Normark, B. (2014). Clinical manifestations of invasive pneumococcal disease by vaccine and non-vaccine types. *European Respiratory Journal*, 44(6), 1646–57.
- Cartwright, K. (2001). Microbiology and laboratory diagnosis. *Methods in Molecular Medicine*, 67, 1–8.

- Cavaco, A., Gouveia, C., Rodrigues, F., Prata, F., & Varandas, L. (2014). Recomendações sobre vacinas: atualização 2014. *Comissão de Vacinas Da Sociedade de Infeciologia Pediátrica E Sociedade Portuguesa de Pediatria*, 1–28.
- CDC. (2010). Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease. *Mmwr*, 59(No. RR-10), 1–32.
- CDC. (2016a). Definition & Symptoms. (Consultado a 25 de Outubro de 2016, de <http://www.cdc.gov/listeria/definition.html>)
- CDC. (2016b). Hib Symptoms and Signs. (Consultado a 25 de Outubro de 2016, de <http://www.cdc.gov/hi-disease/about/symptoms.html>)
- CDC. (2016c). Parasitic Meningitis. (Consultado a 22 de Novembro de 2016, de <http://www.cdc.gov/meningitis/parasitic.html>)
- CDC: Bacterial Meningitis Infection. (2016). (Consultado a 21 de Outubro de 2016, de <http://www.cdc.gov/meningitis/bacterial.html>)
- CDC: Listeria Sources. (2016). (Consultado a 14 de Outubro de 2016, de <http://www.cdc.gov/listeria/sources.html>)
- CDC: Listeriosis. (2016). (Consultado a 14 de Outubro de 2016, de <http://www.cdc.gov/listeria/index.html>)
- CDC: Meningococcal. (2016). (Consultado a 13 de Outubro de 2016, de <http://www.cdc.gov/meningococcal/about/causes-transmission.html>)
- CDC: Pneumococcal Symptoms. (2016). (Consultado a 25 de Outubro de 2016, de <http://www.cdc.gov/pneumococcal/about/symptoms-complications.html>)
- CDC: Pneumococcal Transmission. (2016). (Consultado a 8 de Outubro de 2016, de <http://www.cdc.gov/pneumococcal/about/risk-transmission.html>)
- CDC: Prevention of Perinatal Group B. (2016). (Consultado a 16 de Outubro de 2016, de <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5910a1.htm>)
- CDC - Haemophilus influenzae. (2016). (Consultado a 13 de Agosto de 2016, de <http://www.cdc.gov/hi-disease/about/index.html>)
- CDC - Hib Types of Infection and Causes. (2016). (Consultado a 13 de Agosto de 2016, de <http://www.cdc.gov/hi-disease/about/types-infection.html>)
- CDC - Pneumococcal Disease. (2016). (Consultado a 8 de Outubro de 2016, de <http://www.cdc.gov/pneumococcal/clinicians/streptococcus-pneumoniae.html>)
- Cedime. (2014). Vacinação contra doenças pneumocócicas nos adultos, 51,1–3.
- Centers for Disease Control and Prevention. (1993). Meningococcal disease. *Epidemiology and Prevention of Vaccine-Preventable Diseases*, 39(1), 3–25.
- Centres for Disease Control and Prevention. (2015). Haemophilus influenzae type b vaccination. *Epidemiology and Prevention of Vaccine-Preventable Diseases*, 119–134.

- Christodoulides, M. (2013). *Meningitis: Cellular and Molecular Basis*. Londres: CAB International.
- Collee, J., Duguid, J., Fraser, A., et al, (1993), *Microbiologia médica*, 6ª edição. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian pp. 481-483, 493-494, 497, 532-534, 573-575, 593-594
- Comar, S. R., Machado, N. D. A., Dozza, T. G., & Haas, P. (2009). Análise citológica do líquido cefalorraquidiano. *Estudos de Biologia Ambiente E Diversidade*, 31(73/74/75), 93–102.
- Costa HPF. (2011). Prevenção da Doença Perinatal Pelo Estreptococo do Grupo B. *Sbp*, 1-18
- CUF. (2016). (Consultado a 20 de Outubro de 2016, de <https://www.saudecuf.pt/mais-saude/doencas-a-z/meningite>)
- Dias, P. G. (1997). VACINAS ANTI-HEPATITE E ANT -HAEMIPH LUS INF ENZAE TIPO b, 129–138.
- Di Terlizzi, R., & Platt, S. (2006). The function, composition and analysis of cerebrospinal fluid in companion animals: Part I – Function and composition. *The Veterinary Journal*, 172(3), 422–431.
- Direcção Geral de Saúde. (2016). Programa nacional de vacinação - 2017, 2–33.
- Doherty, C. M., & Forbes, R. B. (2014). Diagnostic Lumbar Puncture. *The Ulster Medical Journal*, 83(2), 93–102.
- EMA. (n.d.-a). Prevenar 13. (Consultado a 20 de Dezembro de 2016, de [http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/001104/human\\_med\\_001220.jsp&mid=WC0b01ac058001d124](http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/001104/human_med_001220.jsp&mid=WC0b01ac058001d124))
- EMA. (n.d.-b). RCM: Bexsero, 2–33.
- EMA. (2015). Prevenar 13, 1(0), 810–815.
- Esperança Pina, J.A, (2000), *Anatomia humana da relação - parte II*, Lisboa, Lidel, edições técnicas Lda. Capítulo 47 pp. 372,374-375, 381.
- Estreptococos Classificação. (2016). (Consultado a 16 de Outubro de 2016, de <http://www.biomedicinapadiao.com.br/2011/04/estreptococos-classificacao.html>)
- European Centre for Diseases Prevention and Control (ECDC). (2013). *European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance of invasive bacterial diseases in Europe, 2011. Stockholm: ECDC.*
- Faria, S., & Farhat, C. (1999). Meningites bacterianas-diagnóstico e conduta. *Jornal de Pediatria*, 75(Supl.1), S46–S56.
- FDA. (2009). INDICATIONS AND USAGE HIBERIX ® is indicated for active immunization for the prevention of invasive disease caused by Haemophilus influenzae type b . HIBERIX is approved for use in children 6 weeks through 4 years of age ( prior to fifth birthday ). The e, 1–15.

- Fildes, P. (1956). Richard Friedrich Johannes Pfeiffer. 1858-1945. *Biographical Memoirs of Fellows of the Royal Society*, 2, 237.
- Glimåker, M., Johansson, B., Bell, M., Ericsson, M., Bläckberg, J., Brink, M., Sjölin, J. (2013). Early lumbar puncture in adult bacterial meningitis—rationale for revised guidelines. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 45(9), 657–663.
- Gomes, M. J. P. (2013). Gênero *Streptococcus* spp. *Favet-Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul*, 1–76.
- Governo de Macau. (2016). *Listeria Monocytogenes*. (Consultado a 14 de Outubro de 2016, de <https://foodsafety.gov.mo/p/sense/detail.aspx?id=487559f1-983a-40cf-bcbd-103bc70a9b27>)
- Gray, L. D., & Fedorko, D. P. (1992). Laboratory diagnosis of bacterial meningitis. *Clinical Microbiology Reviews*, 5(2), 130–45.
- Guiver, M., Borrow, M., (2001), *PCR diagnosis*, New Jersey, Humana Press
- Harrison, L. H. (2010). Epidemiological profile of meningococcal disease in the United States. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 50 Suppl 2(Supplement 2), S37-44.
- Harrison, 1999, *Medicina interna compêndio*, 14ª edição, McGraw Hill, pp 1017-1019
- Hedari, C. P., Khinkarly, R. W., & Dbaibo, G. S. (2014). Meningococcal serogroups A, C, W-135, and Y tetanus toxoid conjugate vaccine: a new conjugate vaccine against invasive meningococcal disease. *Infection and Drug Resistance*, 7, 85–99.
- Henriques-Normark, B., & Tuomanen, E. I. (2013). The pneumococcus: epidemiology, microbiology, and pathogenesis. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 3(7).
- Hof, H. (1996). *Miscellaneous Pathogenic Bacteria. Medical Microbiology*. University of Texas Medical Branch at Galveston.
- INFARMED. (2010). RCM Ceftriaxona, 2–5.
- INFARMED. (2014). Folheto informativo: Meningitec, 1–7.
- INFARMED. (2016). Formulário Hospitalar Nacional de Medicamentos. (Consultado a 1 de Dezembro de 2016 de <https://www.infarmed.pt/formulario/navegacao.php?paiid=8>)
- Kelly, D. F., Moxon, E. R., & Pollard, A. J. (2004). Haemophilus influenzae type b conjugate vaccines. *Immunology*, 113(2), 163–74.
- Killer, H. E. (2013). Production and Circulation of Cerebrospinal Fluid With Respect to the Subarachnoid Space of the Optic Nerve. *Journal of Glaucoma*, 22, S8–S10.
- Kim, B. J., Hancock, B. M., Del, N., Bermudez, A., Traver, D., & Doran, K. S. (2015). Microbial Pathogenesis *Streptococcus agalactiae* infection in zebra fish larvae, 57-60.
- Klosterman, L. (2007). *Meningitis*. New York: Matshall Cavendish Corporation.
- Korir, M. L., Laut, C., Rogers, L. M., Plemmons, J. A., Aronoff, D. M., & Manning, S. D.

- (2016). Differing mechanisms of surviving phagosomal stress among group B *Streptococcus* strains of varying genotypes. *Virulence*, 1–14.
- Kosina, P., Rumlarová, Š., Plíšek, S., & Smetana, J. (2013). [Clinical manifestations of pneumococcal infections and the current prevention options]. *Klinická Mikrobiologie a Infekční Lekarství*, 19(4), 120–7.
- Krebs, V. L. J., & Taricco, L. D. (2004). Fatores de risco para meningite bacteriana no recém-nascido. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria*, 62(3a), 630–634.
- Lee, J. E., Cho, W. K., Nam, C. H., Jung, M. H., Kang, J. H., & Suh, B. K. (2010). A case of meningoencephalitis caused by *Listeria monocytogenes* in a healthy child. *Korean Journal of Pediatrics*, 53(5), 653–656.
- Lewis, C., & Clarke, S. C. (2003). Identification of *Neisseria meningitidis* serogroups Y and W135 by *siaD* nucleotide sequence analysis. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(6), 2697–9.
- Looseley, A. (2009). Corning and cocaine: the advent of spinal anaesthesia. *Grand Rounds*, 9, L1–L4.
- Mahendru, G., & Chong, V. (2009). Meninges in cancer imaging. *Cancer Imaging: The Official Publication of the International Cancer Imaging Society*, (Special issue A), S14–21.
- Mallet, E., Belohradsky, B. H., Lagos, R., Gothefors, L., Camier, P., Carrière, J.-P., ... Hexavalent Vaccine Trial Study Group. (2004). A liquid hexavalent combined vaccine against diphtheria, tetanus, pertussis, poliomyelitis, *Haemophilus influenzae* type B and hepatitis B: review of immunogenicity and safety. *Vaccine*, 22(11–12), 1343–1357.
- Manchanda, V., Gupta, S., & Bhalla, P. (2006). Meningococcal disease: history, epidemiology, pathogenesis, clinical manifestations, diagnosis, antimicrobial susceptibility and prevention. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 24(1), 7–19.
- Matos, A. (2012). História da meningite. (Consultado a 20 de Abril de 2016, de [http://www.news-medical.net/health/History-of-Meningitis-\(Portuguese\).aspx](http://www.news-medical.net/health/History-of-Meningitis-(Portuguese).aspx))
- Mayo clinic. (2016). Symptoms and causes - Group B strep disease. (Consultado a 25 de Outubro de 2016, de <http://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/group-b-strep/symptoms-causes/dxc-20200550>)
- Meats, E., Feil, E. J., Stringer, S., Alison, J., Goldstein, R., Kroll, J. S., ... Cody, A. J. (2003). Characterization of Encapsulated and Noncapsulated *Haemophilus influenzae* and Determination of Phylogenetic Relationships by Multilocus Sequence Typing Characterization of Encapsulated and Noncapsulated *Haemophilus influenzae* and Determination of Phylogen. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(4), 1623–1636.
- Medipédia. (2016). Meninges e líquido cefalorraquidiano. (Consultado a 13 de Abril de 2016,

- de <http://www.medipedia.pt/home/home.php?module=artigoEnc&id=308>)
- Meirelles, D. L., Silva, P. da, Silva, J. O., Carneiro, A. M. M., & Medeiros, M. I. C. (2011). Investigação de meningite por *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* e *Haemophilus influenzae* na região de Ribeirão Preto, SP, Brasil, utilizando métodos laboratoriais convencionais. *BEPA. Boletim Epidemiológico Paulista (Online)*, 8(85), 15–22.
- Ministério da Saúde. (2010). Protocolo de quimioprofilaxia para contactantes de casos de meningite bacteriana, 1.
- Mook-Kanamori, B. B., Geldhoff, M., van der Poll, T., & van de Beek, D. (2011). Pathogenesis and pathophysiology of pneumococcal meningitis. *Clinical Microbiology Reviews*, 24(3), 557–91.
- Morse, S. A. (1996). *Neisseria, Moraxella, Kingella and Eikenella. Medical Microbiology*. University of Texas Medical Branch at Galveston.
- Murray, P., Rosenthal, K., & Pfaller, M. (2010). *Microbiologia Médica* (6ª Edição). São Paulo: Elsevier Editora Lda.
- Musher, D. M. (1996). *Haemophilus Species. Medical Microbiology*. University of Texas Medical Branch at Galveston.
- National Center for Immunization and Respiratory Diseases. (2014). PCR for Detection and Characterization of Bacterial Meningitis Pathogens: *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae*, and *Streptococcus pneumoniae*. *Centers for Disease Control and Prevention*, (3).
- NCBI. (2016). Albert Fraenkel - NLM Catalog - NCBI. (Consultado a 28 de Novembro de 2016, de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/101415230>)
- Novartis. (2015). Bexsero® vaccine approved by FDA for the prevention of meningitis B, a leading cause of bacterial meningitis in the US. (Consultado a 22 de Novembro de 2016, de <https://www.novartis.com/news/media-releases/novartis-bexsero%C2%AE-vaccine-approved-fda-prevention-meningitis-b-leading-cause>)
- Oliveira, F., Rios, L., Bomfim, A., Profirio, F., Salomão, J., (2013), Meningite bacteriana: uma breve revisão acerca dos factores de risco que levam à susceptibilidade para o desenvolvimento em crianças e adolescentes, *Jornal de pediatria*.
- Pandey, P., Jha, B., & Shrestha, A. (2015). Cytological and Biochemical Profile of Cerebrospinal Fluid from Meningitis Patients. *Annals of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 1(1), 2–6.
- Patras, K. A., & Doran, K. S. (2016). A Murine Model of Group B & Vaginal Colonization. *Journal of Visualized Experiments*, (117).
- Patterson, M. J. (1996). *Streptococcus. Medical Microbiology*. University of Texas Medical

Branch at Galveston.

- Pereira, P. R., Borges, F., & Mansinho, K. (2013). Duração da terapêutica antibiótica na meningite bacteriana. *Acta Medica Portuguesa*, 26(1), 43–50.
- Polanco, T. O., Alothman, S., Depaz, H., & Ramcharan, A. (2016). A rare case of listeriosis, acute cholecystitis and multiple myeloma. *Journal of Surgical Case Reports*, 2016(5)
- Pourkaveh, B., Ahmadi, M., Eslami, G., & Gachkar, L. (2016). Factors contributes to spontaneous abortion caused by *Listeria monocytogenes*, in Tehran, Iran, 2015. *Cellular and Molecular Biology (Noisy-Le-Grand, France)*, 62(9), 3–10.
- Prata, F., Cabral, M., Ventura, L., Ferreira, P. R., & Brito, M. J. (n.d.). Recomendações da Sociedade de Infecçologia Pediátrica e da Sociedade de Cuidados Intensivos Pediátricos da SPP, 1–18.
- Prior, P. (2012). CHAPTER 9 Identification and Characterization of *Haemophilus influenzae*, 2, 1–19.
- Rajagopal, L. (2009). Understanding the regulation of Group B Streptococcal virulence factors. *Future Microbiology*, 4(2), 201–21.
- Sáfadi, M. A. P., & Barros, A. P. (2006). Vacinas meningocócicas conjugadas: eficácia e novas combinações. *Jornal de Pediatria*, 82(3), s35–s44.
- Sakka, L., Coll, G., & Chazal, J. (2011). Anatomy and physiology of cerebrospinal fluid. *European Annals of Otorhinolaryngology, Head and Neck Diseases*, 128(6), 309–316.
- SARA. Divisão das Doenças Transmissíveis. (1999). Meningites - Normas de procedimento DGS. *Direcção Geral de Saúde*, 1–25.
- Savini, V., Marrollo, R., D'Antonio, M., D'Amario, C., Fazii, P., & D'Antonio, D. (2013). *Streptococcus agalactiae* vaginitis: nonhemolytic variant on the Liofilchem® Chromatic StreptoB. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 6(8), 1693–5.
- Seeley, R., Stephens, T. e Tate, P. (2008). *Anatomia & Fisiologia*. 8ª Edição. Loures, Lusociência – edições técnicas e científicas, Lda, pp.388, 426-427, 457-458, 459, 470-475
- Silva, V., Rocha, S., Henriques, M., Machado, D., & Gonçalves, E. (2010). Meningite A *Haemophilus influenzae* na adolescência. *Acta Médica Porto*, 23(4), 735–738.
- Sociedade de infecçologia Pediátrica, C. técnica de vacinação. (2003). Recomendações para a vacinação anti-pneumocócica, 373–374.
- Song, J. Y., Nahm, M. H., & Moseley, M. A. (2013). Clinical implications of pneumococcal serotypes: invasive disease potential, clinical presentations, and antibiotic resistance. *Journal of Korean Medical Science*, 28(1), 4–15.
- State department Oklahoma. (2015). NEISSERIA MENINGITIDIS (MENINGOCOCCAL DISEASE), 1–6.

- Street, W. V. B. (2009). Material safety data sheet Material safety data sheet, (2008), 1–8.
- Sukcharoen, N., Ngeamjirawat, J., Chanprasit, Y., & Aribarg, A. (1994). A comparison of Makler counting chamber and improved Neubauer hemocytometer in sperm concentration measurement. *Journal of the Medical Association of Thailand = Chotmaihet Thangphaet*, 77(9), 471–6.
- Sztajn bok, D. C. das N. (2012). Meningite bacteriana aguda. *Revista de Pediatria SOPERJ*, 13(2), 72–76.
- Tacon, C. L., Flower, O., Tacon, C. L., & Flower, O. (2012). Diagnosis and Management of Bacterial Meningitis in the Paediatric Population: A Review. *Emergency Medicine International*, 2012, 1–8.
- Tunkel, A. R., Hartman, B. J., Kaplan, S. L., Kaufman, B. A., Roos, K. L., Scheld, W. M., & Whitley, R. J. (2004). Practice Guidelines for the Management of Bacterial Meningitis. *Clinical Infectious Diseases*, 39(August), 1267–84.
- Tyler, K. L. (2009). Chapter 28 A history of bacterial meningitis. *Handbook of Clinical Neurology*, 95(C), 417–433.
- Watson, D. A., Musher, D. M., Jacobson, J. W., & Verhoef, J. (1993). A Brief History of the Pneumococcus in Biomedical Research: A Panoply of Scientific Discovery Description of the Organism and Demonstration of Its Virulence. *Clinical Infectious Diseases*, 17, 913–24.
- WHO. (2011). Primary Culture and Presumptive Identification of *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, and *Haemophilus influenzae*. *Laboratory Methods for the Diagnosis of Meningitis*, 46.
- WHO. (2014). Vaccine Meningococcal. (Consultado a 29 de Novembro de 2016, de <http://www.who.int/ith/vaccines/meningococcal/en/>)
- WHO. (2016). Highly contagious meningitis outbreaks continue in African countries. (Consultado a 22 de Novembro de 2016, de <http://www.afro.who.int/en/media-centre/afro-feature/item/7579-highly-contagious-meningitis-outbreaks-continue-in-african-countries.html>)
- World Health Organization. (2016). Modelo de bula vacina contra.
- Yamanishi, H., Imai, N., Suehisa, E., Kanakura, Y., & Iwatani, Y. (2007). Determination of leukocyte counts in cerebrospinal fluid with a disposable plastic hemocytometer. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 21(5), 282–285.