UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI SASSARI

FACOLTA' DI MEDICINA E CHIRURGIA

ISTITUTO DI CLINICA PEDIATRICA

(Direttore: Prof. TULLIO MELONI)

LA PROTEINA C REATTIVA NEL LIQUOR IN CORSO DI MENINGITE

Relatore:

Chiar.mo Prof. TULLIO MELONI

Tesi di laurea di:

ANTONIO PINNA

ANNO ACCADEMICO 1983-84

Legatoria Artistica Artigiana - Via Dei Mille 70/A - SASSARI

Le meningiti sono processi infiammatori delle leptomeningi di origine infettiva dovuti a diretta localizzazione dell'agente patogeno.

Dal punto di vista etiologico possono essere così classificate:

I) Meningiti da virus:

a) meningiti da Picornavirus (virus poliomielitici, virus ECHO, virus Coxsackie A e B);

b) meningiti da Ortomyxovirus e Paramyxovirus (virus parotitico);

c) meningiti da Arbovirus;

d) meningiti da Herpesvirus;

e) coriomeningite linfocitaria;

f) meningiti di probabile origine virale (mononucleosi infettiva, linfocitosi acuta, epatite virale, meningite endotelio-leucocitaria multiricorrente di Mollaret, etc.).

II) Meningiti da rickettsie (rare).

III) Meningiti da bedsonie (rare).

IV) Meningiti da batteri propriamente detti:

a) meningite tubercolare;

b) meningite meningococcica o cerebrospinale epidemica,

c) meningiti da altre Neisseriae (gonococco, N. catarrhalis, etc.);

d) meningite pneumococcica;

e) meningite streptococcica;

f) meningite stafilococcica

g) meningite da Hemophilus influenzae;

h) meningite da enterobatteri (E. coli, Kl. pneumoniae, Proteus, Salmonellae, Shigellae, Alcaligenes faecalis, etc.);

i) meningite da Pseudomonas aereginosa;

l) meningite da Listeria monocytogenes;

m) meningite da Mima polymorpha;

n) meningite brucellare;

o) meningite tularemica;

p) meningite carbonchiosa;

q) meningite da germi anaerobi (Clostridium perfrigens, Bacillus fusiformis, etc.);

r) meningiti da spirochete (leptospirosi lue);

s) meningiti polimicrobiche.

V) Meningiti da miceti.

VI Meningiti da protozoi.

VII) Meningiti post-infettive e post-vacciniche.

La frequenza delle diverse meningiti varia a seconda della età e dei diversi paesi. Hanno diffusione ubiquitaria alcune meningiti virali (soprattutto da Picornavirus e da virus parotitico) e quasi tutte le meningiti batteriche

(meningite tubercolare, meningococcica, da H. influenzae, da pneumococco, da stafilococco e da Enterobacteriacea).

Il frequente isolamento dell'agente etiologico dal sangue, ha avvalorato il concetto della genesi ematica delle meningiti; gli agenti patogeni arriverebbero dal sangue superando la barriera emato-liquorale.

Un'altra possibilità é il diretto passaggio dei germi dalla mucosa rino-faringea attraverso le guaine nervose delle branche del nervo olfattorio che attraversano la lamina cribrosa dell'etmoide o attraverso i vasi sanguigni che attraversano la lamina stessa o ancora attraverso connessioni linfatiche.

Sembra che l'eventuale passaggio dei germi dalle vie

respiratorie superiori alle meningiti sia favorito da traumi di varia natura, anche modesti.

Un altro fattore favorente potrebbe essere un deficit immunologico locale, come per esempio l'assenza di IgA a livello delle mucose respiratorie.

I quadri anatomo-patologici sono molteplici e variabili in rapporto con l'etiologia e la localizzazione del processo morboso (meningiti cerebrali, spinali, cerebrospinali, della volta, della base).

Dal punto di vista pratico é di grande interesse la distinzione in due gruppi fondamentali:

a) meningiti a liquor limpido o sierose;

b) meningiti a loquor torbido o purulente.

Il termine "lipido" non é rigorosamente esatto poiché il liquor può assumere aspetto opalescente o smerigliato a seconda del grado della pleiocitosi liquorale, pur non essendo francamente torbido in alcuna fase dell'evoluzione della malattia anche se le cellule sono numerose.

Inoltre la dizione di "meningite linfocitaria" usata per contraddistinguere le meningiti a liquor limpido, é inesatta poiché il liquor non contiene solo linfociti ma anche polinucleati e cellule istiodi.

Le meningiti a liquor limpido comprendono alcune meningiti batteriche (meningite tubercolare, meningite brucellare, meningite luetica, meningiti leptospirosiche),

tutte le meningiti da virus, alcune meningiti micotiche, da protozoi e da elminti.

Il quadro liquorale é caratterizzato da aumento della pressione, modica pleiocitosi (in genere da 300 a 1500 elementi per mmc) e iperproteinorachia di grado variabile.

La glicorachia si comporta diversamente, nel senso che essa é quasi sempre normale, tranne nella forma tubercolare che si accompagna ad una costante e precoce ipoglicorachia.

Le meningiti purulente sono caratterizzate dallo aspetto del liquor cefalorachidiano nettamente torpido

o opalescente in fase precoce o in casi parzialmente trattati. Il numero delle cellule é elevato fino a 10.000 per mmc. , la proteinorachia é fortemente aumentata, la glicorrachia é quasi sempre diminuita.

Le meningiti sono malattie febbrili che provocano la comparsa di un insieme di sintomi e segni, che nel loro complesso caratterizzano la "sindrome meningea". Alcune di queste manifestastazioni sono in rapporto con l'ipertensione endocranica, altre con l'irritazione delle radici spinali nel loro tratto intratecale, altre con la concomitante sofferenza corticale, altre ancora con fenomeni neurovegetativi.

Il quadro completo comprende:

La "cefalea" che deriva sia dall'infiammazione

La "cefalea" che deriva sia dall'infammazione dei vasi meningei che dall'aumentata pressione endocranica, spesso accompagnata da "fotofobia" e "iperestesia".

La "rigidità nucale" e "spinale" dovuta all'irritazione delle meningi e delle radici posteriori spinali, che eccita riflessi flessori di difesa tesi ad accorciare l'asse spinale e a immobilizzare i tessuti irritati.

L'estensione della colonna porta a stiramento delle radici spinali con conseguente dolore e spasmo riflesso che sono alla base dei segni di Kernig e Brudzinski.

Questi sintomi di interessamento delle radici posteriori spinali per quanto molto indicativi di un interes-

samento meningeo sono però molto spesso assenti in bambini di più giovane età.

I "disturbi del sensorio" sono correlati con l'encefalopatia tossica e metabolica.

Frequentemente si osservano"convulsioni" generalizzate o focale specie in bambini più piccoli.

Reazioni vasomotorie da irritazione meningea dei centri vegetativi si correlano con dermografismo rosso, macchie di Trousseau sulle guance, stipsi, sudorazione profusa.

Quando sono predominanti i segni di deficit centrali si osserva paralisi di nervi cranici, atassia cerebellare, obnubilamento del sensorio fino al coma.

La meningite rappresenta un'emergenza medica che richiede una pronta capacità di risposta diagnostica e terapeutica.

Poiché la mortalità é molto elevata soprattuto nei bambini di più giovane età e poiché sono molto frequenti i reliquoti, la prognosi può essere migliorata soltanto se la diagnosi viene fatta in modo tempestivo, accertandosi nel modo più rapido quale sia l'agente etiologico, quindi escludendo quelle forme nelle quali il liquido é sterile ed iniziando immediattamente una terapia antibiotica appropriata.

La diagnosi etiologica di meningite viene fatta attraverso la liquorcultura, esami che richiedono tempi

discretamente lunghi per l'evidenziazione del germe responsabile.

Poiché, come é stato già detto precedentemente le meningiti necessitano di una diagnosi rapida al fine di una terapia razionale pronta, e poiché con gli esami culturali necessitano di tempi lunghi, é stato proposto sulla base di esperienze anche in altre patologie, il disaggio della proteina C reattiva (PCR) nel liquor allo scopo di differenziare almeno le forme batteriche da quelle virali. La P.C.R. é un normale costitutente del plasma nel quale si trova ad una concentrazione media di 0,8 mg% ml.

Inoltre la P.C.R. risulta dosabile nel liquido peritoneale e sinoviale di processi infettivi a carico di questi tessuti. La P.C.R. viene sintetizzata dagli epatociti probabilmente sotto l'influenza di mediatori chimici quali i pirogeni endogeni e le prostaglandine PGE_1

La P.C.R. ha un peso molecolare di 105.500 é una struttura ciclica simile ad un disco, formato da 5 monomeri identici tra di loro e uniti da legami non convelenti. Il suo livello plasmatico può aumentare nel giro di poche ore fino a valori di 30 mg% .

La concentrazione del P.C.R. aumenta in corso di processi infiammatori, neoplasie, necrosi ed in quelle

situazioni in cui si verifica una distruzione tessutale.

La P.C.R. si lega in presenza di ioni calcio^{++} ad una grande quantità di sostanze che derivano da cellule danneggiate e da microorganismo. Una volta legatasi può attivare il complemento attraverso la via classica, ha potere opsonizzante e può accellerare le reazioni infiammatorie.

La rapidità dell'incremento plasmatico della P.C.R che si verifica entro poche ore dell'insulto patogeno é una caratteristica utile al fine di identificare precocemente i processi infiammatori in atto.

D'altra parte anche il decadimento della concentra-

zione plasmatica avviene abbastanza rapidamento dopo la risoluzione anche parziale del processo infiammatorio e si verifica in media entro una settimana.

In questi ultimi anni il dosaggio della P.C.R. ha suscitato notevole interesse nello studio di diversi processi infettivi. La P.C.R. é stata valutata nelle infezioni delle vie urinarie dove é stata dimostrata la sua validità nel discriminare le infezioni delle alte vie da quelle basse.

Da studi recenti di McCarty e coll. di Principi e coll. e Dore e coll. su infezioni polmonari risulta che l'incremento della P.C.R. si correla in una elevata per-

centuale di casi con una eziologia batterica.

Per quanto riguarda le meningiti Corral e coll.

hanno osservato aumenti significativi della P.C.R.

solo nel liquor di pazienti affetti da meningite

batterica. In tale studio i dosaggi della P.C.R.

sono stati eseguiti come metodica semiquantativa

impiegando il test al lattice.

Poiché é noto che questo tipo di determinazione

é meno precisa di quella che si può ottenere impie-

gando l'immunodiffusione radiale, nel presente studio

la determinazione della P.C.R. é stata fatta con en-

trambi i metodi allo scopo di poter meglio differenziare

le meningiti batteriche da quelle virali.

MATERIALE E METODI

Nel periodo novembre 1981 - agosto 1982 presso la Clinica Pediatrica della Università di Sassari, é stata dosata la P.C.R. nel liquor di 30 bambini di età compresa tra i 2 mesi e i 10 anni (età media 4 anni). 8 di questi bambini erano ricoverati per meningite batterica, 12 per meningite virale, 10 per convulsioni febbrili. Questi ultimi sono serviti come gruppo di controllo.

La diagnosi di meningite batterica é stata fatta in base al riscontro di una positività della liquorcoltura e/o dell'emocoltura. La diagnosi di meningite virale é stata dapprima sospettata in base ad una anamnesi positiva per parotite e successivamente confermata dalla negatività degli esami colturali e dalla siero-conversione anticorpale.

Il dosaggio della P.C.R. é stato effettuato mediante test di agglutinazione al lattice della Bhering (C.R.P. latex test) con diluizioni scalari del liquor di 1:1, 1:5, 1:10 (1) e mediante immunodiffusione radiale (6) con piastre Partigen della Behring utilizzando liquor

Gli esami colturali su sangue e liquor e la titolazione degli anticorpi antivirus sono stati effettuati con le tecniche usuali.

RISULTATI

Come si può rilevare dalle tabelle n. 1-2 su 8 meningiti batteriche 4 erano dovute ad haemofilus, 3 a meningococco ed 1 al pneumococco. Tutte le meningiti virali erano invece sostenute dal virus parotitico.

Per quanto riguarda il dosaggio della P.C.R. dall'analisi della tabella n. 3 risulta evidente che in nessun caso si é potuta documentare una positività con il test di agglutinazione al lattice. Con la metodica della immunodiffusione radiale in un solo paziente, affetto da meningite meningococcica, sono stati evidenziati livelli dosabili di P.C.R. (1 mg/100 ml).

In tutti gli altri casi il dosaggio eseguito con immunodiffusione radiale é risultato negativo e concordante con il dosaggio semiquantitativo mediante latx test.

CONCLUSIONI

Corral e coll. (2) hanno dismotrato l'utilità e la validità della determinazione semiquantitativa della P.C.R. sul liquor, mediante test di agglutinazione al lattice, nel definire l'eziologia batterica o virale delle meningiti.

I nostri risultati, su una casistica numericamente inferiore, non concordano con quelli degli AA. sopracitati.

Infatti il dosaggio della P.C.R. da noi eseguito con test di agglutinazione al lattice non ha mai messo in evidenza una positività del test. Il contemporaneo

dosaggio quantitativo con immunodiffusione radiale ha evidenziato risultati sovrapponibili, tranne in un caso di meningite da meningococco in cui la P.C.R. é risultata di 1 mg/100 ml. La tecnica dell'immunodiffusione radiale é più precisa e affidabile del test di agglutinazione al lattice (1) ma richiede per la sua esecuzione un tempo maggiore (24-48 ore).

Ulteriori studi, sono a nostro avviso necessari per confermare o escludere la validità del dosaggio della P.C.R. nel liquoe con tecniche a rapida lettura in considerazione dell'importanza che riveste, nelle meningiti una immediata e corretta terapia.

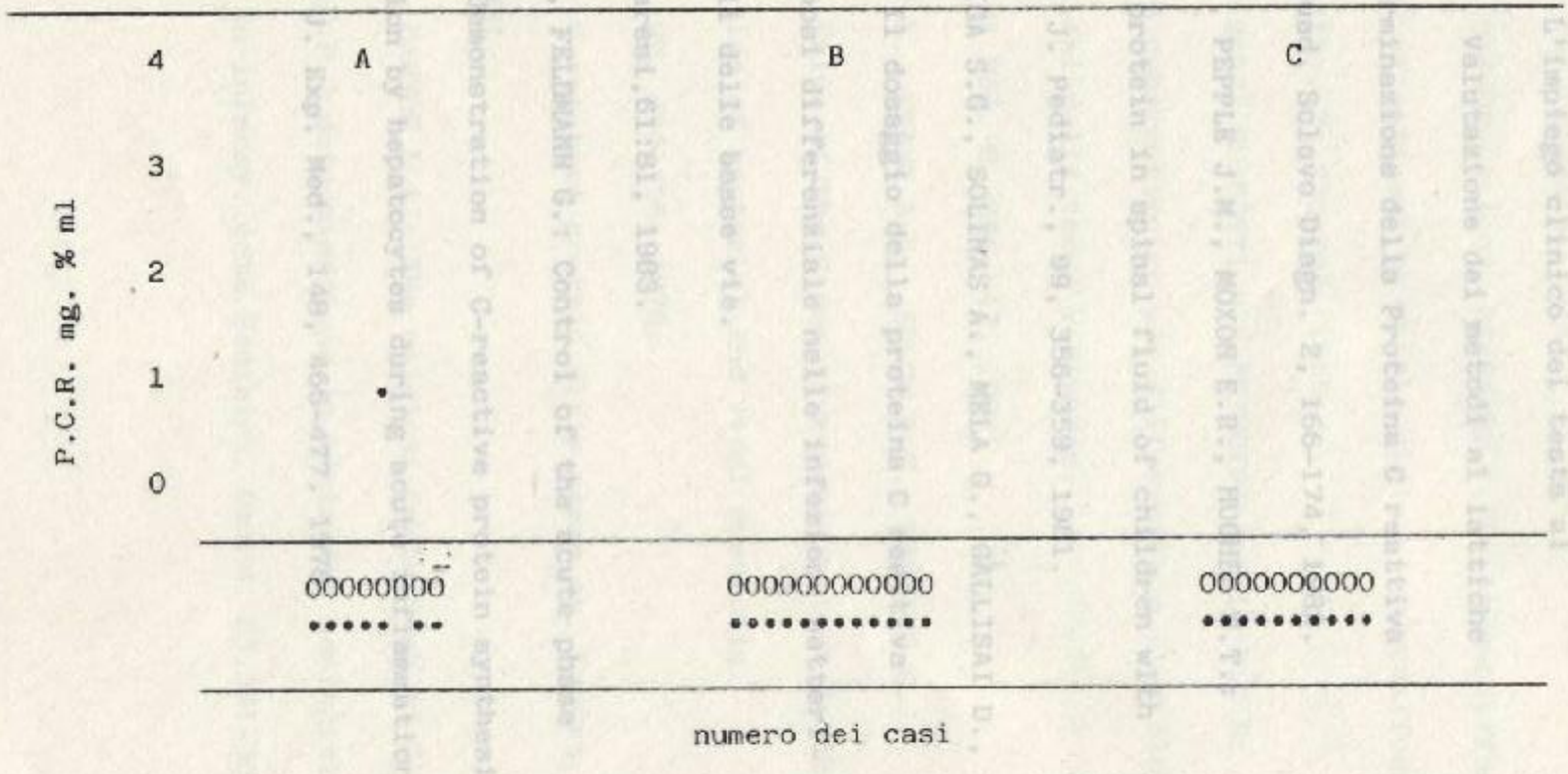
TABELLA I - SPECIE MICROBICHE ISOLATE NEL LIQUOR E/O NEL SANGUE DEI SOGGETTI AFFETTI DA MENINGITE BATTERICA

Caso n.	Liquorcoltura	Emocoltura
1	Haemophilus	Negativa
2	Haemophilus	Negativa
3	Haemophilus	Negativa
4	Haemophilus	Negativa
5	Meningococco	Negativa
6	Meningococco	Meningococco
7	Meningococco	Negativa
8	Pneumococco	Negativa

TABELLA II - COMPORTAMENTO DEL TITOLO ANTICORPALE PER VIRUS PAROTITICO DETERMINATO AL MOMENTO DEL RICOVERO E DOPO VENTI GIORNI

Cano n.	I Titolo anticorpale	II Titolo anticorpale
1	0	1:16
2	0	1:64
3	0	1:16
4	0	1:64
5	1:16	1:64
6	1:16	1:64
7	0	1:16
8	1:64	0
9	1:16	1:128
10	1:64	0
11	1:16	1:128
12	0	1:16

TABELLA III - LIVELLI DI P.C.R. AL TEST AL LATTICE (o) E ALL'IMMUNODIFFUSIONE (•) NEI SOGGETTI CON MENINGITE BATTERICA (A), MENINGITE VIRALE (B) E NEI CONTROLLI (C).



BIBLIOGRAFIA

1) BONAMORO R., GARLASCHI M.C., GARLASCHI M.L., VAROTTO F.: L'impiego clinico dei tests al lattice. II. Valutazione dei metodi al lattiche per la determinazione della Proteina C reattiva (P.C.R.). Quad. Sclavo Diagn. 2, 166-174, 1982.

2) CORRAL C.J., PEPPLE J.M., MOXON E.R., HUGHES W.T.: C-reactive protein in spinal fluid of children with meningitis. J. Pediatr., 99, 356-359, 1981.

3) DORE A., PIGA S.G., SOLINAS A., MELA G., GALLISAI D., FRANCA V.: Il dosaggio della proteina C reattiva nella diagnosi differenziale nelle infezioni batteriche e virali delle basse vie. Studi sassaresi,61:81, 1983.

4) KUSHNER I., FELDMANN G.: Control of the acute phase response. Demonstration of C-reactive protein synthesis and secretion by hepatocytes during acute infiammation in rabbit. J. Exp. Med., 148, 466-477. 1978.

5) KUSHNER I., SOMERVILLE - VOLANAKIS J.:
Studies of synovial and serum C-reactive protein in experimental arthritis in rabbits. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 142, 112-116, 1973.

6) MANCINI G., CARBONARA A.O., HEREMANS J.F.: Immunodiffusion quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. Immunochemistry, 2, 235-254, 1965.

7) MARCHIO P., BARBI GUIDOTTI M., PRINCIPI N.: La P.C.R. quantitativa come porametro per differenziare l'eziologia delle infezioni delle basse vie aeree. Riv. Ital. di Ped. 8, 646-647, 1982.

8) Mc CARTHY P.L., FRANK A.L., ABLOW R.C., MASTERS S.J., DOLAN T.F.: Value of the C-reactive protein test in the differetiantion of bacterial and viral pneumonia. J. Pediatr. 92, 454-456, 1978.

9) PEPYS M.B.: C-reactive protein fifty years on. Lancet, 21 653-656, 1981.

10) SABEL K.G., HANSON L.A.: The clinical usefulness of C-reative protein (C.R.P.) determinations in bacterial meningitis and septicemia in infancy. Acta Pediatri. Scand. 63,381-386, 1984.

11) SAXTAD J., NILLSSON L.A., HANSON L.A.: C-reactive protein in serum from infants as determined with immunodiffusion techiniques. I. Healthy infants. Acta Pediatr. Scand., 59, 25-27, 1970.

12) WOOD H.F., Mc CARTY M., SLATER R.J.: The occurrence duringduring acute infants of a protein not normally found present in blood. V. Physical chimical properties of the C-reactive protein crystallized by a modified technique. J. Exp. Med., 100, 71-76, 1954.