

**FACULDADE PATOS DE MINAS
CURSO DE BIOMEDICINA**

KATHERINE VALENÇA FREITAS

**AVALIAÇÃO LABORATORIAL DE PACIENTES COM
MENINGITE: Diagnóstico diferencial entre meningite
bacteriana e viral**

**PATOS DE MINAS
2016**

KATHERINE VALENÇA FREITAS

**AVALIAÇÃO LABORATORIAL DE PACIENTES COM
MENINGITE: Diagnóstico diferencial entre meningite
bacteriana e viral**

Artigo apresentado à Faculdade Patos de Minas como requisito parcial para a conclusão do Curso de Biomedicina.

Orientador: Prof^o. Ms. Márcen Estevão Mattos Junior.

**PATOS DE MINAS
2016**

KATHERINE VALENÇA FREITAS

AVALIAÇÃO LABORATORIAL DE PACIENTES COM
MENINGITE: Diagnóstico diferencial entre meningite bacteriana
e viral

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado em 03 de novembro de 2016, pela
comissão examinadora constituída pelos professores:

Orientador: _____
Prof.º. Me. Márden Estevão Mattos Junior.
Faculdade Patos de Minas

Examinador: _____
Prof.º. Esp. Bruno Tolentino Caixeta
Faculdade Patos de Minas

Examinador: _____
Prof.º. Me. Taciano dos Reis Cardoso
Faculdade Patos de Minas

AValiação LABORATORIAL DE PACIENTES COM MENINGITE: Diagnóstico diferencial entre meningite bacteriana e viral

Katherine Valença Freitas*

Márcen Estevão Mattos Junior **

RESUMO

As meningites são inflamações das meninges (pia-máter, dura-máter e aracnoide), vários fatores podem levar um indivíduo a desenvolver meningite, tais como agentes infecciosos (bactérias, vírus e fungos) e agentes não infecciosos, como, por exemplo, um trauma; os indivíduos com maior susceptibilidade são as crianças, pacientes imunodeprimidos e imunocomprometidos. Esta pesquisa traz informações de importância no auxílio do diagnóstico das meningites, sendo feito um paralelo entre as meningites bacterianas e virais, que são de maior incidência. Como objetivo principal foi definido o que é meningite, suas peculiaridades e a forma de identifica-la laboratorialmente, descrevendo as diferenças clínicas e elucidando o diagnóstico diferencial entre as meningites bacterianas e virais. Este estudo foi realizado seguindo o conceito de pesquisa bibliográfica, utilizando material já elaborado, formado de artigos científicos, teses e livros. O critério de inclusão utilizado para seleção de material foi selecionar os dados que tivessem como foco o diagnóstico laboratorial e aspectos clínicos/laboratoriais das meningites bacterianas e virais. Os parâmetros laboratoriais para a diferenciação das meningites bacterianas das virais mostram que o exame de maior importância é a análise do líquido cefalorraquidiano, demonstrando alteração desde o exame macroscópico a testes mais sofisticados. A análise de um líquido após uma meningite bacteriana se apresenta características exsudativas e facilita o diagnóstico diferencial clínico, ao contrário das análises de amostras após infecções virais e fúngicas, que demonstram menos alterações com características de transudato dependendo de associações clínicas e análises mais específicas como a microbiológica e dosagem de lactato para auxiliar no diagnóstico diferencial.

Palavras-chave: Meningite, líquido, líquido cefalorraquidiano, meningite bacteriana e meningite viral.

*Aluno do Curso de Biomedicina da Faculdade Patos de Minas - FPM formando no ano de 2016
e-mail do aluno: katherine.valenca@gmail.com

**Docente do curso de Biomedicina pela Faculdade Patos de Minas - FPM. Mestre em Ciências Fisiológicas pela Universidade Federal do Triângulo Mineiro - UFTM e-mail: mardenbiomed@hotmail.com

ABSTRACT

Meningitis are the inflammations of the meninges (pia mater, dura mater and arachnoid), individuals with more susceptibility are the children and the, immunosuppressed and immunocompromised patients. This research brings important information to aid the diagnosis of meningitis, being made a parallel between viral and bacterial meningitis, which are the most common. The main objective was defined about what is meningitis, its peculiarities and how to identify it laboratory, describing the clinical differences and elucidating the differential diagnosis between bacterial and viral meningitis. This study was conducted following the concept of literature, using already prepared material, consisting of scientific articles and books. The inclusion criteria for material selection was to select the data that had focused on laboratory diagnosis and clinical / laboratory features of bacterial and viral meningitis. Laboratory parameters for differentiation of bacterial meningitis viral show that the examination of greater importance is the analysis of cerebrospinal fluid, showing change from macroscopic examination and in the most sophisticated tests. The analysis of cerebrospinal fluid after bacterial meningitis presents exudative characteristics and facilitates clinical differential diagnostics, unlike the analysis of samples after viral and fungal infections, which shows less change with transudate characteristics depending on clinical associations and more specific analysis as microbiological and lactate levels to aid in the differential diagnosis.

Keywords: Meningitis, spinal fluid, cerebrospinal fluid, bacterial meningitis and viral meningitis.

INTRODUÇÃO

As meningites acometem grande parte da população mundial, sendo seu principal alvo as crianças, destacando-se as bacterianas e as virais. ⁽¹⁾

A problemática apresentada neste trabalho abordou a diferenciação das meningites bacterianas e virais a nível laboratorial.

Vendo que esta doença afeta o sistema nervoso central (SNC) há uma grande importância em estudá-la e aprofundar os conhecimentos sobre a mesma e suas variações, assim como as diferentes formas de diagnosticá-las com precisão. ^(2, 3)

As bactérias e os vírus são os principais agentes etiológicos causadores das meningites, por isso, elas devem ser diferenciadas, pelo fato de que o prognóstico e o tratamento do paciente dependem do agente causador (patógeno); que deverá ser identificado pela relação clínico/laboratorial, além de uma boa anamnese do paciente. ^(4, 5, 6)

A presente pesquisa se faz importante para o auxílio no diagnóstico das meningites com ênfase na diferenciação das bacterianas e virais, em conjunto com a clínica e exame físico do paciente a ser observado. ^(7, 8)

Este trabalho teve como objetivo definir o que é meningite, qual a forma de identificá-la laboratorialmente e suas peculiaridades, elucidando o diferencial do diagnóstico laboratorial entre as meningites bacterianas e virais e descrevendo as diferenças clínicas entre meningite bacteriana e viral.

Este trabalho foi realizado seguindo o conceito de uma pesquisa bibliográfica exploratória, que “é desenvolvida a partir de material já elaborado, constituído de livros e artigos científicos, entre outros tipos de disponíveis no acervo eletrônico.”⁽⁹⁾

Foram utilizados artigos científicos, estes artigos podem ser acessados nas bases de dados da Scielo, Revista de Saúde Pública de São Paulo, Arq de Neurosiquiatr, Jornal de Pediatria e Journal of Human Growth and Development; também foram usadas dissertações, das quais, muitas estão disponíveis na biblioteca virtual da Universidade de São Paulo – USP e na Escola Nacional de Saúde Pública – FIOCRUZ e livros de interesse clínico/laboratorial, além de sites oficiais, assim como Ministério da Saúde, FUNASA, Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo e Secretaria de Estado da Saúde da Bahia (SESAB), os quais abordam a temática em questão, no período de 1993 a 2015. Foram seguidos critérios de inclusão os materiais que tivessem como foco o diagnóstico laboratorial e aspectos clínicos/laboratoriais das meningites, principalmente as virais e bacterianas, e que apresentassem em seu conteúdo palavras chave, tais como: meningite, líquido, líquido cefalorraquidiano, meningite bacteriana e meningite viral.

MENINGITES

As meningites são classificadas como um processo inflamatório das meninges (pia-máter, dura-máter e aracnoide), sendo essas membranas que envolvem a medula espinhal e o cérebro.^(19, 10) As meningites são chamadas de paquimeninge quando atingem a dura-máter e de leptomeninge, quando atingem a aracnoide e a pia-máter. ⁽⁵⁾

Vários fatores podem levar um indivíduo a desenvolver meningite, tais como agentes infecciosos (bactérias, vírus e fungos) e agentes não infecciosos, como, por

exemplo, um trauma. As meningites de origem infecciosa são as de maior interesse clínico, por sua grande ocorrência e capacidade de desencadear surtos; em destaque as que são causadas por vírus e bactérias. ⁽¹⁸⁾

Para o desenvolvimento da meningite, o patógeno atravessa a barreira hemato-encefálica e a barreira sangue-líquido cefalorraquidiano do organismo humano. Traumas com lesões também podem contribuir com a contaminação do LCR; além de malformação congênita e procedimentos cirúrgicos. ⁽¹⁷⁾

Como característica clínica, devemos considerar alguns sintomas clássicos, tais como, febre, mialgia, vômitos, cefaleia, letargia, irritabilidade e os sinais de irritação meníngea, como os sinais de Kening, Brudzinski e Lasègue. ⁽⁷⁾

Ao longo da doença o paciente pode apresentar quadros de delírio e coma. Levando em consideração o grau em que o encéfalo foi afetado podem surgir convulsões, paralisias, transtornos pupilares, tremores, entre outros. ⁽¹⁸⁾

Estes pacientes apresentam um quadro clínico compatível a uma síndrome infecciosa com sinais de síndrome radicular e hipertensão intracraniana, sendo levadas em conta as alterações do exame quimiocitológico, caracterizada por celularidade aumentada (valor de referência variante conforme faixa etária) e bioquímica alterada. ⁽²⁾

Meningite bacteriana

Caracteriza-se como uma meningite a inflamação da região subaracnóidea, aracnoide e pia-máter, que são as membranas que revestem o encéfalo e a medula espinhal. ^(3, 16, 20)

Em indivíduos susceptíveis, qualquer bactéria possui a capacidade de produzir meningite. Em aproximadamente 95% dos casos, as meningites bacterianas são causadas pelas bactérias *Haemophilus influenzae* tipo b, *Streptococcus pneumoniae* (pneumococo) e *Neisseria meningitidis* (meningococo). Em alguns casos, a meningite pode ser causada por uma invasão bacteriana indireta, por exemplo, uma sinusite, mastoidite e em raras ocasiões por uma otite média. ^(3, 19)

Ainda desconhecesse a forma de invasão das bactérias no espaço subaracnóideo e o local exato por onde elas entram no sistema nervoso central. Estudos sugerem que elas podem entrar pelo plexo coroide, onde, suas células junto

com as capilares cerebrais podem possuir receptores que ofereçam aderência às bactérias, auxiliando assim o transporte das bactérias para o espaço subaracnóideo, onde elas vão encontrar condições propícias para sua reprodução, já que este espaço não possui um mecanismo de defesa que possa controlar a infecção. ⁽³⁾

A evolução das meningites bacterianas pode apresentar-se de formas diferentes, da mais branda, até excessivamente grave. Seu grau de importância está ligado à faixa etária do paciente, assim como, o patógeno implicado. Pacientes com idades maiores de 60 anos e menores de 1 ano, possuem maior tendência à posteriores complicações, como sequelas neurológicas e até mesmo o óbito. ⁽⁶⁾

É de suma importância que se identifique o agente etiológico causador da meningite, para isso deve-se contar com técnicas de diagnóstico precisas, ágeis e confiáveis. ⁽⁵⁾

O diagnóstico tardio contribui com o elevado índice de mortalidade e morbidade, principalmente em crianças, mesmo com antibioticoterapia além de propiciar complicações, com piora do prognóstico, sendo assim um dos pontos mais importantes do diagnóstico da meningite bacteriana é a suspeita clínica, em conjunto com os dados laboratoriais. ^(1, 14)

Uma das consequências das meningites bacterianas é a produção de uma vasculite, que leva formação de trombos, podendo evoluir para uma isquemia ou um infarto cerebral, devido à ação exercida nos vasos sanguíneos pelas bactérias, além de problemas neurológicos e possível óbito. ^(11, 15)

As meningites bacterianas podem levar a complicações vasculares como arterites e tromboflebitas, sendo que das complicações vasculares as mais comuns são as tromboflebitas. O curso fisiopatológico envolvido nas alterações vasculares leva às ações das bactérias, que liberam citocinas inflamatórias, como fator de necrose tumoral (TFN) e interleucina – 1 (IL). ⁽¹¹⁾

Etiologia – Meningite bacteriana

Várias bactérias podem promover meningite, no Brasil podemos destacar três, como as mais comuns e principais agentes etiológicos, responsáveis por até 95% dos casos de meningite bacteriana, sendo elas, a *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* e *Haemophilus influenzae*. ^(4, 13, 14, 17, 18)

Nos lactentes até três meses e em período neonatal, os agentes etiológicos mais envolvidos na patologia em questão são os *Streptococcus agalactiae* (grupo B), *Listeria monocytogenes*, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enteritidis* e *Escherichia coli*. A infecção por essas bactérias pode ser oriunda do parto, devido à mucosa vaginal, pois são patógenos que colonizam a região. ^(3,19)

No período dos três meses de idade, chamado de período de transição, podem ser encontrados agentes tanto do período neonatal, quanto aqueles que acometem crianças após esta idade, os mais comuns até os dezoito anos são *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* e *Haemophilus influenzae* tipo b. Na fase adulta os bacilos Gram-negativos entéricos, *Listeria* e *Haemophilus influenzae* tipo b são patógenos de maior incidência. ^(3,19)

A meningite causada por *Streptococcus pneumoniae*, bactéria gram-positiva, sendo alfa-hemolítica e não se agrupa, com característica esférica, se apresentando em pares, possuindo grande variedade de sorogrupos capsulares, é considerada de maior gravidade, devido às sequelas deixadas pelo pneumococo. Alguns fatores predispõe a infecção por esta bactéria, sendo o mais significativo a pneumonia, além de otite média aguda ou crônica, alcoolismo, diabetes, doença pulmonar obstrutiva crônica, insuficiência renal, dentre outros. ^(19, 3, 18)

A *Neisseria meningitidis* é uma bactéria gram-negativa, em forma de diplococo, contém inúmeros sorogrupos, o sorogrupo A é o que está mais associado às epidemias, porém os responsáveis por grande parte da doença meningocócica são o B e C, em sua maioria o do grupo B. ^(4, 12, 18,19) Mais frequente em crianças, com idade inferior a cinco anos, a doença meningocócica pode ocorrer em qualquer idade, sendo que, em indivíduos que apresentam deficiência do sistema complemento, asplenia anatômica ou funcional e deficiência de properdina estão mais susceptíveis à doença causada pelo meningococo ^(3,19)

A doença meningocócica pode ser considerada cosmopolita e sazonal, e representa cerca de 20% dos casos de meningite bacteriana. ^(12, 14) A possibilidade de óbitos pela doença meningocócica é de em média 5% a 15% e em poucos casos deixa sequelas quando curada. ⁽¹⁹⁾

A *Haemophilus influenzae* é uma bactéria gram-negativa, pequena, capsular ou não capsular, pleomórfica e apresenta seis grupos (a ao f). A forma mais invasiva da doença, geralmente é determinada pelo tipo b, devido suas cepas capsulares. As cepas desprovidas de capsulas são encontradas habitualmente em vias

respiratórias, envolvidas em infecções, tanto em adultos quanto em crianças, infecções tais como sinusite, bronquite e otite média. ^(3,18)

Em geral a meningite causada pela *Haemophilus influenzae* apresenta caráter endêmico e seu público alvo varia na faixa etária de 3 meses a 18 anos. Apesar de demonstrar baixa letalidade ela costuma deixar sequelas com maior frequência, como por exemplo, surdez. Com a vacinação anti-*Haemophilus influenzae* tipo b (anti-Hib), a meningite causada pela *Haemophilus influenzae*, deixou de ser o principal agente causados das meningites bacterianas. ^(6, 19)

Em pacientes com alteração na imunidade celular e idosos o agente etiológico mais comum é a *Listeria monocytogenes*, um bacilo gram-positivo, ficando na segunda posição como causa das meningites em idosos, sendo superado apenas pelo pneumococo. Esta bactéria acomete principalmente pacientes transplantados e com linfoma. ⁽¹⁹⁾

O *Staphylococcus epidermidis* e o *Staphylococcus aureus* são os principais organismos envolvidos nas meningites posteriores à neurocirurgias, principalmente o *Staphylococcus aureus*, bactéria que também está envolvida em meningite após punção lombar, assim como a *Pseudomonas aeruginosa*. ^(6,18,19)

A meningite tuberculosa é provocada pela *Mycobacterium tuberculosis*, que é um bacilo, com forma de bastonete, sem flagelos, não produtor de toxinas e não forma esporos, quando corado pelo método de Ziehl-Neelsen, não descora depois da passagem pelos álcoois. A meningite causada por esta bactéria é mais comum em recém-nacidos e crianças que habitam região com elevado índice de tuberculose, apresentando evolução lenta. ^(17, 18)

Em geral bastonetes gram-negativos são os causadores de meningite em pacientes diabéticos, etilistas crônicos, portadores de infecções do trato urinário de caráter crônico, em paciente com estrogiloidíase disseminada e também após procedimentos neurocirúrgicos; pacientes nestas condições estão mais susceptíveis à doença. ^(17, 18)

Meningite viral

A meningite viral apresenta um paciente com um quadro clínico de alteração neurológica, que, geralmente, evolui de forma mais branda, em relação à meningite

causada por outros agentes, como as bactérias, não apresentando envolvimento do cordão espinhal e/ou do parênquima cerebral. ^(4, 6)

Os mais atingidos por essa patologia são as crianças, geralmente as menores de cinco anos, porém, isso não exclui a possibilidade de que indivíduos de outras faixas etárias estejam susceptíveis à doença. Em média 85% dos casos de meningite viral são causadas pelo grupo dos *Enterovírus*, ressaltando os *Poliovírus*, *Echovírus* e os *Coxsackievírus* dos grupos A e B 1,2. ⁽⁴⁾

As meningites causadas pelo enterovírus apresentam sinais clínicos específicos, como, alterações gastrointestinais, respiratórios, erupções cutâneas, além dos clássicos sinais vistos nas meningites em geral. ⁽⁷⁾

Algumas vezes, porém, podem apresentar quadros mais graves, com prognóstico sombrio, estando em suas manifestações clínicas, tanto relacionadas à idade do paciente, quanto ao agente etiológico envolvido, ou ao estado de imunocompetência do paciente, podendo alguns, permanecerem com sequelas, como, perda de memória, anosmia, disfagia, alteração da personalidade, hemiparesia, ataxia, crises convulsivas e coriorretinites, dentre outras; além de uma psicose, caracterizada por perda de memória e alteração de personalidade. ⁽⁶⁾

Condições climáticas, geográficas, exposições a animais, dentre outros fatores, predispõe, a uma determinada população a predominância de alguns destes vírus. ⁽⁶⁾

Etiologia – Meningite viral

A meningite viral pode ser considerada cosmopolita e também sazonal, seu maior índice é em regiões temperadas, com prevalência no início da primavera e verão, porém deve ser levada em consideração a infraestrutura de saúde, aglomerados populacionais e virulência dos patógenos, que interferem diretamente na expressão epidemiológica. ^(6, 7)

Em 2015 foram notificados 7194 casos de meningite de etiologia viral, apresentando um número de 120 óbitos, sendo que sua identificação só tem sido possível devido aos surtos. ^(4, 28)

Habitualmente as meningites virais são mais frequentes em crianças, devido à transmissão fecal-oral, porém podem acometer qualquer idade, sendo de forma epidêmica ou esporádica. ^(6, 25)

Diversos vírus podem causar meningite, principalmente os enterovírus, que são responsáveis por em média 85% a 90% dos casos de meningite, os enterovírus podem ser encontrados em qualquer lugar do mundo, sendo que seu único reservatório é o homem. (6) Dentre os enterovírus, estão inclusos os poliovírus (3 cepas), vírus coxsackie B (6 cepas), echovírus (28 cepas), vírus coxsackie A (23 cepas), e 5 cepas de outros enterovírus. (17,18)

Além dos enterovírus pode-se destacar também o vírus da caxumba, os arbovírus, o vírus da herpes, o vírus do sarampo, o vírus da varicela, o vírus da rubéola e os adenovírus, além destes vírus outros também possuem grande potencial para causar meningite, como o *Epstein-Barr* vírus, *AIDS*, *Cytomegalovírus* e o vírus da *Cryomeningitidis linfocitária*. (6)

Os *Herpes simplex vírus* (HSV 1 e 2) possui alta prevalência e são encontrados em todo mundo, sendo que as meningites causadas por esses vírus são consideradas de emergência médica, considerados como o segundo maior causador de meningite viral em adultos e adolescentes. (6, 26) É estimado que 60% a 80% da população mundial sejam soropositivas para o HSV1 e para o HSV2 variando de 10% a 20%, lembrando que as infecções se dão pelo contato direto com secreções que contenham o vírus, assim como por contato com lesões infectadas. (6)

O vírus da Caxumba já foi o mais frequente entre as meningites virais, porém depois da vacinação (desenvolvida na década de 60), foi praticamente erradicado. Um edema na glândula parótida, mesmo sem parotidite, pode gerar uma meningite. Em alguns países, esse vírus possui comportamento sazonal, com prevalência no inverno e primavera, sendo mais frequente em maiores de 15 anos. (6, 26)

FISIOPATOLOGIA

Em geral germes patogênicos podem colonizar as vias aéreas superiores, sendo considerado o evento inicial de uma meningite bacteriana, habitualmente por organismos capsulados, como pneumococo, meningococo e hemófilo tipo b. (19)

O fator de virulência do microrganismo, assim como o estado de defesa do hospedeiro, pode favorecer uma invasão do epitélio pelo patógeno, se disseminando pela corrente sanguínea. (19)

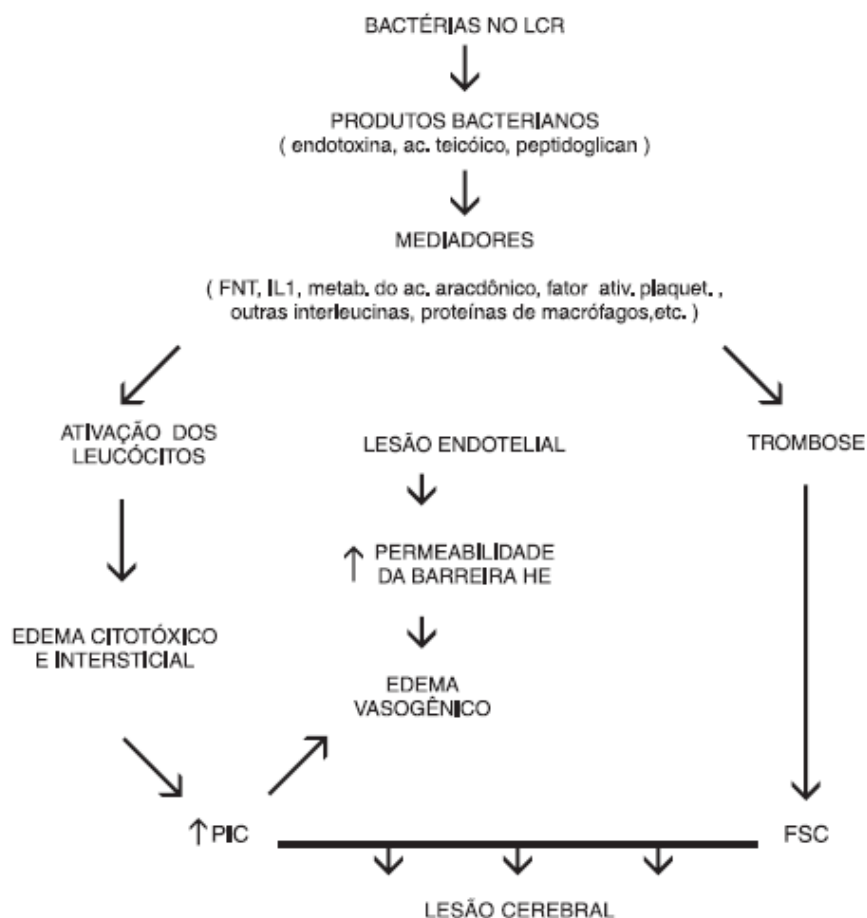
As bactérias liberam enzimas específicas no processo de invasão da mucosa, como as IgA proteases, clivando-as e inativando a enzima específica local,

subseqüentemente agredindo o epitélio do aparelho respiratório, ocasionando perda da atividade ciliar do epitélio, ligando-se de maneira seletiva ao epitélio não ciliado, através de suas fímbrias e dos receptores do hospedeiro. ⁽³⁾

A inflamação intensa das meninges é induzida pela lise bacteriana e a posterior liberação dos elementos de sua parede celular, uma vez liberadas essas substâncias, elas vão estimular a liberação de células da micróglia e astrócitos, além da produção de citocinas, como o fator de necrose tumoral e interleucina-1, que são considerados desencadeadores da resposta inflamatória meníngea. ^(3,19)

As citocinas produzidas induzem um aumento da permeabilidade da barreira hematoencefálica, este evento propicia o surgimento de edema cerebral do tipo vasogênico e permite a passagem de leucócitos e proteínas para o líquido, elementos que deliberam a formação de um exsudato espesso. A reabsorção líquórica pode ser bloqueada pelo exsudato, através das granulações aracnoideas, conforme observa-se na figura 1. ⁽¹⁹⁾

Figura 1 – Meningite Bacteriana Fisiopatologia



Fonte: (3)

Com o avanço da infecção há perda da auto-regulação vascular do sistema nervoso central, fazendo com que o fluxo sanguíneo cerebral seja dependente da pressão arterial sistêmica diretamente. ^(3,8)

O processo inflamatório que acomete o espaço subaracnóideo acaba acometendo os vasos sanguíneos por contiguidade, como uma vasculite, ocasionando uma trombose e infarto cerebral isquêmico, podendo também favorecer a dispersão da infecção para o encéfalo, ocasionando o surgimento de abscessos cerebrais. ⁽¹⁹⁾

DIAGNÓSTICO

O diagnóstico precoce das meningites é muito importante para que o tratamento seja eficaz, e para que os índices de mortalidade e morbidade sejam reduzidos. ⁽³⁾

Diagnóstico Clínico

Os sinais clínicos mais característicos das meningites em geral, são febre, náuseas, vômitos, cefaleia, mialgia, rigidez na nuca, confusão mental, sinais de irritação meníngea (sinais de Kerning, Lasègue e Brudzinski), além das alterações no líquido (LCR). ^(7, 18)

Sinal de Kerning: há uma dificuldade em estender os membros inferiores, quando se flexiona o tronco. ^(7,18,19)

Sinal de Lasègue: elevação dos membros inferiores em direção ao quadril. ^(7,18)

Sinal de Brudzinski: ao flexionar levemente a cabeça em direção ao peito, os membros inferiores também se flexionam. ^(7,18,19)

Diagnóstico Laboratorial

Para se diagnosticar uma meningite pode ser feita uma análise do líquido cefalorraquidiano, sangue e raspado das lesões, além de análise de urina e fezes, para as meningites virais. ⁽¹⁸⁾

A análise laboratorial do líquido cefalorraquidiano fornece informações extremamente relevantes para o futuro diagnóstico do paciente. ⁽¹⁹⁾

Quando há suspeita de meningite os principais exames solicitados para a pesquisa são: exame citológico do LCR, bacterioscopia, cultura, contra-imunoeletroforese cruzada e aglutinação pelo látex. ⁽¹⁸⁾

ANÁLISE LABORATORIAL DO MATERIAL COLETADO

Para o diagnóstico das meningites é necessário que seja feita coleta de líquido (LCR), caso o paciente apresente baixo nível de consciência recomenda-se que seja feito exame de imagem, como tomografia e ressonância, antes da punção. A punção líquórica deve ser feita na coluna vertebral, região que compreende L1 a S1, sendo mais indicados os locais de L3-L4, L4-L5 e L5-S1. Esta coleta deve ser feita pelo patologista clínico e o material encaminhado ao laboratório de análises clínicas. ^(16, 19, 20)

Pode ser coletada uma quantidade de até 20 ml do material, deve-se colher também simultaneamente amostra venosa de sangue para comparações entre glicose plasmática e líquórica e cloro. É importante salientar de que os frascos utilizados para a colheita do material devem estar estéreis (vedados e autoclavados e não devem ser utilizados após seu vencimento. ^(16, 20, 22).

Na totalidade são coletados três tubos, que serão encaminhados para os setores de microbiologia, bioquímica e imunologia, e hematologia. Em caso de suspeita de malignidade pode ser incluído um quarto tubo, que será encaminhado para citologia, afim de esclarecimentos da suspeita. ^(16, 20)

Ao fim da colheita o material deve ser encaminhado ao laboratório e analisado o mais breve possível, para diminuir a degradação do mesmo, que tem início em média uma hora após a coleta, tendo em vista que este material de fácil deterioração. ^(16, 20)

O líquido em indivíduos normais apresenta-se incolor e límpido, com aspecto de “água de rocha”. ^(5, 16, 19, 20)

O aumento da celularidade no líquido pode causar a turvação do mesmo, dependendo da quantidade e o tipo de células pode existir uma variação de sua coloração. ⁽¹⁹⁾

O LCR se deixado em estado de repouso não deve apresentar alterações, tais como coágulos e precipitações. Em condições anormais pode apresentar algumas alterações. ^(16, 19, 20)

Retículo fibrinoso: o material se apresenta de aspecto mais claro, porém quando em repouso é formado um retículo, semelhante a uma rede, agitando-se ao menor movimento. ⁽²⁰⁾

Líquido turvo: pode indicar uma meningite em fase aguda. ^(19, 20)

Líquido Purulento: indício de meningite em fase crônica. ⁽²⁰⁾

Líquido hemorrágico: inicialmente deve-se pesquisar se o aspecto do hemorrágico líquido é associado a um acidente de punção, o que, pode ser observado ao longo da coleta, ou seja, se o aspecto hemorrágico for mais forte no primeiro tubo coletado e mais claro nos demais, sugere que realmente tenha ocorrido um acidente no ato da coleta, porém se o material apresentar aspecto hemorrágico uniforme indica que de veras o sangue se origina do espaço subaracnóideo. ⁽²⁰⁾

Líquido xantocrômico: observado pós-hemorragia meningoencefálica ou meníngea, em reação meníngea em adulto e em recém-nascidos com icterícia. ^(16, 19, 20)

Utiliza-se os testes bioquímicos para as dosagens de Proteínas, glicose, ureia, cloretos, entre outros. A glicose no líquido corresponde a grande parte (2/3) da glicose circulante no organismo. A melhor forma de dosar a glicose do paciente é fazendo uma relação da glicose presente no líquido e da glicose presente no soro; já a quantidade de proteínas depende do fator idade e local da colheita do material. ⁽¹⁹⁾

A concentração das proteínas está diretamente relacionada ao grau do processo infeccioso, assim alterando também a concentração do líquido. (5)

Grande parte das proteínas contidas no líquido é derivada do plasma (cerca de 80%). O aumento das proteínas não é muito específico, porém é de grande valia para o diagnóstico. ⁽¹⁶⁾

O alto nível de proteína total, normalmente é equivalente ao grau de pleocitose. ⁽²⁰⁾

A glicose existente no líquido depende da glicose existente no sangue. ^(16, 20)

A alta taxa de glicose no líquido não pode ser levada em conta e/ou não tem significado clínico, sendo que até duas horas após a realização da punção lombar a

glicose pode apresentar-se alterada. O trauma ocasionado pela punção pode levar a um aumento apócrifo. ⁽¹⁶⁾

Os níveis de cloretos no líquido estão relacionados com a pressão osmótica exercida pelo equilíbrio ácido-básico e o meio intracelular. ⁽⁵⁾

A alteração globulínica no líquido é expressa pelas reações de Pandy, Ross-Jones e Nonne-Apelt embasadas na floculação de proteínas. ⁽²⁰⁾

O aumento das proteínas presentes no líquido positiva as reações das globulinas. Para o diagnóstico devem-se levar em conta os índices elevados de proteínas. ⁽⁵⁾

Na realização do exame citológico se faz a contagem de células e hemácias, sendo este um exame quantitativo e cito-morfológico. ⁽⁵⁾

O LCR em sua composição apresenta-se pobre em celularidade, sendo em sua maioria composto de linfócitos e monócitos. Quando há aumento do número de células no material damos o nome de pleocitose, podendo ser classificada de moderada a intensa. ^(16, 19, 20)

Para a contagem celular do LCR, o mesmo não pode estar diluído, devendo sua contagem ser feita em câmara manual. Esta contagem em câmara pode não ser muito precisa. Para melhor acurácia utiliza-se métodos automatizados, não sendo dispensável a contagem manual. ⁽¹⁶⁾

Deve ser feito um esfregaço corado para a contagem total (global) e o diferencial (contagem específica) das células encontradas no material. ⁽¹⁹⁾

Apenas o diferencial não determina a etiologia da meningite, porém a sua ausência classifica a meningite como não determinada. ⁽²⁾

A cultura é método utilizado para confirmação da bacterioscopia, que pode apresentar resultados errôneos. Este método permite que já seja feito um antibiograma da amostra. O maior problema apresentado na cultura é a demora em se obter resultados, podendo ser entre 3 a 4 semanas. ⁽²⁰⁾

Para um diagnóstico preciso é necessário que o cultivo dos microorganismos seja feito em boas condições, tanto físicas quanto nutritivas do meio de cultura escolhido. A conservação, cuidado com transporte, com o armazenamento do material e meio de cultura escolhido é de grande importância para um diagnóstico adequado. ⁽⁵⁾

A bacterioscopia tem como objetivo pesquisar o patógeno presente no líquido, sendo que os resultados dependem de vários fatores, tais como, tempo de colheita

da amostra (via punção), meios de cultivo e de cultura apropriados, armazenagem da amostra e antibióticoterapia antes da colheita da amostra. ⁽⁵⁾

Este método permite a classificação com baixo grau de especificidade, agrupando tintorialmente e morfológicamente os agentes. ⁽²⁾

Apesar de não ser um método muito confiável, a bacterioscopia pode fornecer dados úteis à pesquisa, como detectar os mais comuns dos patógenos causadores das meningites bacterianas, cerca de 80% a 85% dos casos são confirmados pelo Gram. ^(19, 20)

A contra-imunelectroforese é um teste eficaz para a detecção de meningites bacterianas, quando se tem resultados negativos na cultura e bacterioscopia. ⁽²⁰⁾

A produção de imunoprecipitação consiste na aplicação de uma corrente elétrica, no intuito de acelerar a imunodifusão em ágar ou acetato de celulose do antígeno, de forma que ele se direcione ao anticorpo. ⁽⁵⁾

Em relação aos exames bacteriológicos de rotina a aglutinação pelo látex é o exame mais viável, devido ao seu poder de permitir uma detecção indireta do patógeno, bastante utilizado para diagnósticos em caráter de urgência, podendo ser utilizadas amostras de sangue ou líquido. ^(5,17)

“Este método utiliza partículas de látex sensibilizadas com anticorpos específicos absorvidos em sua superfície para detecção do antígeno diretamente em amostras clínicas. Em presença do antígeno homólogo ocorre uma aglutinação visível.” ⁽⁵⁾

PERFIL LABORATORIAL COMPARATIVO ENTRE AS MENINGITES BACTERIANAS E VIRAIS

Para montar um perfil laboratorial que caracteriza e diferencia as meningites bacterianas e virais, necessita-se, principalmente, de uma amostra do líquido cefalorraquidiano do indivíduo com a suspeita da patologia, porém a amostra de sangue do mesmo não é dispensável. No exame de hemograma é possível observar uma leucocitose significativa, principalmente nas bacterianas, e nas virais sendo observado aumento em fase aguda, em alguns casos, lembrando que o diagnóstico definitivo é feito com a análise do líquido. ^(24, 26)

Exame macroscópico

Em geral a coloração do LCR na meningite bacteriana vai de branco-leitoso a ligeiramente xantocrômico, o aumento da celularidade pode deixar o líquido cefalorraquidiano turvo e sua intensidade varia da quantidade de células presentes no mesmo, neutrófilos lisados deixam seu aspecto turvo e purulento. ^(16,18,19)

Geralmente as meningites de origem viral tem o LCR de aspecto límpido e incolor, contando com baixo número de células, porém, em meningites em fase aguda pode apresentar ligeira turvação. ^(14, 19, 27)

Exame citológico do líquido

Normalmente o líquido demonstra até 4 células/mm³, sendo composto por monócitos e linfócitos. ⁽¹⁹⁾

O aumento das células leucocitárias é oriundo do processo inflamatório/infeccioso em atividade. ⁽¹⁶⁾

As citocinas são produzidas posterior à liberação das endotoxinas pelas bactérias, favorecendo o aparecimento das selectinas, que por sua vez são receptores para leucócitos, encontrados nas células endoteliais, este evento auxilia a migração destas células para o líquido, deixando-o assim mais turvo, conforme a intensidade da infecção. ⁽¹⁹⁾

Habitualmente na meningite bacteriana é observada uma importante pleocitose, com celularidade acima de 1.000 células/mm³, mesmo sem diferenciação celular, seu predomínio tende a ser de células polimorfonucleares (PMN), porém em fase aguda apresenta dominância de monócitos (mononuclear). ^(14, 16, 27)

A meningite viral apresenta celularidade inferior a 1.000 células/mm³, sendo predominantes as mononucleares (MN), porém em fase aguda pode vir a apresentar taxa de polimorfonucleares (PMN) mais elevada, assim como pode vir a sofrer alterações neste quadro, nos casos de infecções por Herpes simplex vírus (HSV), por exemplo, onde pode haver variação da celularidade variando de 0 a 2.500 células/mm³, sendo que sua predominância deve ser de 50 a 800 células/mm³. ^(14, 27)

Exame bioquímico

Habitualmente nas meningites virais não há alteração nos níveis de glicose e o de proteínas pode variar entre normal a ligeiramente aumentado, em contrapartida, nas meningites bacterianas, o exame bioquímico demonstra uma concentração de glicose diminuída ($< 40\text{mg/dL}$), ao contrário das proteínas, que se apresenta elevada (geralmente $> 100\text{ mg/dL}$). ^(14,4,13, 27)

O baixo nível de glicose é característico das meningites bacterianas, quando há aumento do consumo via glicólise anaeróbica pelo tecido cerebral e pelos glóbulos brancos. ⁽¹⁶⁾

O aumento da permeabilidade da barreira hematoencefálica, pode gerar o aumento do número de proteínas, que pode ser causada pela inflamação, assim como uma obstrução (bloqueio) mecânico do fluxo do líquido e diminuição da reabsorção nos vilos aracnóides. ⁽¹⁶⁾

Com o aumento da permeabilidade da barreira hematoencefálica, alterando suas propriedades, há o favorecimento de um edema cerebral (tipo vasogênico), permitindo que haja um extravasamento de leucócitos e proteínas para o líquido, elementos que levam à formação de um exsudato espesso, que bloqueia a reabsorção líquórica. ⁽¹⁹⁾

A reação de Pandy se mostra positiva na meningite bacteriana, devido o aumento das proteínas, conseqüentemente a alteração das globulinas, pois a concentração elevada das proteínas tende a positivar as reações das globulinas, em geral não mostrando alteração no caso das meningites virais. ^(5, 26)

Alta concentração da Proteína C-Reativa (CRP) em fase aguda, tem sido utilizada na diferenciação das meningites virais e bacterianas. Um suposto negativo de um resultado com valor baixo, pode descartar em até 97% de que a meningite pesquisada seja de origem bacteriana. ⁽¹⁶⁾

A concentração dos cloretos na meningite bacteriana se apresenta diminuída, devido o desequilíbrio ácido-básico e a alteração da osmolaridade do meio intracelular que o organismo está passando. ^(5, 18)

O lactato é utilizado como um teste diferencial para meningite bacteriana e viral. Concentrações elevadas de lactato no líquido demonstram o metabolismo anaeróbico no sistema nervoso central, devido a hipoxemia. ^(3,16)

Altas concentrações de lactato estão mais presentes nas meningites bacterianas, apresentando taxas acima de 35 mg/dL, ao contrário das meningites virais em que o lactato, quase sempre está inferior a 35 mg/dL, sendo que habitualmente, apresenta valor inferior a 25 mg/dL. Concentrações permanentemente elevadas estão associadas a um mau prognóstico para paciente com traumatismo craniano crítico. ⁽¹⁶⁾

Bacterioscopia

Um exame de extrema importância é o bacteriológico, que tem como propósito identificar o patógeno no líquido. Considerado como “padrão ouro”, a cultura, mesmo que pouco tardia, pode definir o diagnóstico adequado. Como as bactérias que causam a meningite são sensíveis a umidade e temperatura deve-se saber o meio adequado para fazer a cultura. O cultivo em meio Ágar-chocolate com crescimento já sugere que o agente etiológico seja bacteriano, podendo também ser cultivado em meio de Lowenstein-Jansen caso haja suspeita de meningite tuberculosa. ^(5, 6, 18)

O Gram é um método presuntivo, a microscopia pode se mostrar positiva para diplococo gram-negativo, bacilos gram-negativo, cocos gram-positivos e bacilos gram-positivos. ^(14, 18)

Contra-imunoeletroforese e Aglutinação pelo látex

A contra-imunoeletroforese é um método importante para o diagnóstico da meningite bacteriana, além de ser rápido, se mostra reagente para *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* e *Neisseria meningitidis*. A aglutinação pelo látex, assim como a controimunoeletroforese, quando em contato com o antígeno específico, ocorre uma aglutinação visível, já nas pesquisas para detectar meningite viral estes testes serão negativos, não sendo reagentes. ^(13, 18)

Podem-se utilizar também os ensaios imunoenzimáticos para a identificação dos antígenos bacterianos, geralmente utiliza-se um suporte sólido, onde se ligam os anticorpos específicos. Ainda temos o método molecular e a reação em cadeia da polimerase (PCR), que são usados como testes mais específicos. ⁽⁶⁾

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os parâmetros laboratoriais para a diferenciação das meningites bacterianas das virais mostram que o exame de maior importância é a análise do líquido cefalorraquidiano, demonstrando alterações desde o exame macroscópico a testes mais sofisticados, sendo que, todos os testes são importantes em fase do diagnóstico precoce, justamente para o tratamento ser realizado quanto antes. A análise do líquido após uma meningite bacteriana apresenta características exsudativas e facilita o diagnóstico diferencial, ao contrário das análises de amostras após infecções virais, que demonstram menos alterações com características de transudato, dependendo, de associações clínicas e análises mais específicas, como a microbiológica e dosagem de lactato para auxiliar no diagnóstico diferencial.

Observa-se que nas meningites bacterianas o líquido se apresenta, habitualmente, turvo, devido à elevação de proteínas e sua alta celularidade, principalmente de polimorfonucleares, fazendo com que sua coloração varie do branco-leitoso ao xantocrômico, em contrapartida nos quadros de meningites virais o líquido mostra-se de incolor e com predominância de células mononucleares, porém na fase aguda da patologia pode apresentar ligeira turvação e aumento de polimorfonucleares. Se tratando da análise bioquímica, é observado que nas meningites bacterianas há aumento das proteínas, assim como em fase aguda das meningites virais, podendo variar de normal a ligeiramente aumentado; o baixo nível de glicose é característico das meningites bacterianas, não demonstrando alteração nas virais. Como principal teste diferencial, vem sendo utilizado a dosagem do lactato, que traz altas concentrações nas meningites bacterianas, não demonstrando alterações significativas nas virais. Os testes de cultura e bacterioscopia são utilizados para confirmação e identificação dos agentes etiológicos das meningites bacterianas, posteriormente sendo feito os exames de contra-imunoeletroforese e aglutinação pelo látex, que se mostram positivos/reagente, ao contrário das meningites virais, onde não há alteração nestes testes.

Portanto, a análise laboratorial do líquido se faz importante no uso clínico como meio de diferencial dos diagnósticos associados a patologias que acometem o sistema nervoso central, principalmente de origem infecciosa.

REFERÊNCIAS

1. Lucena R, Gomes J, Ferreira A, Goés J, Araújo J, Veiga M, et al. Características clínicas e laboratoriais de meningites bacterianas em crianças. *Arq Neuropsiquiatr.* 1996;54 (54): 571-6.
2. Freitas CAP. Estudo da ocorrência de meningites não meningocócicas no município de Ribeirão Preto – SP, no período de 1998 a 2005 [dissertação] [Internet]. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo – USP; 2007. [acesso em 2016 mar 08]. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/17/17139/tde-17032008-142358/fr.php>
3. Faria SM, Farahat CK. Meningites bacterianas: diagnóstico e conduta. *Jornal de Pediatria.* 1995; 75 (1): 46-56.
4. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. Meninges virais. São Paulo. *Rev. Saúde Pública.* 2006; 40(4): 748-50.
5. Atobe JH. Amplificação de DNA de *Neisseria meningitidis* em amostra de líquido cefalorraquidiano empregado a reação em cadeia da polimerase – multiplex [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo – USP; 1998. [acesso em 2016 mar 08]. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9136/tde-11082006-115017/pt-br.php>
6. Trócoli MGC. Epidemiologia das meningites bacterianas e virais agudas ocorridas no Instituto Estadual de Infectologia São Sebastião (IEISS) - Rio de Janeiro. Período: 11/11/96 a 10/06/97 [dissertação] [Internet]. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde Pública - FIOCRUZ; 1998. [acesso em 2016 mar 28]. Disponível em: <http://www.arca.fiocruz.br/xmlui/handle/icict/4650>
7. Nunes RAL. Aplicação de técnicas moleculares no diagnóstico laboratorial complementar as infecções virais do sistema nervoso central no Hospital Universitário da USP [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo – USP; 2013. [acesso em 2016 mar 08]. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/42/42132/tde-19032014-160513/pt-br.php>
8. Tauil MC. Aspectos epidemiológicos da doença meningocócica no Distrito Federal 2000 a 2011 [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo – USP; 2013. [acesso em 2016 mar 08]. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/6/6132/tde-14032013-131623/pt-br.php>
9. Gil AC. Métodos e técnicas de pesquisa social. 6. ed. São Paulo: Atlas S. A.; 2008. p.49-59.

10. Escosteguy CC, Medronho RA, Madruga R, Dias HG, Braga RC, Azevedo OP. Vigilância epidemiológica e avaliação da assistência às meningites. Rev. Saúde Pública. 2004; 38 (5): 657-63.
11. Ribeiro VMLM, Rocha CM, Fernandes WLM, Guerreiro MM. Meningites bacterianas agudas. Complicações Vasculares. Arq Neuropsiquiatr. 1993; 51 (4): 507-10.
12. Carvalho CMCN, Carvalho OAM. Etiologia de Meningites bacterianas em uma amostra da população de Salvador – Bahia. Arq Neuropsiquiatr. 1998; 56 (1): 83-7.
13. Caldeira CG. Resposta imune humoral de pacientes com doença meningocócica frente a lipooligosacarídeos específicos [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo – USP; 2004. [acesso em 2016 mar 08]. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9136/tde-28012005-111217/pt-br.php>
14. Costa GAM. Comportamento da meningite bacteriana neonatal de acordo com o peso de nascimento [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo – USP; 2006. [acesso em 2016 mar 08]. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/5/5141/tde-06022007-095913/pt-br.php>
15. Miller O. Laboratório para o Clínico. 8. ed. São Paulo: Atheneu; 1999. p.533-42.
16. Henry JB. Diagnósticos Clínicos e Tratamento por Métodos Laboratoriais. 20 ed. São Paulo: Manole; 2008 p. 471-95
17. Santos AV. Meningites [trabalho de conclusão de curso]. São Paulo: FMU; 2007. [acesso em 2016 abr 05]. Disponível em: <http://arquivo.fmu.br/prodisc/farmacia/avs.pdf>
18. Ministério da Saúde (Brasil). Guia de Vigilância Epidemiológica. 7 ed. Brasília: Secretaria de Vigilância em Saúde /MS; 2009. P. 21 – 47
19. Marinho M, Lima MR, Nicolich M, Netto M, Messina B. Infectologia. Medcurso. 2014;(3): p.45-50.
20. Miller O. Laboratório para o Clínico. 8. ed. São Paulo: Atheneu; 1999. p.153-8

21. Ministério da Saúde (Brasil), Fundação Nacional de Saúde, Centro Nacional de Epidemiologia. Doenças Infecciosas e Parasitárias: aspectos clínicos, vigilância epidemiológica e medidas de controle. Brasília: FUNASA; 2000. p.65-6
22. Laboratório Central Do Estado Do Paraná. Manual de coleta e envio de amostras biológicas ao LACEN/PR: Manual 1.30.001. Curitiba: LACEN; 2012.
23. Vieira S. Avaliação das concentrações de anticorpos aos sorotipos 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, e 23F de *Streptococcus pneumoniae* antes e depois da aplicação da vacina conjugada 7-valente, em crianças com insuficiência renal crônica em tratamento conservador e diálise [dissertação] [Internet]. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – USP; 2007. [acesso em 2016 mar 08]. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/5/5141/tde-24102007-144034/pt-br.php>
24. Carvalho CAR. Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado [homepage na Internet]. Meningite [acesso em 2016 jul 30]. Disponível em <http://www.fmt.am.gov.br/manual/meningite.htm>
25. Alves FG, Wajnsztein R, Alves CAE, Moraes TC, Fujimori M, Adami F, et al. Parâmetros laboratoriais do líquido cefalorraquidiano em indivíduos com meningite por enterovírus. *Journal of Human Growth and Development*. 2015; 25 (2): 237-242.
26. Damiani D, Furlan MC, Damiani D. Meningite asséptica. *Rev Bras Clin Med*. 2012;10(1):46-50.
27. Governo do Estado da Bahia [homepage da internet]. Diagnóstico laboratorial das meningites resultados de líquidos x patologias [acesso em 2016 ago 22]. Disponível em: http://www.suvisa.ba.gov.br/sites/default/files/vigilancia_epidemiologica/imunopreveniveis/arquivo/2012/08/09/DIAG%20LABORATORIAL%20L%C3%8DQUOR%20X%20PATOLOGIAS.pdf
28. Ministério da Saúde (Brasil), Portal da saúde [homepage da internet]. Casos confirmados, óbitos, incidência (por 100.000 habitantes) e letalidade (%) por tipo de meningite. Brasil, 2010 a 2015*. [acesso em 2016 nov 23]. Disponível em: http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2016/outubro/33/tabela-2000-2015_meningite.pdf

AGRADECIMENTOS

Inicialmente agradeço a Deus por ter me dado saúde, força e sabedoria para chegar até aqui e superar as dificuldades.

A esta faculdade, principalmente ao corpo docente, que contribuíram para minha formação, me concedendo seu conhecimento e proporcionando condições necessárias para que eu alcançasse minhas metas.

Ao meu orientador Márden Estevão Mattos Júnior, por todo tempo e paciência que me foi dedicado para a realização deste trabalho.

Aos meus pais, pelo amor que me deram, além da educação e ensinamentos diários.

As minhas irmãs e ao meu namorado, que sempre estiveram me apoiando, me dando forças para continuar.

Enfim, a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a execução deste trabalho, fica aqui meu muito obrigado.