

CONTRIBUIÇÃO DA IMUNOELETROFORESE CRUZADA EM
LÍQUIDO CEFALORRAQUIDIANO E/OU SORO NO DIAGNÓSTICO DE
INFECÇÕES POR *NEISSERIA MENINGITIDIS* GRUPO B NO BRASIL*

Maria das Graças Adelino ALKMIN**
Ilka Maria LANDGRAF**
Maria de Fátima Paiva VIEIRA**

RIALA6/791

ALKMIN, M.G.A.; LANDGRAF, I.M. & VIEIRA, M.F.P. - Contribuição da imunoeletroforese cruzada em líquido cefalorraquidiano e/ou soro no diagnóstico de infecções por *Neisseria meningitidis* grupo B no Brasil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 56(1):13-17, 1996.

RESUMO: Imunoeletroforese cruzada (IEC) foi empregada para pesquisar a presença de antígeno de *Neisseria meningitidis* grupo B em 185 amostras de líquido cefalorraquidiano (LCR) e/ou 125 amostras de soro. Dentre as amostras de LCR, 103 (55,7%) foram positivas apenas através da cultura e 36 (19,5%) apenas na reação de IEC. Em 34 (18,4%) destas amostras, ambos os métodos apresentaram resultados positivos. Nos casos em que a cultura foi negativa, a IEC em amostras de LCR e/ou soro contribuiu para o diagnóstico da doença meningocócica grupo B em 26,7% dos casos, sendo que em 99,1% deles já havia sido iniciada terapia antibacteriana. Considerando os resultados positivos obtidos apenas na IEC do soro, foi observada uma percentagem de 5,6%. A contribuição da IEC em LCR e/ou soro foi significativa.

DESCRIPTORIOS: Infecções por *Neisseria meningitidis* grupo B; Imunoeletroforese cruzada; Métodos diagnósticos.

INTRODUÇÃO

Durante os últimos 20 anos, *Neisseria meningitidis* grupo B tem sido a causa mais comum de doença meningocócica em muitos países^{16,18}. Desde 1988, em São Paulo, SP, tem havido um aumento de casos de meningite por *Neisseria meningitidis*, principalmente grupo B. Dados recentes mostraram uma alta incidência de meningococo grupo B em São Paulo: 63% em 1990, 51% em 1991, e 63% em 1992 e 1993¹⁷.

Diferenças na severidade da doença podem ser atribuídas a variações na virulência dos sorogrupos e também ao desenvolvimento da imunidade natural relacionada à idade. Doença meningocócica fulminante é mais comum em infecções pelos grupos B e C do que pelo grupo A. A proporção de casos em crianças menores de 5 anos é maior com grupo B e menor com grupo A⁹.

Em meningite, um diagnóstico laboratorial precoce é de grande relevância para a indicação de medidas terapêuticas adequadas.

Dentre as técnicas imunológicas usadas para detectar antígeno bacteriano em fluidos corpóreos, como líquido cefalorraquidiano (LCR), soro, urina, a imuno-eletroforese cruzada (IEC) e a aglutinação do látex (LA) têm sido largamente empregadas^{2,3,6,11,14}.

A detecção de antígeno de *Neisseria meningitidis* grupo B em fluidos corpóreos, contudo, tem sido dificultada pela ausência de um bom anti-soro grupo específico devido a pouca imunogenicidade deste polisacáride bacteriano^{7,9}.

Muitos imunorreagentes para o diagnóstico de doenças infecciosas são produzidos no Instituto Adolfo Lutz de São Paulo, SP, para suprir os labo-

* Realizado nas Seções de Imunologia e Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, com financiamento do CNPq (Nº 500782/91-1) e Instituto Adolfo Lutz.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

ratórios de Saúde Pública localizados em diferentes regiões do País.

Com o intuito de melhorar o diagnóstico de meningites bacterianas pela técnica de IEC, anti-soro policlonal anti-*N. meningitidis* grupo B, com alta sensibilidade e especificidade foi produzido no Instituto Adolfo Lutz e tem sido utilizado na rotina desde 1986¹.

Empregando-se este anti-soro, foi realizado um estudo retrospectivo com a finalidade de avaliar a eficiência do diagnóstico laboratorial de infecções meningocócicas do grupo B através da IEC em amostras de LCR e soro de 1992 a 1994, na Seção de Imunologia, e comparados os resultados com os de cultura.

MATERIAL E MÉTODOS

De janeiro de 1992 a dezembro de 1994, amostras de LCR e/ou soro de 185 pacientes com suspeita clínica de meningite e/ou septicemia, sendo 125 amostras de LCR pareadas com amostras de soro, foram examinadas através de cultura de bactérias e IEC. A cultura das amostras de LCR foi processada segundo metodologia já descrita⁴, e a IEC em amostras de LCR e/ou soro foi realizada de acordo com Greenwood et

alii¹¹. O anti-soro utilizado neste estudo foi produzido na Seção de Imunologia, segundo método previamente descrito¹, como também o antígeno polisacarídico usado como controle¹⁰.

A detecção de agentes antibacterianos no LCR foi realizado de acordo com metodologia já descrita¹⁵.

RESULTADOS

Os resultados do emprego da IEC analisando amostras de LCR e/ou soro e da técnica bacteriológica de cultura de LCR estão descritos na Tabela I.

Foi possível comparar a cultura e a IEC em 185 amostras de LCR. Pode-se observar que em 103(55,7%) das amostras, apenas a cultura foi positiva. Por outro lado, 36(19,5%) destas amostras apresentaram apenas reações positivas na IEC. Em 34 (18,4%) destas amostras de LCR, ambos os métodos mostraram resultados positivos. Computando-se os resultados positivos da cultura e da IEC de LCR, independentemente de terem ocorrido simultaneamente ou não nas mesmas amostras de LCR, a positividade foi de 75,7% (140 amostras) e 38,9% (72 amostras), respectivamente. Considerando os resultados da IEC em amostras de soro, em 15 de um total de 125 casos

TABELA I

Estudo comparativo da técnica de imunoelctroforese cruzada (IEC) em 185 amostras de líquido cefalorraquidiano (LCR) e 125 amostras de soro, com cultura de LCR de pacientes, no diagnóstico de *N. meningitidis* grupo B (1992-1994).

| TÉCNICAS | RESULTADOS POSITIVOS | | |
|--|----------------------|-----------------------|-----------------------|
| | TOTAL (%) | COMANTIBACTERIANO (%) | SEMANTIBACTERIANO (%) |
| IEC / LCR | 36 (19,5) | 35 (97,2) | 1 (2,8) |
| IEC / soro | 7 (5,6) | 7 (100,0) | 0 (0,0) |
| IEC / LCR e IEC / soro | 2 (1,6) | 2 (100,0) | 0 (0,0) |
| Cultura / LCR | 103 (55,7) | 0 (0,0) | 103 (100,0) |
| Cultura / LCR e IEC / LCR | 31 (16,8) | 1 (3,2) | 30 (96,8) |
| Cultura / LCR e IEC / soro | 3 (2,4) | 0 (0,0) | 3 (100,0) |
| Cultura / LCR e IEC / LCR e IEC / soro | 3 (2,4) | 0 (0,0) | 3 (100,0) |

(12,0%), foi detectada a presença de antígeno de *N. meningitidis* grupo B, dos quais 8 foram positivas também nos exames de LCR e 7(5,6%) apenas na IEC de soro.

Nos casos em que a cultura se apresentou negativa, a IEC em amostras de LCR e/ou soro contribuiu para o diagnóstico de doença meningocócica grupo B em 26,7% dos casos, dos quais em 99,1% foi detectada a presença de antibacterianos no LCR.

A presença de agentes antibacterianos foi detectada em amostras de LCR de 45 pacientes dos quais 44 apresentaram IEC e LCR e/ou soro positiva e cultura de LCR negativa, e uma amostra de LCR positiva em ambos os métodos, ou seja, cultura e IEC.

A avaliação do desempenho diagnóstico da IEC em amostras de LCR em relação à cultura está apresentada na Tabela II.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Como citado anteriormente, o polissacaríde do meningococo grupo B é conhecido por sua pobre imunogenicidade. Contudo, o uso do anti-soro policlonal anti-*N. meningitidis* grupo B na IEC de LCR e/ou soro produzido na Seção de Imunologia desde 1986, em muito vem auxiliando no diagnóstico, não só em São Paulo, mas também em outros estados, principalmente no momento em que o Brasil se encontra com uma alta incidência de doença meningocócica grupo B.

Alguns autores relatam problemas com a sensibilidade da IEC para a detecção de polissacaríde do meningococo grupo B, não obtendo sucesso na detecção de antígenos, mesmo quando a cultura é positiva^{8, 12, 13, 19}.

Empregando anticorpo monoclonal, COLL et alii⁵ observaram que 17% dos casos analisados apresentaram antígenos polissacarídicos através da IEC em amostras de LCR de pacientes com meningite meningocócica do grupo B comprovada na cultura.

Analisando os resultados do nosso estudo, nota-se que a positividade da IEC em amostras de LCR nos casos com cultura positiva, foi de 19,2%, ligeiramente superior à relatada por COLL et alii⁵.

Considerando os resultados de positividade apenas na IEC do soro, foi observada uma percentagem de 5,6%, índice semelhante ao encontrado por Alkmin et alii (5,0%)³. Estes dados indicam que o uso de soro de pacientes na pesquisa de antígenos é exame complementar importante, principalmente quando o paciente está desenvolvendo uma septicemia. Os resultados obtidos são significantes, pois o método da IEC no LCR e/ou soro dos casos em que uma cultura de LCR se apresenta negativa, é capaz de contribuir para o diagnóstico, mesmo quando o paciente é submetido à antibioticoterapia prévia.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a colaboração de Ana Vera Custódio e José de Jesus Chaves Nunes na realização da imunoeletroforese cruzada.

TABELA II

Avaliação do desempenho diagnóstico da técnica de imunoeletroforese cruzada em relação à cultura efetuada no líquido cefalorraquidiano de pacientes infectados com *N. meningitidis* grupo B.

| ÍNDICES DE AVALIAÇÃO | CULTURA |
|----------------------|----------|
| Sensibilidade | 0,472 |
| Especificidade | 0,938 |
| Eficiência | 0,756 |
| Índice Kappa (K) | 0,410 |
| Conceito de K | Moderado |

RIALA6/791

ALKMIN, M.G.A.; LANDGRAF, I.M. & VIEIRA, M.F.P. - Contribution of counterimmunoelectrophoresis in cerebrospinal fluid and/or serum in the diagnosis of *Neisseria meningitidis* group B infections in Brazil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 56(1):13-17, 1996.

ABSTRACT: Counterimmunoelectrophoresis (CIE) has been used to show the presence of *Neisseria meningitidis* group B antigen in 185 cerebrospinal fluid (CSF) and/or 125 serum samples. From the CSF samples, 103 (55.7%) were only culture positive and 36 (19.5%) showed only positive CIE reactions. In 34 (18.4%) of these samples both methods had positive results. Among patients who had negative CSF culture, CIE in CSF and/or serum contributed for the diagnosis of group B meningococcus disease in 26.7%, from which 99.1% had already received previous antibacterial therapy. Considering the only positive results by CIE in serum, it was observed a percentage of 5.6%. The contribution of CIE in CSF and/or serum was significant.

DESCRIPTORS: *Neisseria meningitidis* group B infections; counterimmunoelectrophoresis; diagnostic methods.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALKMIN, M.G.A.; SHIMIZU, S.H.; LANDGRAF, I.M.; GASPARI, E.N. & MELLES, C.E.A. - Production and immunochemical characterization of *Neisseria meningitidis* group B antiserum for the diagnosis of purulent meningitis. *Brazilian J. Med. Biol. Res.*, 27:1627-1634, 1994.
2. ALKMIN, M.G.A.; MELLES, C.E.A. & LANDGRAF, I.M. - Contribution of latex agglutination test for the diagnosis of pretreated meningitis. *Serodiagn. Immunother. Infect. Disease*, 7: 141-142, 1995.
3. ALKMIN, M.G.A.; LANDGRAF, I.M.L., VIEIRA, M.F.P.; CAMARGO, M.C.C. & GONÇALVES, M.I.C. - Diagnosis of bacterial meningitis and septicemia by serum counterimmunoelectrophoresis. *Brazilian J. Med. Biol. Res.* 28:1065-1068, 1995.
4. BALLOWS, A. (Editor) - *Manual of Clinical Microbiology*, 5th ed., Washington, American Society for Microbiology, 1991.
5. COLL, P.; BORCHE, L.; AUSINA, V.; MIRELIS, B. & PRATS, G. - Dot-Immunobinding assay with a monoclonal antibody for detection of group B meningococcal antigen. *Eur. J. Clin. Microbiol.*, 5:44-46, 1986.
6. FASOLA, E. & FERRIERI, P. - Laboratory diagnostic methods for central nervous system infections. *Neurosurg. Clin. North Am.*, 3:279-289, 1992.
7. FINNE, J, MAKELA, P.H. & LEINONEN, M. - Antigenic similarities between brain components and bacteria causing meningitis. *Lancet*, i:355-357, 1983.
8. GHANASSIA, J.P.; SLIM, A.; BERGNONE-BEREZIN, E. & MODAI, J. - Failure of diagnosing group B meningococcal meningitis by immunoelectrophoresis. *Scand. J. Infect. Dis.*, 9:313-314, 1977.
9. GOLD, R. - Clinical aspects of meningococcal disease. In: Vedros, N.A. - Evolution of meningococcal disease, CRC, Boca Raton, v.2, p. 69-97, 1987.
10. GOTSCHLICH, E.C.; LIU, T.Y. & ARNSTEIN, M.S. - Human immunity to the meningococcus. III. Preparation and immunochemical properties of the group A, group B and C meningococcal polysaccharides. *J. Exp. Med.*, 129:1349-1365, 1969.
11. GREENWOOD, B.M; WHITTLE, H.C. & DOMINIC-RAJKOVIC, O. - Counter-current immunoelectrophoresis in the diagnosis of meningococcal infections. *Lancet*, 2: 519-521, 1971.
12. JONES, D.M. & ABBOTT, J.D. - Diagnosis of pyogenic meningitis. *Lancet*, 2:257, 1976.
13. KALDOR, J., ASZNOVICZ, R. & BUIST, D.G.P. - Latex agglutination in diagnosis of bacterial infections with special reference to patients with meningitis and septicemia. *A. J. Clin. Path.*, 68: 284-289, 1977.
14. LANDGRAF, I.M.; ALKMIN, M.G.A. & VIEIRA, M.F.P. - Bacterial antigen detection in cerebrospinal fluid by the latex agglutination test. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 37: 257-260, 1995.

15. MELLES, C.E.A.; LEE, I.M.L. & TAUNAY, A.E. - Pesquisa de antibacterianos no líquido cefalorraquidiano. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, **44**: 155-159, 1984.
16. MORAIS, J.C.; PERKINS, B.A; CAMARGO, M.C.C.; HIDALGO, N.T.R.; BARBOSA, H.A.B.; SACCHI, C.T.; LANDGRAF, I.M; GATTAS, VL; VASCONCELOS, H.G.; ALIKAYTIS, B.D; WENGER, J.D. & BROOME, C.V. - Protective efficacy of a serogroup B meningococcal vaccine in São Paulo, Brazil. *Lancet*, **340**: 1074-1078, 1992.
17. PANACHÃO, M.R.I.; KALLÁS, E.G.; BARBOSA, H.A., OKAI, M.L.C.G.; CAMARGO, M.C.C.; SACCHI, C.T., GORLA, M.C.O. & HIDALGO, N.T.R. - Group B meningococcal disease in São Paulo, Brazil: An epidemiological and microbiological study. In: *Neisseria 94 Proceedings of the Ninth International Pathogenic Neisseria Conference*. Evans, J.S.; Yost, S.E.; Maiden, M.C.J. & Feavers, I.M., eds.- Winchester, England, The Guildhall, p. 395, 1994.
18. SCHWARTZ, B.; MOORE, P.S. & BROOME, C.V.- Global epidemiology of meningococcal disease. *clin. Microbiol. Rev.*, **2**: (suppl.1): S118-S124, 1989.
19. TILTON, R.C.; DIAS, F.& RYAN, R.W. - Comparative evaluation of three commercial products and counterimmunoelectrophoresis for the detection of antigens in cerebrospinal fluid. *J.Clin. Microbiol.*, **20**: 231-234, 1984.

Recebido para publicação em 10/07/95

