



Centro Universitário

**CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA
TURMA BIM151AM**

**Caracterização laboratorial do líquido cefalorraquidiano nos casos
de meningoencefalite amebiana primária (MAP)**

**ALAN SENA LOURENÇO DA SILVA
LUAN HENRIQUE PERSICO DA COSTA**

Várzea Grande – MT

2018



**Caracterização laboratorial do líquido cefalorraquidiano nos casos
de meningoencefalite amebiana primária (MAP)**

Orientadora: Prof^a Leticia Borges Heinen

Co orientador :Prof^o Wesley André Silva

Várzea Grande – MT

2018

Caracterização laboratorial do Líquido cefalorraquidiano nos casos de meningoencefalite amebiana primária (MAP)

Alan Sena Lourenço da Silva¹, Luan Henrique Persico da Costa¹, Wesley André Silva², Letícia Borges da Silva Heinen³

¹ Discente do curso de Biomedicina do Centro Universitário de Várzea Grande

² Co-orientador convidado, Biomédico, Laboratório Exame, Cuiabá-MT

³ Docente do Centro Universitário de Várzea Grande

Resumo

A meningoencefalite amebiana primária é uma infecção fatal que cursa repentinamente, infectando principalmente jovens e adultos, sua letalidade chega a aproximadamente 100%. Essa infecção é causada por uma ameba de vida livre do gênero *Naegleria spp*, chamada *Naegleria fowleri*, por ser uma ameba de vida livre (AVL), tem facilidade de viver em todos os lugares. Relatos de casos foram relatados por todo o mundo, com um desfecho mortal, esta ameba tem tropismo por lugares tropicais e por anos tem levado pessoas á óbito, o principal diagnostico é laboratorial, com análise do liquido cefalorraquidiano (LCR), O objetivo deste trabalho foi caracterizar o diagnóstico laboratorial do LCR nesta infecção.

Palavras-chave: Amebade vida livre, *Naegleria fowleri*, Meningoencefalite

Abstract

Primary amebian meningoencephalitis is a fatal infection that occurs suddenly, infecting mainly young and adults, and its lethality reaches approximately 100%. This infection is caused by a free-living amoeba of the genus *Naegleria spp*, called *Naegleria fowleri*, because it is a free-living amoeba (AVL), it is easy to live in everywhere. Case reports have been reported worldwide, with a deadly outcome, this amoeba has tropism by tropical places and for years has taken people to death, the main diagnosis is laboratorial, with cerebrospinal fluid (CSF) analysis, the objective of this work was to characterize the laboratory diagnosis of CSF in this infection.

Keywords: Free-living amoeba, *Naegleria fowleri*, meningoencephalitis

Introdução

A meningoencefalite amebiana primária (MAP) é uma doença fatal que causa danos ao tecido cerebral por meio da forma de trofozoíto de uma ameba, de gênero vida-livre (AVL) chamada *Naegleria fowleri*, que é o principal agente etiológico desta infecção.^{1;2}

As amebas são organismos eucariontes, unicelulares, que estão divididas em três famílias diferentes: a *Família Endamoebida*, que são as amebas parasitas do aparelho digestivo dos vertebrados; as famílias das quais pertencem às amebas de vida livre: a *Família Hartmannellidae* em que existe uma ameba de importância clínica que é a *Acanthamoeba spp*, e a *Família Schizopyrenida* e em que possui o gênero *Naegleria spp* e dentro deste gênero têm-se a ameba causadora da MAP, a *Naegleria fowleri*.³

A *Naegleria fowleri* é uma AVL, muitas vezes referida como anfizóica, devido sua habilidade de viver livremente sem hospedeiros utilizando da sua forma de cisto, mas apresentam a capacidade de invadir um hospedeiro e viver como parasitas; os seres humanos estão continuamente expostos às AVL devido sua ampla distribuição no ambiente, como piscinas, lagos, rios e solo, elas têm resistência a temperaturas altas, tem tropismo por águas aquecidas, crescendo melhor entre 32 e 46°C, resiste à diferentes pHs e possui a característica de ser oportunista.^{2;3;4}

Esta ameba possui no seu ciclo evolutiva três formas diferentes: Trofozoítos, que são uninucleados medindo cerca de 8 a 15 µm de diâmetro, os cistos que medem a cerca de 7 a 12 µm de diâmetro e as formas flageladas que medem cerca de 12 a 18 µm de diâmetro e podem possuir de 1 a 3 flagelos.^{3;4}

O exame por microscopia eletrônica da *N. fowleri* confirmou que é um protista eucariótico típico com um invólucro nuclear distinto e nucléolo proeminente, numerosos vacúolos e inclusões citoplasmáticas, mitocôndrias pleomórficas e algum retículo endoplasmático rugoso.¹

Esta ameba tem a capacidade de lisar e fagocitar eritrócitos e células nervosas presentes no tecido cerebral, assim causando a necrose desta região, fazendo que a doença seja fatal, levando a óbito por cerca de 7 a 10 dias depois do surgimento dos sintomas. Possui um período de incubação de entre 3 a 7 dias, os sintomas

frequentes são febres, dores de cabeça, em alguns casos rigidez no pescoço e convulsões.^{6;7}

Esta infecção acomete seres humanos com o hábitos de nadar em águas doces ou terem contato com águas que estejam contaminas; A Infecção inicia-se pela introdução da AVL pelas vias nasais do hospedeiro, esta ameba tem a capacidade de se ligar na mucosa nasal, assim migrando pelos nervos olfatórios até chegar na placa cribiforme atravessando-a e adentrando ao cérebro do hospedeiro.^{1;6}

Esta AVL já foi isolada em diversos tipos de ambiente, sendo a única do seu gênero que também já foi isolada em humanos, foi primeiramente isolada em humanos na Austrália por M. Fowler e R.F Carter no ano de 1961.⁸

Já foram relatados mais de 143 casos de MAP dos anos de 1962 a 2017 nos Estados Unidos e em apenas quatro desses casos o paciente sobreviveu. Existem casos de MAP distribuído no mundo todo como na Nova Zelândia, Bélgica, Nigéria, Brasil, Grã-Bretanha, Índia, Taiwan, EUA e um caso recente na América do Sul que ocorreu na Argentina.^{9;10}

O principal diagnostico é laboratorial, que está firmado na análise do líquido cefalorraquidiano (LCR), o qual deve ser analisado, para uma avaliação citológica, bioquímica, bacteriológica micológica e parasitológica.^{2;11}

No exame laboratorial do LCR a primeira coisa a se identificar é seu aspecto, o qual normalmente é cristalino e límpido, porem também pode apresentar as características de ligeiramente turvo, turvo ou leitoso, que seria uma amostra com alta concentração de lipídeos, proteínas, ou em casos de infecções também se tem estas características.^{12;13}

A contagem de leucócitos (GBs) é em câmara de Neubauer, em adultos normais não se pode passar de 5 GBs/ μ l. Todas as amostras mesmo límpidas, devem ser processadas pois mesmo estando límpida ainda a chances de se ter a presença de leucócitos e hemácias.^{12;13}

A contagem diferencial do LCR deve ser feita após a centrifugação da amostra para a sedimentação das células presentes, em seguida realizar em um esfregaço corado com Wright ou coloração de preferência e realizar a observação e contagem de diferencial das 100 células contadas.^{12;13}

Os Neutrófilos são geralmente observados em casos de meningite, tanto bacterianas, quanto nas meningites virais, parasitaria, fúngica e tuberculosa em suas fases iniciais; linfócitos e monócitos são encontrados no LCR em casos de meningite fúngica, viral e tuberculosa, os linfócitos também aumentam em casos de HIV; eosinófilos também podem ser observados no LCR possui uma ligação com infecções parasitarias e fúngicas; Os macrófagos também são raramente observados caso tenha a presença de corpos estranhos no LCR.¹²

Todas as amostras de LCR devem ser processadas em urgência, pois a partir de 1 hora os leucócitos e as hemácias começam a lisar, após 2 horas 40% dos leucócitos já irão estar lisados, caso a amostra não possa ser analisada ela deve ser imediatamente refrigerada.¹²

Os testes bioquímicos no LCR são realizados, ele irá ter as mesmas substancias do plasma porem em menor quantidade, nos principais exames bioquímicos do LCR temos a glicose, que está proporcionalmente ligado ao valor no plasma, aproximadamente 2/3, caso o valor da glicose no plasma esteja elevado o mesmo também estará elevado no LCR, os valores da glicose estão diretamente ligados aos determinantes das meningites sendo assim de suma importância para o seu diagnóstico.^{12;13}

A análise bioquímica mais realizada no LCR é a dosagem de proteínas, onde seu valor normal é baixo, quando está aumentado tem grande importância clinica pois ajuda a identificar algum tipo de dano ou infecção, dano na barreira hematoencefálica, produção de imunoglobulinas (infecção) e degeneração do tecido cerebral.^{12;13}

Este trabalho tem como objetivo fazer uma revisão na literatura de relatos de casos clínicos, com o intuito de identificar e caracterizar o diagnóstico laboratorial do LCR na MAP, analisando assim os aspectos do LCR nesta infecção.

Materiais e Métodos

Este estudo foi desenvolvido através de dados obtidos por uma revisão de literatura sobre relatos que mostravam casos clínicos da AVL *Naegleria fowleri*, em todo o mundo e a base de dados utilizada foi PUBMED.

A pesquisa teve como base: Utilização de vocábulos em língua inglesa e portuguesa; Busca sistematizada e hierarquizada.

Amostragem

Por meio da busca sistematizada, foram utilizados casos de dezembro de 2008 a julho de 2018 que continham relatos de casos sobre *Naegleria fowleri*, assim focando em semelhanças de casos que chegaram a cura e como foi o diagnóstico para a mesma.

Critérios de inclusão: Os artigos foram selecionados em revista científicas, artigos completos selecionados; ou “sites” com reconhecida vinculação institucional e acadêmica; Publicações escritas nas línguas portuguesa ou inglesa e Casos clínicos publicados entre o de 2008 até julho de 2018.

Critérios de exclusão: Artigos científicos que não tenham como tema central os relatos de caso sobre *Naegleria fowleri*; Publicações escritas em qualquer outra língua que não constem nos critérios de inclusão; Estudos publicados antes do ano 2008 ou após julho de 2018 e artigos pagos e com problema de acesso

Estratégias de busca dos relatos de casos publicados

Para a busca de artigos nas bases de dados selecionadas, utilizaram-se alguns termos, uma vez que alguns parâmetros foram analisados, de acordo com os descritos enumerados a baixo:

- 1- Case of *Naegleria fowleri*
- 2- Clinical case of *Naegleria fowleri*

Resultados e Discussão

Foram encontrados 45 artigos de relatos de casos, sendo selecionados 10 que apresentaram valores quantitativos de leucócitos, proteínas e glicose na análise do LCR.

Os resultados demonstrados por meio da análise do líquido cefalorraquidiano dos 10 relatos de casos (Tabela 1), são distribuídos em diferentes localidades, para o amplo estudo sobre as análise do LCR em relação a MAP.

Tabela 1. Caracterização laboratorial do líquido encéfalo-raquidiano na meningoencefalite amebiana primária (MAP)

Pacientes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
País	China	EUA	Zâmbia	Paquistão	Índia	Taiwan	Irã	Índia	Vietnã	EUA
Idade	41	18	24	24	20	75	5 meses	73	25	12
Análise do LCR										
Leucócitos totais	1170	3808	1120	950	1500	560	2500	70	3260	3675
Leucócitos predominantes	83% neut.	78% neut.	82% neut.	85% neut.	90% neut.	90% neut.	75% neut.	92% neut.	89% neut.	89% neut.
Proteínas	49,96 mg/dL	410 mg/dL	N/A	1025 mg/dL	56 mg/dL	54.1mg/dL	391 mg/dL	120 mg/dL	790 mg/dL	N/A
Glicose	18.01 mg/dL	<10 mg/dL	N/A	25 mg/dL	185 mg/dL	4mg/dL	3 mg/dL	165 mg/dL	18 mg/dL	N/A
Esfregaço úmido	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Reação em cadeia da polimerase (PCR)	+	+	+	N/A	N/A	+	N/A	N/A	+	+

Fonte: Elaborado pelos autores, Alan Sena Lourenço da Silva, Luan Henrique Persico da Costa (2018)

Segundo *Shruti Sharma e colaboradores (2012)* o diagnóstico da MAP baseia-se no histórico do paciente e na análise do LCR.¹⁴ O histórico do paciente é basicamente se houve contato direto ou indireto com águas que estavam contaminadas com a *N. fowleri*. A ficha de anamnese é o principal documento de histórico do paciente, nesta ficha contém informações primordiais para se levantar suspeita com relação a esta infecção, e assim caminhar com o diagnóstico para a suspeita clínica desta AVL.

Segundo *Shruti Sharma ET AL (2012)* o LCR do paciente nesta infecção possui o aspecto turvo, com presença de leucócitos, proteínas aumentadas e glicose demasiadamente baixa ou normal e sem presença de bactérias, negativo para fungos, vírus e Tuberculose.¹⁴

Mei-YuSue colaboradores (2013) relata que diagnóstico é confirmado pelo exame a fresco do LCR, para os trofozoítos móveis.¹⁵ Este autor relata ainda que o esfregaço do LCR revela trofozoítos de aproximadamente de 10-25 micrómetros (μm), que se movem rapidamente e direccionalmente por pseudópodes, no seu citoplasma continham vacúolos e grânulos numerosos ¹⁵

Segundo *Shruti Sharma ET AL (2012)* a *Naegleria* tem forma irregular, citoplasma vacuolizado e um único núcleo central ou discretamente excêntrico.¹⁴ *Mei-YuSue colaboradores (2013)* diz que a dificuldade na visualização da ameba não exclui a MAP, que são tipicamente confundidas com células mononucleares ou linfócitos reativos no LCR, o diagnóstico é muitas vezes esquecido quando os organismos da *Naegleria* não são observados.¹⁵

Na análise citológica do LCR a média de leucócitos totais entre os relatos de casos foram 1.861,3. Segundo *Mashina Chomba ET AL (2017)* os leucócitos nesta infecção geralmente se mostram altos, mas em um dos casos estudados os leucócitos totais foram 70 células. Andrew L. Dunn e colaboradores (2016), verificaram que o LCR apresenta diminuição na contagem de neutrófilos em 1 hora em 32% e em 2 horas em 50%, por este motivo ou outro como, na hora da coleta e virulência ainda se encontrava baixa e o sistema imune não estava reagindo, este paciente apresentou leucócitos abaixo da média. ^{6;16}.

Os leucócitos predominantes nesta infecção são os neutrófilos como relata Andrew L. Dunn *ET AL* (2016), nos relatos de casos a variação dos Neutrófilos foram de 75% chegando a 92% dos leucócitos totais.⁶

Mashina Chomba e colaboradores (2017), relatou que a proteína no LCR na MAP está aumentada, nos relatos de casos estudados isso se confirma, com discreto aumento como 49,96 mg/dl a um aumento acentuado podendo chegar à >1.000 mg/dL.¹⁶

Mashina Chomba e colaboradores (2017) relata que as concentrações de glicose no LCR são baixas.¹⁶ A média da glicose nos casos relatados foram de 49 mg/dL, apenas 8 dos 10 casos relatados continham o exame bioquímico da glicose no LCR. Dos 8 casos 75% continham o valor da glicose demasiadamente baixa e em apenas 15% dos relatos a glicose se mostrou com valores elevados, como a glicose do LCR e 2/3 do plasma sanguíneo. Glicoses elevadas no LCR, podem ser provenientes de glicemia alterada no plasma sanguíneo.

Segundo *Ashleigh Streby ET AL* (2015) os métodos de detecção para *N.fowleri* baseiam-se no exame morfológico, seguido de testes moleculares. Embora os métodos tradicionais sejam eficazes, exigem uma combinação de técnicas para serem altamente específicos, os métodos analíticos moleculares são a abordagem mais viável para confirmar a presença de *N. fowleri* em uma amostra.¹⁷

Recentemente, um ensaio de PCR chamado Taq Man triplex ou PCR em tempo real foi desenvolvido como uma ferramenta do diagnóstico laboratorial rápido para a identificação simultânea de algumas amebas, como *Acanthamoeba* spp, *B.mandriallaris* e *N. fowleri*; Este método é sensível para detectar amebas individuais e está sendo frequentemente empregado como um teste confirmatório para a identificação de *N. fowleri*.¹⁸

Considerações finais

A Meningoencefalite amebiana primária é uma infecção que desde o seu princípio é considerada muito difícil de ser caracterizada. Ainda com os avanços da medicina laboratorial e com a variedades de exames disponíveis nos dias atuais, a MAP ainda possui um diagnóstico complicado, mesmo com os exames dos aspectos físicos, bioquímicos e a fresco do LCR. O diagnóstico se complica pois possui uma vasta semelhança com outros tipos de infecções da meninge por outros patógenos, podendo ser assim facilmente confundida e portanto se iniciando um tratamento medicamentoso de forma errada para a infecção, como a MAP é uma doença com um rápido desenvolvimento, não se sobra tempo após a não melhora do paciente para se iniciar o tratamento correto.

Segundo os casos apresentados alguns tipos de exames do LCR não são tão precisos para o diagnóstico da MAP, um exemplo é a glicose que possui uma variância muito inconstante em alguns pacientes, sendo assim um exame não muito confiável, no entanto existem alguns exames que são de extrema importância, como o exame a fresco do LCR que mostrara os trofozoítos e as proteínas e os leucócitos aumentados, significando a infecção.

O conhecimento dos parâmetros laboratoriais desta infecção é de suma importância e pode levar a um desfecho agradável.

Referências

- ¹ Marciano-Cabral F, Cabral GA. The immune response to *Naegleria fowleri* amebae and pathogenesis of infection. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*. 2007 Nov 1;51(2):243-59.
- ² Siqueira-Batista R, Gomes AP, DAVID OB, Viana LE, Pinto RC, Braga BD, RÔÇAS G, GELLER M, ESPERIDIÃO-ANTONIO V. Neuroinfecção por *Naegleria fowleri*: aspectos clínico-terapêuticos, epidemiológicos e ecológicos. *Revista de Neurociências*. 2007; 15:310-6.
- ³ Neves DP, Amebas de Vida Livre, In: Neves DP, Melo AL, Linardi PM, Vitor RWA, editores. *Parasitologia Humana*. Edição 11. Rio de Janeiro: Atheneu; 2004. P.139-141
- ⁴ Calixto PH, Trindade FR, Ballarini AJ, de Mattos Dias CA, Campos CE, Sá-Oliveira JC. Aspectos biológicos das principais amebas de vida-livre de importância médica. *Biota Amazônia (Biote Amazonie, Biota Amazônia, Amazonian Biota)*. 2014 Aug 2;4(2):124-9.
- ⁵ Movahedi Z, Shokrollahi MR, Aghaali M, Heydari H. Primary amoebic meningoencephalitis in an Iranian infant. *Case reports in medicine*. 2012;2012.
- ⁶ Dunn AL, Reed T, Stewart C, Levy RA. *Naegleria fowleri* that induces primary amoebic Meningoencephalitis: rapid diagnosis and rare case of survival in a 12-year-old Caucasian girl. *Laboratory medicine*. 2016 Mar 15;47(2):149-54.
- ⁷ Fowler M, Carter RF. Acute pyogenic meningitis probably due to *Acanthamoeba* sp.: a preliminary report. *British Medical Journal*. 1965 Sep 25;2(5464):734-2.
- ⁸ Parasites — *Naegleria fowleri* — Primary Amebic Meningoencephalitis (PAM) — Amebic Encephalitis Centers for Disease Control and Prevention [internet] 2017 fevereiro [citado 2018 maio 26]
- ⁹ Disponível em: <https://www.cdc.gov/parasites/naegleria/general.html>.
- ¹⁰ Argentina registra primeiro caso de 'ameba devoradora de cérebro' Martins JP [internet] 2018 fevereiro [citado 2018 maio 26] Disponível em: <https://www.revistaencontro.com.br/canal/atualidades/2018/02/argentina-tem-1-caso-de-ameba-devoradora-de-cerebro.html>

- ¹¹Gautam PL, Sharma S, Puri S, Kumar R, Midha V, Bansal R. A rare case of survival from primary amebic meningoencephalitis. *Indian journal of critical care medicine: peer-reviewed, official publication of Indian Society of Critical Care Medicine*. 2012 Jan;16(1):34.
- ¹²STRASINGER SK, Lorenzo MS. *Urinálise e fluidos corporais*. São Paulo: Editorial Premier. 2009;
- ¹³Errante PR, Leite AA, Honório SR, Torres GR. Análise do líquido cefalorraquidiano. Revisão de literatura. *Atas de Ciências da Saúde (ISSN 2448-3753)*. 2016 Oct 4;4(3):1-24.
- ¹⁴Gautam PL, Sharma S, Puri S, Kumar R, Midha V, Bansal R. A rare case of survival from primary amebic meningoencephalitis. *Indian journal of critical care medicine: peer-reviewed, official publication of Indian Society of Critical Care Medicine*. 2012 Jan;16(1):34.
- ¹⁵Su MY, Lee MS, Shyu LY, Lin WC, Hsiao PC, Wang CP, Ji DD, Chen KM, Lai SC. A fatal case of *Naegleria fowleri* meningoencephalitis in Taiwan. *The Korean journal of parasitology*. 2013 Apr;51(2):203.
- ¹⁶Chomba M, Mucheleng'anga LA, Fwoloshi S, Ngulube J, Mutengo MM. A case report: primary amoebic meningoencephalitis in a Young Zambian adult. *BMC infectious diseases*. 2017 Dec;17(1):532.
- ¹⁷Streby A, Mull BJ, Levy K, Hill VR. Comparison of real-time PCR methods for the detection of *Naegleria fowleri* in surface water and sediment. *Parasitology research*. 2015 May 1;114(5):1739-46.
- ¹⁸Qvarnstrom Y, Visvesvara GS, Sriram R, da Silva AJ. Multiplex real-time PCR assay for simultaneous detection of *Acanthamoeba* spp., *Balamuthia mandrillaris*, and *Naegleria fowleri*. *Journal of clinical microbiology*. 2006 Oct 1;44(10):3589-95.
- ¹⁹Phu NH, Mai NT, Nghia HD, Chau TT, Loc PP, Phuong TM, Thai CQ, Man DN, Chau NV, Nga TV, Campbell J. Fatal consequences of fresh water pearl diving. *The Lancet*. 2013 Jan 12;381(9861):176.
- ²⁰Movahedi Z, Shokrollahi MR, Aghaali M, Heydari H. Primary amoebic meningoencephalitis in an Iranian infant. *Case reports in medicine*. 2012;2012.
- ²¹Wang Q, Li J, Ji J, Yang L, Chen L, Zhou R, Yang Y, Zheng H, Yuan J, Li L, Bi Y. A case of *Naegleria fowleri* related primary amoebic meningoencephalitis in China diagnosed by next-generation sequencing. *BMC infectious diseases*. 2018 Dec;18(1):349.
- ²²Cope JR, Murphy J, Kahler A, Gorbett DG, Ali I, Taylor B, Corbitt L, Roy S, Lee N, Roellig D, Brewer S. Primary Amebic Meningoencephalitis Associated with Rafting on an Artificial Whitewater River: Case Report and Environmental Investigation. *Clinical Infectious Diseases*. 2017 Sep 19;66(4):548-53.

²³Ghanchi NK, Jamil B, Khan E, Ansar Z, Samreen A, Zafar A, Hasan Z. Case series of naegleria fowleri primary amoebic meningoencephalitis from Karachi, Pakistan. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2017 Nov 8;97(5):1600-2.

²⁴ Gupta N, Bhaskar H, Duggal S, Ghalaut PS, Kundra S, Arora DR. Primary amoebic meningoencephalitis: first reported case from Rohtak, North India. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2009 Jun;13(3):236-7.