

MENINGITE CEREBROSPINAL E SULFAMIDAÇÃO MACIÇA, PREVENTIVA.

Ensinaamentos sôbre sua diagnose laboratorial adquiridos durante um surto epidêmico.

L. DE SALLES GOMES,
M. BRITTO E SILVA,
J. C. RIBAS,
E. RUGAI,
A. AMOROSINO
e
J. J. DELLE CAVE.
Do Instituto "Adolfo Lutz"

Durante o surto epidêmico de meningite cerebrospinal verificado em alguns municípios da zona mogiana do Estado de São Paulo (dez. 1947-abril 1948) foi-nos dado observar alguns aspectos curiosos e para nós inéditos, a respeito das modificações de ordem biomorfológica por que pode passar a *Neisseria meningitidis*, quando em líquidos cefalorraquidianos provenientes de doentes preventivamente sulfamidados, e criando, destarte, os mais sérios embaraços ao laboratorista na sua missão de procurar estabelecer o diagnóstico etiológico do mal.

Os primeiros casos de meningite aparecidos na cidade de Casa-Branca, tiveram confirmação bacterioscópica pelo laboratório do Centro de Saúde local, modestamente instalado mas em condições de, por meio de exames diretos, bacterioscópicos, poder atender às exigências das autoridades sanitárias locais.

Em face da confirmação bacterioscópica dêsses primeiros casos, pelo laboratório local, movimentaram-se para logo os sanitaristas da região, no sentido de se adotarem imediatas medidas profiláticas, pois novos casos continuavam surgindo, simultâneamente, nas zonas urbana e suburbana, tendo já aparecido alguns nos sítios e fazendas afastados da cidade.

A experiência de D. M. KUHNS *et al.* (1943), que, em 1943, com o uso preventivo da sulfadiazina, haviam dominado com sucesso surtos epidêmicos verificados entre soldados pertencentes ao 4.º comando na Geórgia (E.U.), e as observações de PHAIR, SCHOENBACH e ROOT (1944), sugerindo o uso das sulfonamidas, pelos portadores, como medida profilática capaz de deter a disseminação da moléstia, estavam a indicar claramente às autoridades

sanitárias o caminho a seguir, dada a gravidade da situação na cidade de Casa-Branca, onde vários casos já haviam sido notificados, e a possibilidade de propagação às cidades vizinhas.

Nessas condições foi feita a aquisição e distribuição de comprimidos de sulfadiazina e de sulfamerazina, à maior parte da população da cidade, bairros e fazendas.

A dosagem preventiva distribuída foi de 2 g de 4 em 4 dias, durante 45 dias, para indivíduos de 10 a 49 anos, excluídos os insuficientes hepáticos. É óbvio que essa dosagem não foi igualmente observada por todos; entretanto, pode-se dizer que a maioria da população fez uso do medicamento.

FORMAS ATÍPICAS DO MENINGOCOCO E CULTURAS NEGATIVAS

Após as medidas de sulfamidação total, postas imediatamente em prática pelas autoridades sanitárias, começaram a surgir no pequeno laboratório do Centro de Saúde alguns embaraços, mais ou menos sérios, na pesquisa e identificação do germe responsável pela epidemia.

Nesse passo foi que o Sr. Diretor Geral do Departamento de Saúde do Estado de São Paulo solicitou a colaboração do Instituto "Adolfo Lutz", tendo o diretor deste laboratório, na ocasião, um de nós (L.S.G.), designado a ir a Casa-Branca de um biólogo e de dois técnicos de laboratório para auxiliarem os diagnósticos bacteriológicos dos casos suspeitos que fôsem aparecendo na cidade, nos seus arredores ou nas fazendas. Nessa ocasião foram reexaminadas algumas preparações existentes ainda no laboratório local, referentes aos primeiros casos aparecidos, e êsse exame não deixou dúvidas a respeito da exatidão diagnóstica de diplococos do gênero *Neisseria*.

Como houvesse o biólogo, depois de alguns dias, comunicado os sérios entraves que estava encontrando no estabelecer diagnósticos em líquidos que embora turvos, não apresentavam ao exame bacterioscópico, os diplococos típicos da infecção, mas somente elementos suspeitos (os quais, entretanto, não puderam ser confirmados por provas culturais positivas), decidiu o diretor do Instituto "Adolfo Lutz" a sua ida imediata ao foco epidêmico a fim de, *in loco*, poder estudar a situação tal como se apresentava e procurar resolvê-la.

E ao chegar àquela localidade, na primeira semana de fevereiro, em companhia do Diretor Geral, Dr. Paulo C. A. Antunes, pôde perceber para logo um certo murmúrio entre sanitaristas, epidemiologistas e clínicos, de que era possível que se tratasse de epidemia produzida por algum vírus, provavelmente a cório-meningite linfocitária, pois os líquidos apresentavam-se turvos e entretanto nenhum diplococo típico era visto nos exames bacterioscópicos, e nenhuma cultura do germe era também conseguida.

Estas idéias tiveram sua origem em conclusões algo apressadas de um observador.

Em meio aos entrechoques das mais variadas opiniões havia, é certo, lugar para uma consideração sensata: a observação dos dados clínicos e epidemiológicos existentes e a experiência, já evidenciada, dos brilhantes resultados terapêuticos mercê do uso intratecal da penicilina, a qual vinha sendo aplicada sistematicamente em todos os casos cujos líquidos revelassem a mais ligeira turvação. Êsses dados e mais os achados bacterioscópicos de diplococos Gram-negativos típicos nos sedimentos liquóricos dos primeiros casos aparecidos, por si sós, estavam a indicar ao bacteriologista o rumo certo na orientação das suas pesquisas, deixando para investigações posteriores, se necessárias, a eventual interferência de algum vírus no surto epidêmico que se desenvolvia.

O primeiro caso aparecido nesta altura dos acontecimentos foi o de um menor de 10 a 12 anos, removido à tarde, da zona dos armazéns de café para o Hospital de Isolamento improvisado na cidade. O menino apresentava febre, dor de cabeça e rigidez muito ligeira da nuca. Dias antes tomara alguns comprimidos de "Sulfa". Feita a punção, obteve-se líquido ligeiramente turvo, sendo recomendado que se não injetasse penicilina, visto que o seu estado geral não era mau, e porque uma nova punção feita no dia seguinte, poderia trazer esclarecimentos interessantes a respeito do desenvolvimento da infecção, e da citologia e bacterioscopia do líquido.

O exame de sedimento desse líquido cefalorraquidiano, corado com azul policrômico de Unna, e feito entre lâmina e lamínula, revelou desde logo que se tratava de uma polinucleose neutrófila, não se encontrando entre os glóbulos, nenhum linfócito.

Com êste exame ficou desde logo completamente afastada a idéia de que pudesse aquêle caso tratar-se de cório-meningite linfocitária, uma vez que nesta modalidade de meningite, os elementos figurados encontrados no líquido são em sua absoluta maioria os linfócitos.

É bem verdade que notamos, desde logo, uma certa retração dos polimorfonucleares, com visível diminuição do seu diâmetro, além de uma distribuição um tanto desigual do corante, tanto no seu citoplasma como nos núcleos.

Essa retração e a distribuição tintorial defeituosa, mais ainda se tornaram acentuadas nas preparações fixadas pelo calor e coradas pelos métodos de Gram e de Ziehl-Nielsen, para pesquisa eventual de germes. Após fixação e coloração podiam-se ver polimorfonucleares muito retraídos, com diâmetro que não excedia o dos linfócitos ou mesmo o das hemácias, e apresentando diferenciação nuclear difícil de ser percebida, donde a possível confusão com linfócitos, num exame perfunctôriamente realizado.

Isso quanto à parte propriamente citológica do sedimento liquórico.

Quanto à parte bacterioscópica notou-se, desde logo, nas preparações coradas pelo Gram, a presença de pequenos elementos Gram-negativos,

extracelulares, em meio a retículos fibrinosos, por vêzes paracelulares, ora dois a dois, ora únicos e circulares, quase todos em geral representando, em tamanho, a metade e até a terça parte da medida comum do meningococo habitualmente encontrado em líquidos oriundos de casos de meningite cerebrospinal, e muitas vêzes apresentavam um halo claro ao seu redor.

A localização intracelular não foi vista nenhuma vez, talvez devido à retração e má coloração dos elementos figurados, como acima foi referido.

Prosseguindo-se o exame dêste caso, após demorada pesquisa, foi encontrada uma forma de diplococo extracelular, com morfologia e tamanho já um tanto mais aproximados dos que são habitualmente vistos e bastante conhecidos.

O restante do centrifugado foi utilizado para semeaduras em ágar-ôvo, ágar-sôro, caldo-sôro, ágar-sangue com ácido paraminobenzóico, sendo alguns tubos colocados em atmosfera de dióxido de carbono, e todos incubados a 37°C.

No dia seguinte, o pequeno doente achava-se mais ou menos nas mesmas condições do dia anterior. Nova punção, novo líquido turvo, mas êste já deixando entrever, ao exame bacterioscópico, algumas formas mais características de *Neisseria*, muito embora apresentassem os polimorfonucleares as mesmas atípicas morfológicas e tintoriais. Injeção intratecal de penicilina. Cura rápida.

Em nenhum tubo de cultura houve desenvolvimento do germe, durante 7 dias de observação (caldo-sôro glicosado, ágar-sangue de coelho e ágar-ôvo de Price).

Podemos adiantar que inúmeros outros casos ulteriormente examinados, tiveram semeaduras igualmente estéreis, mesmo utilizando-se meios de cultivo contendo ácido paraminobenzóico (Casa-Branca, Tambaú, São João da Boa Vista, Santa-Rosa, Fazenda Amália).

Os diagnósticos bacterioscópicos começaram desde então a ser baseados nos conhecimentos adquiridos em plena campanha sanitária, em cujo desenvolvimento o uso preventivo e maciço das sulfonamidas, foi por um lado criando grandes dificuldades para o laboratorista enquanto que por outro, ia operando a transformação de quase todos os novos casos em formas benignas, incipientes, de evolução muito lenta, formas verdadeiramente ambulatoriais, de tal modo que uma tão alta incidência do mal (mais de 200 casos) teve como resultado a cura praticamente de todos.

O início da epidemia na cidade de Tambaú, vizinha a Casa-Branca, foi por nós pressentido com a descoberta de dois casos iniciais ainda não sulfamidados, cujos líquidos cefalorraquidianos apresentavam polinucleose e alguns piócitos, bem como diplococos intra e extracelulares típicos.

Todos os casos que se seguiram a êstes, tanto em Tambaú como, depois, em Santa-Rosa e na Fazenda Amália, apresentavam-se bacterioscopicamente

atípicos, repetindo-se o mesmo quadro de modificações citobacteriológicas antes observado em Casa-Branca, mas já agora inteiramente controladas pelos técnicos e biólogos encarregados da parte laboratorial.

Os desenhos e microfotografias que ilustram o presente trabalho, dão idéia da morfologia atípica com que se apresentavam os meningococos logo após a sulfamidação profilática da população, no curso do surto epidêmico de meningite cerebrospinal irrompido na zona mogiana do nosso Estado, nos primeiros meses do ano de 1948.

DUAS CONFIRMAÇÕES CULTURAIS DE *NEISSERIA MENINGITIDIS*

São João da Boa Vista, cidade vizinha a Casa-Branca e com a qual mantém um intenso tráfico rodado e ferroviário, foi, desde os primórdios do surto epidêmico, objeto dos maiores cuidados e permanente vigilância por parte das autoridades sanitárias.

Dentre os casos de meningite ali ocorridos, um houve, que não recebera sulfa preventivamente e que foi descoberto ao acaso, numa das enfermarias da Santa-Casa local. Êste caso serviu para completa elucidação diagnóstica do agente etiológico. O líquido raquidiano dêle colhido era intensamente turvo e foi remetido por portador do Instituto "Adolfo Lutz", em São Paulo, tendo o exame bacterioscópico, imediatamente realizado, revelado a presença de inúmeros piócitos e de diplococos Gram-negativos, intracelulares, do gênero *Neisseria*.

As sementeiras dêsse material foram positivas, tendo sido feita a identificação do germe em série de hidratos de carbono e em presença de soros aglutinantes específicos. Essas provas revelaram tratar-se de *Neisseria meningitidis*, tipo III.

Outro caso refere-se a um doente da fase inicial da epidemia em Casa-Branca, cujo líquido cefalorraquidiano foi levado para exame ao Laboratório Regional do Instituto "Adolfo Lutz", em Ribeirão-Preto, onde foi feito diagnóstico de meningococo pelo exame bacterioscópico, cultural e passagem do germe em série de hidratos de carbono. Êste caso foi, mais tarde, trazido ao conhecimento do Sr. Diretor do Instituto "Adolfo Lutz", pelo digno biólogo daquela Laboratório Regional, Sr. Otávio Barachini.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os fatos aqui relatados foram, de um modo sucinto, levados ao conhecimento da Diretoria Geral do Departamento de Saúde do Estado de São Paulo, fazendo parte de um capítulo do relatório geral de 1948, enviado em Janeiro de 1949 por um de nós, àquela Diretoria.

Pensamos que a sua publicação, agora, mais detalhadamente, seria de algum interesse científico, pelos seguintes principais motivos: em primeiro

lugar, por supormos que esta é a primeira vez que se observa em nosso meio um surto epidêmico de meningite cerebrospinal de tão larga amplitude, envolvendo várias cidades de uma mesma zona, algumas com população variante entre 15 a 20 mil habitantes e cuja profilaxia baseou-se na sulfamidação preventiva, maciça, da população ; depois, para despertar a atenção dos bacteriologistas e técnicos de laboratório, com relação às alterações dos elementos figurados do líquido e às dificuldades no estabelecimento do diagnóstico bacteriológico do meningococo, como conseqüência do uso preventivo do medicamento.

O moderno método profilático apresenta sem dúvida a grande virtude de proteger os sãos, de eliminar muitos dos possíveis portadores e de assegurar aos doentes que eventualmente forem aparecendo, uma evolução mais lenta e benigna da infecção, tornando-a, portanto, mais prontamente redutível às primeiras injeções intratecais de penicilina.

Em tal eventualidade, porém, deverá o bacteriologista ter sempre em mente os embaraços que poderá encontrar quando da realização dos exames dos líquidos cefalorraquidianos necessários para o diagnóstico bacteriológico do mal, exames êsses que serão, em última instância, baseados tão somente numa apreciação citológica muitas vezes precária e no achado de bactérias com morfologia alterada e, via de regra, completamente atípica.

RESUMO

Durante o surto epidêmico de meningite cerebrospinal verificado em alguns municípios da zona mogiana do Estado de S. Paulo, entre dezembro de 1947 a abril de 1948, foi-nos dado observar aspectos curiosos e para nós inéditos, sobre as modificações de ordem biomorfológica que pode apresentar a *Neisseria meningitidis*, quando em líquidos cefalorraquidianos provenientes de doentes preventivamente sulfamidados, e criando, destarte, os mais sérios embaraços ao laboratorista na sua missão de procurar estabelecer o diagnóstico etiológico do mal.

Os primeiros casos de meningite cerebrospinal, surgidos em Casa-Branca, tiveram confirmação bacterioscópica relativamente fácil pelo pequeno laboratório que serve ao Centro de Saúde local.

Como, porém, a moléstia apresentasse tendência a se alastrar epidemicamente pela cidade, com infiltração para os subúrbios e zona rural, tomaram as autoridades sanitárias providências preventivas enérgicas, iniciando rapidamente a sulfamidação da maior parte da população da cidade e arredores.

A dosagem preventiva distribuída foi de 2 g de 4 em 4 dias, durante 45 dias, para indivíduos de 10 a 49 anos, excluídos os insuficientes hepáticos.

Começaram, então, nesse passo, a surgir as primeiras dificuldades diagnósticas para o laboratório, obrigando a nossa ida imediata ao foco epidêmico,

a fim de apreciar e resolver as dúvidas existentes, tanto mais que já se propalava até a possível existência de uma epidemia causada por vírus, talvez a cório-meningite linfocitária !

Em verdade o que encontramos e prontamente resolvemos foi o que a seguir vai relatado :

Casos em sua maioria benignos, às vêzes ambulatorios e mal esboçando sintomas de meningite (temperatura, náuseas, rigidez da nuca). Os líquidos cefalorraquidianos dêles obtidos apresentavam, quase que invariavelmente, uma leve turvação, nunca porém véu fibrinoso ou purulência. Ao exame sob coloração vital, com azul policrômico de Unna, verificou-se, desde logo, tratar-se de uma polinucleose neutrófila. Porém, ao exame bacterioscópico centrifugado, corados pelo Gram, êstes polimorfonucleares apresentavam diferenças dos que são comumente encontrados : eram retraídos, com os núcleos mal diferenciados e difficilmente visíveis, de tal modo que, a vistas menos experimentadas, poderiam simular células linfocitárias. Entre os leucócitos e nas malhas de pequenos filamentos fibrinosos existentes, viam-se alguns corpúsculos Gram-negativos, ora aos pares, ora únicos e circulares, apresentando em seu redor uma auréola clara, corpúsculos êstes representando, mais ou menos, a terça ou quarta parte do tamanho do meningococo comum. Alguns dêsses cocos apareciam também alongados. Nas pesquisas mais demoradas, entretanto, podia-se encontrar um ou outro par de cocos aproximados do tamanho normal. Nenhuma cultura positiva foi obtida, mesmo nos meios contendo ácido paraminobenzóico (caldo-sôro glicosado, ágar-sangue de coelho e ágar-ôvo de Price) e mantidos a 37°C., em atmosfera de dióxido de carbono.

Os casos positivados em Casa-Branca, Tambaú, Santa-Rosa, Fazenda Arnália (os quais atingiram mais ou menos a duas centenas) tiveram seus diagnósticos baseados no simples achado citobacterioscópico de elementos celulares e bacterianos, em sua maioria, atípicos.

Verificou-se a cura, pode-se dizer, de todos, às primeiras doses intratecaes de penicilina.

O líquido de um caso não sulfamidado, de São João da Boa Vista, veio, já ao fim da epidemia, ter ao Instituto, obtendo-se dêle cultura que, bioquímica e sorolôgicamente, demonstrou tratar-se de *Neisseria meningitidis*, tipo III.

Igual identificação de *Neisseria meningitidis* foi obtida pelo Laboratório Regional do Instituto, em Ribeirão-Preto, de um líquido colhido em Casa-Branca, no comêço da epidemia, e que para lá fôra enviado.

O moderno método profilático pelas sulfas, apresenta, sem dúvida, não só a grande virtude de proteger os sãos, como também de eliminar muitos dos possíveis portadores, além de que assegura aos doentes que eventualmente forem aparecendo, uma evolução mais lenta e benigna da infecção,

tornando-a assim mais prontamente redutível às primeiras injeções intratecaes de penicilina.

Em tal eventualidade, porém, deverá o bacteriologista ter sempre em mente os embaraços que poderá encontrar, quando da realização dos exames dos líquidos cefalorraquidianos necessários para o diagnóstico bacteriológico do mal, pois êsses exames serão, em última instância, baseados tão somente numa apreciação citológica muitas vêzes precária e no achado de bactérias com morfologia alterada e, via de regra, completamente atípica.

CEREBROSPINAL MENINGITIS DURING MASSIVE PREVENTIVE SULPHAMIDE ADMINISTRATION TO THE POPULATION.

Knowledge acquired about a laboratory diagnosis during an epidemic outbreak

SUMMARY

Between December 1947 and April 1948 there was an outbreak of meningitis in a few towns on the so-called Mogiana zona of the State of São Paulo.

The first few cases turned out in Casa Branca and were diagnosed by the small local laboratory of the Health Center (Centro de Saúde) as being caused by *Neisseria intracellularis*.

Since the disease was spreading the physicians ordered massive sulphamide administration to almost all the population of the town and to that of its surroundings.

The preventive individual dose given was 2 grams every 4 days during 45 days.

Nonetheless new cases of meningitis were arising. At this time the laboratory examinations could not set clearly the diagnosis. This led the AA. to investigate *in loco*.

Most of the cases presented not very clear symptomatology and the cerebrospinal fluid was scarcely turbid. Bacteriological examination of the centrifuged sediment of the cerebrospinal fluids by Gram's method showed piknotic polymorphonuclear leucocytes with poorly stained nuclei, often simulating lymphocytes. Amidst the leucocytes, specially in the fibrinous network, a few Gram negative corpuscles could be seen; some of them were in pairs, others single, as a rule spherical, but occasionally elongated; they were surrounded by a light zone and were about one third or one fourth the size of a normal meningococcus.

No positive culture could be obtained from about 200 of these cerebrospinal fluids gotten in Casa Branca, Tambaú, Santa Rosa and Fazenda Amália.

The culture media contained para-amino-benzoic acid and were incubated at 37°C. either in ordinary atmosphere or else in a carbon dioxide one.

All of the diagnosis were based on the bacterioscopic examination and on the data above mentioned.

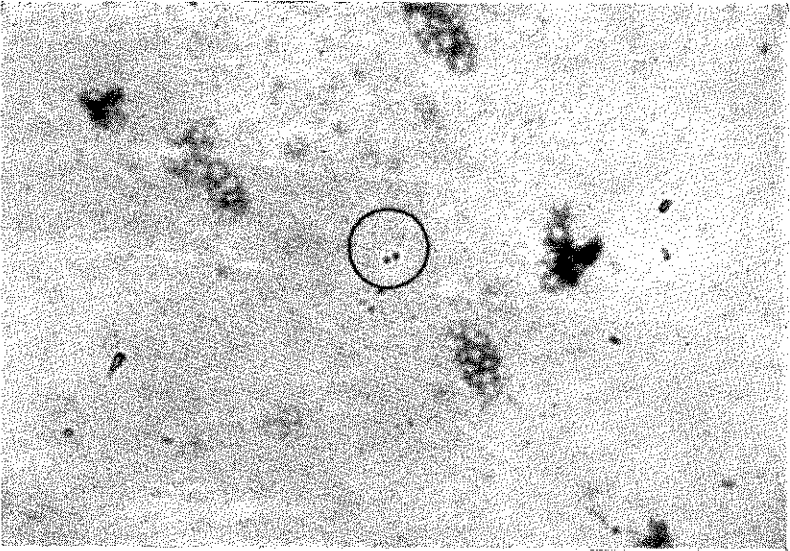
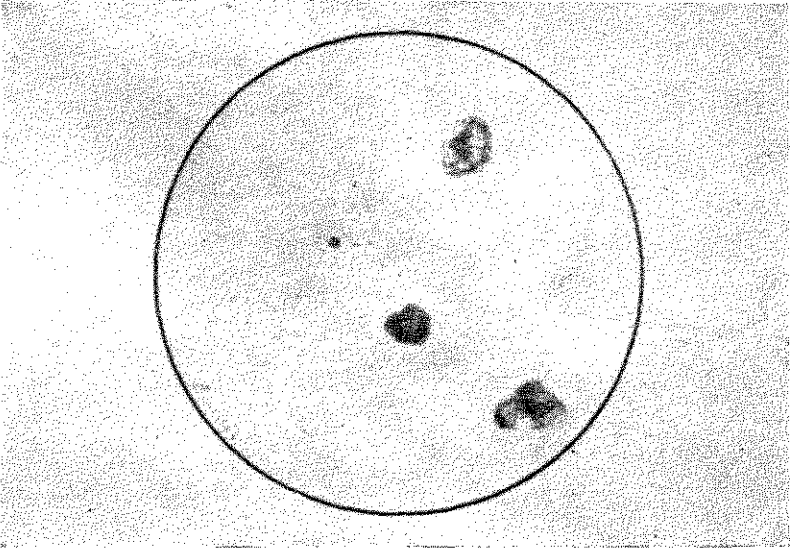
Almost all of the patients got well after the first few intraspinal doses of penicillin.

From one of the patients not subjected to prophylactic doses of sulphamide, in São João da Boa Vista, at the close of the epidemic outbreak, a *Neisseria* was isolated which was identified as *Neisseria meningitidis*, type III.

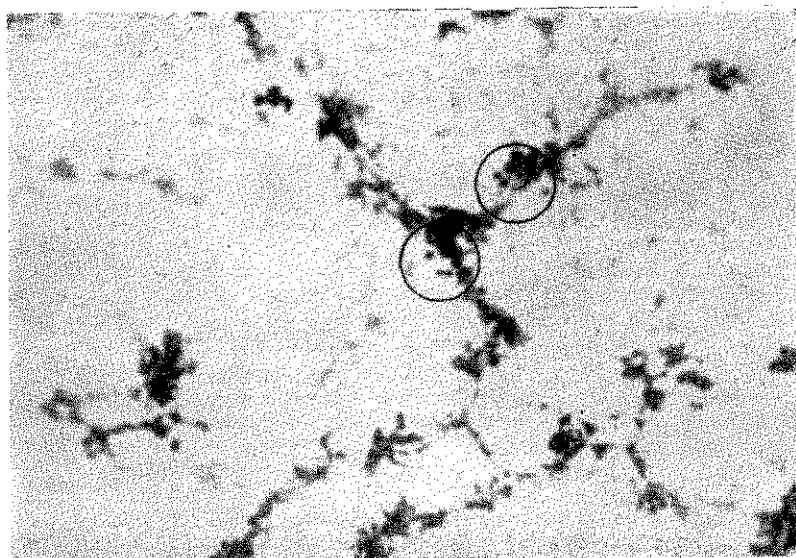
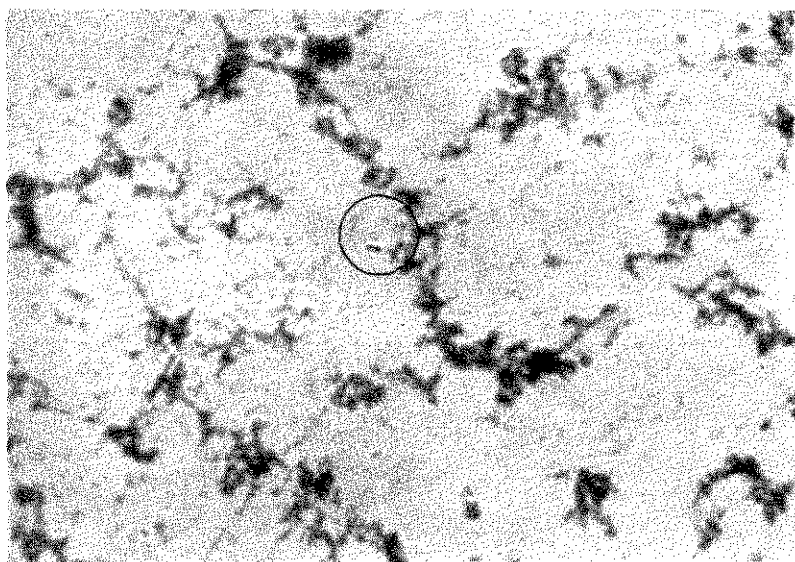
Every time that sulphamides are employed as prophylactic measures against meningitis outbreaks the bacteriologist ought to count on difficulties to diagnose the disease, because the laboratory examinations are based ultimately on often precarious cytological findings and on bacteria whose morphology are very much altered and not at all typical.

BIBLIOGRAFIA

- KUHNS, D.M. *et al.* — 1943 — The prophylactic value of sulfadiazine in the control of meningococcic meningitis. *J.Am.Med.Ass.* **123** : 335-339.
- PHAIR, J.J., E.B.SCHOENBACH e C.M.ROOT — 1944 — Meningococcal carrier studies. *Am.J.Pub.Health* **34** : 148-154.



Meningococos atípicos encontrados nos esfregaços de sedimento de líquidos cefalorraqueanos (Col. Gram) x 1. 150.



Meningococos atípicos encontrados nos esfregaços de sedimento de líquidos cefaloraqueanos (Col. Gram) x 1. 150.