

Resultados bacteriológicos en el líquido cefalorraquídeo de pacientes con sospecha clínica de meningitis bacteriana

Cuatro años de experiencia

Santiago Estrada, Sigifredo Ospina, Edilma Jaramillo, Martha Bustamante, Marleny Gallego, Nora Adriana Montealegre

Objetivo: estudiar desde el punto de vista bacteriológico el líquido cefalorraquídeo (LCR) de pacientes con sospecha de meningitis bacteriana (MB), determinar la sensibilidad y especificidad del Gram y el látex frente al cultivo y conocer los grupos etéreos más afectados por la entidad.

Métodos: se trata de un estudio descriptivo, retrospectivo, para el cual se recogió la información de los años 1990 a 1993, se elaboró una encuesta que permitió cruzar las variables de edad y germen aislado, Gram y látex, y éstas últimas con el cultivo. Para esto se utilizó el sistema EPI-INFO 5.0.

Resultados: se estudiaron 459 LCR. En 69% de los pacientes no se encontró

etiología bacteriana. La *Neisseria meningitidis* fue la primera causa en 16.2 % de los pacientes, le siguió el *Haemophilus influenzae* en 6.5 % y por último el *Streptococcus pneumoniae* en 2.8 %. El grupo más afectado fue el de cinco a veinte años con 144 pacientes, seguido del de uno a cuatro años con 120. La sensibilidad del Gram fue mejor que la del látex en el caso de *N. meningitidis* y *S. pneumoniae*, pero igual para el *H. influenzae*.

Conclusiones: 1. Promover estudios locales y nacionales que permitan conocer los cambios en las tasas de incidencia. 2. Utilizar el Gram como un método de diagnóstico barato, rápido, simple y sensible, siempre y cuando se tenga experiencia. 3. Hacer únicamente látex en casos en que el Gram no aporte información o si el paciente ha estado recibiendo antibióticos.

Introducción

Na meningitis bacteriana (MB) es una de las enfermedades infecciosas más importantes en el mundo, con tasas de incidencia que van desde tres casos por 100.000 habitantes en los países desarrollados como Estados Unidos (1), hasta 45.8 casos por 100.000 habitantes en países como El Salvador y Brasil, informados en la década de 1973 a 1982 y con tasas de mortalidad que alcanzan 33% en dichos países (2).

En Estados Unidos se informa que el *H. influenzae*, la *N. meningitidis* y el *S. pneumoniae*, son los tres principales agentes etiológicos de MB, con tasas de mortalidad de seis, 10.3 y 26.3% respectivamente (3). Para los países en desarrollo la etiología es la misma, representando estos

Dr. Santiago Estrada M.: Microbiólogo; Dr. Sigifredo Ospina O.: Microbiólogo y Epidemiólogo; Dra. Edilma Jaramillo O.: Bacterióloga Licenciada; Dras. Martha G. Bustamante G. y Marleny Gallego G.: Bacteriólogas Licenciadas; Dra. Nora Adriana Montealegre H.: Epidemióloga. Laboratorio Departamental de Salud Pública (LDSP), Medellín. Colombia.

LCR en meningitis bacteriana

Germen / Grupo etáreo	<i>Neisseria meningitidis</i> Grupo A	<i>Neisseria meningitidis</i> Grupo B	<i>Neisseria meningitidis</i> Grupo C	<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Otros*	Sin germen	Total %
<30 días	0	2	0	2	1	4	10	19 (4.1)
30 días - 6 meses	0	7	0	10	1	3	36	57 (12.4)
7 - 11 meses	0	1	0	2	3	3	21	30 (6.5)
1 - 4 años	0	15	2	14	1	2	87	121 (26.4)
5 - 20 años	1	31	3	2	4	4	99	144 (31.4)
21 - 45 años	0	10	0	0	0	5	40	55 (12.0)
>46 años	0	3	0	0	3	3	29	33 (7.2)
TOTAL (%)	1 (0.2)	69 (15.0)	5 (1.0)	30 (6.5)	13 (2.8)	24 (5.2)	317 (69.0)	459 (100.0)

*Se refiere a: *S. aureus* en seis pacientes, *Salmonella spp* en cinco, *Enterococo* y *Pseudomona spp* en cuatro pacientes cada una, *K. pneumoniae* en tres y *E. coli* y *S. agalactiae* en un paciente cada una.

Tabla 1. Distribución de los casos de meningitis bacteriana según el grupo etáreo y el germen aislado.

Agente etiológico	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
<i>N meningitidis</i>	91.4	96.4
<i>H influenzae</i>	100	96.7
<i>S pneumoniae</i>	100	99.6

Tabla 2. Sensibilidad y especificidad de la coloración de Gram en el LCR de pacientes con meningitis bacteriana.

tres agentes 72% de los casos de MB y 70% de las muertes atribuibles a esta enfermedad. Adicionalmente existe una alta tasa de secuelas necrológicas, las cuales se presentan tanto en niños como en adultos que sobreviven a un episodio de MB (4-6). lo que hace al diagnóstico de esta entidad una de las principales urgencias en el laboratorio de microbiología (7).

Teniendo en cuenta la poca información disponible respecto a la etiología de la MB en nuestro medio, se decidió hacer un estudio local que nos permitiera conocer la causa, los grupos etáreos más afectados y la utilidad de las diferentes pruebas diagnósticas.

Población

Se estudió el líquido cefalorraquídeo (LCR) de pacientes con sospecha clínica de MB, procedentes de los diferentes centros, hospitales y unidades de salud del departamento de Antioquia, adscritos principalmente a la Dirección Seccional de Salud.

Material y métodos

Se realizó un estudio descriptivo, retrospectivo, con recolección de la información entre los años 1990 y 1993. La muestra procesada fue líquido cefalorraquídeo (LCR), el cual se recibió en la sección de bacteriología clínica del Laboratorio Departamental de Salud Pública (LDSP) de Antioquia, centro de referencia de tercer nivel para el sistema de red de laboratorios, especialmente para enfermedades objeto de vigilancia epidemiológica, en este caso MB. A estas muestras se les practicaron Gram, cultivo para piógenos y prueba rápida de detección de antígenos bacterianos por látex. Se elaboró una encuesta que permitió identificar variables de edad, agente etiológico, resultado de prueba de látex y Gram. Además se cruzaron algunas variables como edad y germen aislado. Gram y germen, látex y germen y Gram y látex. Para evaluar la sensibilidad y especificidad de las pruebas de Gram y látex se utilizó como estándar

de oro el cultivo y se aplicaron las siguientes fórmulas:

$$\text{Sensibilidad (S): } \frac{\text{Total de (+) para ambas pruebas}}{\text{Total de (+) por la prueba de oro}}$$

$$\text{Especificidad (E): } \frac{\text{Total de (-) para ambas pruebas}}{\text{Total de (-) por la prueba de oro}}$$

Para el procesamiento y análisis de la información se utilizó el paquete estadístico EPI-INFO 5.0.

Resultados

Etiología y grupos etáreos

Se analizó la información correspondiente a 459 muestras procesadas. Los grupos etáreos más afectados fueron el de uno a cuatro años con 26.4% de los casos y el de cinco a veinte años con 31.4%. El germen más frecuentemente aislado fue *N. meningitidis* grupo B en 15% de los casos, seguido por *H. influenzae* en 6.5%. En 69% (317) de los pacientes no se aisló ningún germen.

La *N. meningitidis* predominó en los grupos de uno a cuatro y cinco a veinte años y el *H. influenzae* en los grupos de treinta días a seis meses y de uno a cuatro años. *S. pneumoniae* se presentó prácticamente en todos los grupos etáreos (Tabla 1).

Laboratorio

Cuando se comparó la sensibilidad y especificidad del Gram con la del cultivo para los tres principales gérmenes se encontró que la sensibilidad más baja fue con *N. meningitidis* que dio 91.4%, los demás mostraron sensibilidades del cien por ciento. En cuanto a las especificidades, todas estuvieron por encima de 96.4% que fue la más baja, para *N. meningitidis* (Tabla 2).

Al comparar la prueba de látex con el cultivo como prueba de

oro se encontró que en *N. meningitidis* su sensibilidad fue de 71.4% con una especificidad de cien por ciento. Para *H. influenzae* la sensibilidad fue de cien por ciento y la especificidad de 99.6% donde el látex para esta bacteria dio reactivo pero se obtuvo crecimiento de *S. pneumoniae*. Para *S. pneumoniae* la sensibilidad fue de 90% y la especificidad de 99.2% (Tabla 3). En la Tabla 4 se puede apreciar que el porcentaje de positividad al comparar el Gram con el látex, fue de 95.2% para el Gram y de 84.2% para el látex.

Discusión

Los resultados obtenidos en este estudio permiten comparar lo que informan otros investigadores. Inicialmente de las 459 muestras de LCR que se procesaron, en 317 (69.0%) no se determinó ningún germen bacteriano, pero en 30.9% se demostró germen causal. Este dato es diferente de lo que informa Feigin (8), quien dice que sólo una de cada 10 punciones lumbares permite demostrar alguna etiología, teniendo la punción lumbar un resultado positivo de sólo 10% para este autor.

La etiología de la MB, en este estudio, muestra a la *N. meningitidis* como la primera causa con un total de 75 pacientes (16.2%). Esta frecuencia cuadruplica a la informada por otros investigadores locales (9), quienes sólo encontraron esta bacteria en 4.2% de los pacientes estudiados; es importante anotar, que el trabajo mencionado sólo incluyó pacientes hasta los 14 años de edad. En los Estados Unidos el meningococo se presenta en 14 a 20% de las meningitis (3). Dentro de los serogrupos de *N. meningitidis*, el

Agente etiológico	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
<i>N. meningitidis</i>	71.4	100
<i>H. influenzae</i>	100	99.6
<i>S. pneumoniae</i>	90	99.2

Tabla 3. Sensibilidad y especificidad de la prueba de látex para la detección de antígenos bacterianos en LCR de pacientes con meningitis bacteriana.

Prueba	Positivos (por la prueba)	Sensibilidad (%)
Total (Positivos por el cultivo)		
Gram	100 / 105	95.2
Látex	51 / 57	84.2

Tabla 4. Porcentaje de positividad de la coloración de gram y el látex en pacientes con meningitis bacteriana y cultivo positivo del LCR

B es el más prevalente y el que se ha mantenido en nuestra región (10). En los Estados Unidos este serogrupo también desplazó ya a otros (11). En cuanto a los grupos de edad de los pacientes que puede afectar esta bacteria, se informa en los niños de cuatro semanas hasta en personas mayores de 50 años, con mayor prevalencia en niños y adultos jóvenes (12).

Nosotros encontramos algo semejante, sin embargo a dos de nuestros pacientes menores de 30 días se les aisló también *N. meningitidis*, asumiendo que se pudieron infectar a través del canal del parto de madres que podían tener cervicitis por este microorganismo (13), dato que no intentamos comprobar.

En este estudio el *H. influenzae* ocupó el segundo puesto dentro de las causas de MB, con treinta casos (6.5%), correspondiente a la quinta parte de lo informado previamente en el estudio local (9), con porcentajes también inferiores a los descritos en los Estados Unidos (45 a 48%). Esta meningitis se presenta en los niños menores de seis años con el mayor pico de incidencia en el grupo de seis a doce meses (14). El *S. pneumoniae* ocupó el tercer lugar en frecuencia con 13 pacientes (2.8%), situación diferente al estudio local (9), en el cual lo informan como la segunda causa con 27.4% de frecuencia. En Estados Unidos representa 13 a 17% de los casos de MB, afectando principalmente a los adultos (3).

Los otros gérmenes no se discutieron debido a su baja frecuencia, excepto el *S. agalactiae* que, aunque sólo se aisló en un paciente menor de 30 días, es importante mencionar que en los

Estados Unidos es la primera causa de MB en este grupo de edad (7).

Entre las pruebas rápidas de laboratorio, la coloración de Gram continúa siendo una técnica rápida, simple, exacta y de bajo costo, que permite detectar las bacterias y las células inflamatorias en el LCR de los pacientes con MB. Se sabe que 75 a 90% de las muestras positivas por cultivo también lo son por la coloración de Gram (7), dando una especificidad cercana a 100% (Marton KI, citado en 12), dato similar al informado en un estudio local (15). Este porcentaje puede disminuir en 40 a 60% cuando los pacientes han recibido terapia antimicrobiana previa a la punción lumbar (7).

Se conoce además que la coloración de Gram es mejor cuando en los líquidos corporales se detectan 10^5 o más unidades formadoras de colonias (U.F.C.)/ml (7,16). Lo anterior fue demostrado específicamente por LaScolea y Dryja (citados en 12), quienes demostraron que 25, 60 y 97% de los LCR con menos de 10^3 , 10^3 a 10^4 y más de 10^5 (U.F.C.)/ml fueron respectivamente positivos por la coloración de Gram. También se sabe que la utilidad del Gram depende de la bacteria. En casos de *S. pneumoniae* ésta se puede observar en 90% de los casos de MB, cuando es *H. influenzae* en 86% y *N. meningitidis* en 75% (7). En este estudio la sensibilidad para cada una de estas bacterias fue superior con una especificidad de 95% (Tabla 2).

Dentro de las técnicas rápidas de detección de antígenos (Ag) bacterianos, existe la aglutinación de partículas de látex, diseñada como una prueba rápida

(menos de 15 min.) y directa para detectar en LCR, Ag bacterianos solubles. Su sensibilidad varía de acuerdo al estuche comercial empleado y al tipo de germen estudiado. Es así como en caso de *H. influenzae* detecta concentraciones mínimas de 0.1 a 5 ng de Ag bacterianos, dando para este germen una sensibilidad de 78 a 100%; en caso de *N. meningitidis* se detectan 50 a 100 ng de Ag por ml, dando una sensibilidad de 50 a 93% y para *S. pneumoniae* la sensibilidad es de 67 a 100% (7,12) datos que compartimos en nuestros resultados (Tabla 3) y que parcialmente se pueden comparar con lo informado en el trabajo de Otero R. y col (15). Cuando ellos compararon el Gram con el látex, encontraron una positividad para el primero de 78.9% y para el segundo de 63%. Aunque nuestros porcentajes fueron superiores se conservó también una mayor sensibilidad para la coloración de Gram (Tabla 4).

Conclusiones

Es importante recordar que el procesamiento del LCR es uno de los pocos procedimientos en la microbiología clínica que se debe hacer inmediatamente por la gravedad del proceso. Teniendo en cuenta que las técnicas conocidas como rápidas (Gram y detección de Ag) tienen en general una buena sensibilidad, se deben informar inmediatamente al médico tratante, ya que le permitirá iniciar un tratamiento adecuado, mientras se obtiene el resultado y la identificación final del microorganismo cultivado. Además de la urgencia clínica, el LCR es un líquido hipotónico, por lo tanto los neutrófilos se pueden lisar y el conteo inicial

puede disminuir en 32% después de la primera hora de tomado y en 50% después de las dos horas (17). También es conocido que *N. meningitidis*, *S. pneumoniae* y *H. influenzae* son organismos "exigentes" que no pueden sobrevivir por largo tiempo a variaciones de temperatura, lo que no permite refrigerar el LCR y si no se ha de procesar inmediatamente, se debe conservar a temperatura ambiente o idealmente a 37°C (Kasten BL, citado en 7).

Se recomienda a los clínicos y a los laboratorios, no emplear las pruebas de Ag en reemplazo del Gram y el cultivo, ya que las pruebas que detectan Ag son un complemento y no un sustituto; su resultado cuando concuerda con el Gram le da mayor validez al diagnóstico microscópico. Su mayor utilidad reside en los casos en los cuales el paciente ha recibido terapia con antibióticos que pudiera negativizar los estudios microbiológicos clásicos (Gram y cultivo). La prueba de detección de Ag por látex puede seguir siendo positiva aun en ausencia de bacterias suficientes para ser detectadas por métodos tradicionales (7,12,18).

Summary

Objectives: to assess the sensitivity and specificity of Gram and latex studies compared to that of cultures in cerebrospinal fluid (CSF) of patients in whom bacterial meningitis is suspected this study was designed.

Methods: this is a retrospective, descriptive study in which in-

formation from years 1990-93 is compiled. Interviews were designed to analyze age, isolated bacteria, Gram and latex and these against cultures. We used the analytical system EPI-INFO 5.0.

Results: 459 CSF were studied. In 69% of the patients a bacterial etiology was not found, *N. meningitidis* was the most prevalent isolate in 16.2%, followed by *H. influenzae* in 6.5% of the cases and *S. pneumoniae* in 2.8% of them. The groups more affected were those between five and twenty years of age (144 patients) and one to four years (120 patients). The sensitivity of the Gram was better than that of latex for *N. meningitidis*, but as good for the other organisms.

Conclusions: 1) The Gram stain should be used as an unexpensive and quick method for diagnosis of bacterial meningitis as long as done by an experienced observer. 2) Latex is useful whenever the Gram is not helpful or if the patient has been taking antibiotics before spinal tap.

Referencias

1. **Tunker AR, Sched WM.** Pathogenesis and Pathophysiology of Bacterial Meningitis. *Clin Microb Rev* 1993; **6**: 118-136.
2. **Bryan JP, De Silva HR, Tavares A, Roche H, Sched WM.** Etiology and mortality of bacterial meningitis in Northeastern Brazil. *Rev Infec Dis* 1990; **12**: 128-135.
3. **Schlech WF, Ward III JI, Band JD, Hightower A, Fraser DW, Broome CV.** Bacterial meningitis in the United States. 1978 through 1981. The national bacterial meningitis surveillance study. *JAMA* 1985; **253**: 1749-1754.
4. **Dodge PR, Davis H, Feigin R, Holmes SJ, Kaplan JL, Jubelirer DP, Strechenber BW, Hirsh SK.** Prospective evaluation of hearing impairment as a sequelae of acute bacterial meningitis. *N Engl J Med* 1984; **311**: 869-874.
5. **Pomeroy SL, Holmes SJ, Dodge PR, Feigin RD.** Seizures and other neurologic sequelae of bacterial meningitis in children. *N Engl J Med* 1990; **323**: 1651-1657.
6. **Taylor HG, Mills EL, Ciampi A, et al.** The sequelae of *Haemophilus influenzae* meningitis in schoolage children. *N Engl J Med* 1990; **323**: 1657-1663.
7. **Gray LD, Fedorko DP.** Laboratory diagnosis of bacterial meningitis. *Clin Microb Rev* 1992; **5**: 130-145.
8. **Feigin RD, McCracken GH, Klein JO.** Diagnosis and management of meningitis. *Pediatr Infect Dis J* 1992; **9**: 785-814.
9. **Otero R, Bruges J, Lux AM, Mejía J, Agudelo N, et al.** Meningitis bacteriana aguda en niños. Estudio clínico y bacteriológico en el Hospital Infantil de Medellín. *Iatreia* 1988; **1**: 699-76.
10. **Arroyave ML, Aguirre C, Echeverri ML, Jaramillo E, Maya LE, Montealegre NA, et al.** Enfermedad meningocócica. Conceptos y comportamiento en Antioquia. *Bol Epidem Ant* 1989; **1-2**: 11-27.
11. Center for Disease and Control - Laboratory - Acquired Meningococemia-California and Massachusetts. *MMWR* 1991; **40**: 46-47.
12. **Tunkel AR, Seheld WM.** Acute meningitis. In: Mandell, Douglas and Bennetts. Principles and practice of infectious diseases. Fourth ed. N.Y.: Churchill-Livingstone, 1995: 831-865.
13. **Conde G, Calderón E.** Urogenital infection due to meningococcus in men and women. *Sex Transm Dis* 1991; **18**: 72-75.
14. **Broome CV.** Epidemiology of *Haemophilus influenzae* type B infection in the United States. *pediatr Infec Dis* 1987; **6**: 779-782.
15. **Otero R, Hernández ML, Vallejo WE, et al.** Aglutinación de partículas de látex vs. contraelectroforesis en meningitis bacteriana aguda. *Iatreia* 1991; **4**: 6-10.
16. **Isenberg HD, Washington JA, Doern GV, and Amsterdam.** In: Balows, Hausler WJ, Herrmann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ eds. Manual of clinical microbiology, 5th ed. Washington D.C.: American Society for Microbiology, 1991: 15-28.
17. **Steele RW, Marmer DJ, O'Brien MD, Tyson ST, Steele CR.** Leukocyte survival in cerebrospinal fluid. *J Clin Microbiol* 1986; **23**: 965-966.
18. **Ray CG, Smith JA, Wasipauskas BL, Zabransky R.** In: Smith JA, ed. Cumitech 14A laboratory diagnosis of central nervous system infections, coordinating American Society for Microbiology Washington D.C.: 1993.