

Diagnóstico microbiológico de las meningitis bacterianas en Pediatría

JA Lepe Jiménez, B Alcalá Galicia, JA Vázquez Moreno

Laboratorio de Microbiología. Hospital General de Riotinto.

Laboratorio de Referencia de Neisserias. Instituto de Salud Carlos III

El diagnóstico microbiológico de la meningitis bacteriana en la edad pediátrica está enfocado sobre todo a la investigación de *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*¹. Desde la introducción de la vacunación sistemática frente a *H. influenzae* tipo b, la enfermedad invasiva por este último se ha convertido en excepcional, a diferencia de lo ocurrido en el caso de *N. meningitidis* donde la vacunación contra el serogrupo C ha hecho que la mayoría de los casos se deban al serogrupo B. Por lo tanto, parece que el mayor esfuerzo diagnóstico debe ir encaminado al estudio de la infección por *Neisseria meningitidis* y *Streptococcus pneumoniae*.

A la hora del diagnóstico microbiológico de estos procesos es mejor considerar a estas infecciones como un *continuum* y no circunscribirlas exclusivamente a las meninges; es decir, enmarcarlas dentro del concepto más amplio de enfermedad invasiva.

En base a lo anterior el diagnóstico microbiológico no contemplaría el estudio del LCR en exclusiva, sino también el de la sangre y el de cualquier otro foco parameningeo que pudiera estar involucrado (sobre todo en la enfermedad neumocócica).

Desde el punto de vista bacteriológico el diagnóstico de la meningitis debe basarse en:

1. Investigación de antígenos capsulares solubles en el LCR. Se dispone de varios sistemas para la detección directa en el LCR de antígenos del polisacárido capsular soluble de *Strep. pneumoniae*, *N. meningitidis* A, B, C, Y, W135 y *H. influenzae*. Estos sistemas tienen una sensibilidad alta, 80-90% y una especificidad adecuada si se usan junto a la tinción de Gram y/o el recuento de leucocitos en el LCR, y a menudo proveen un diagnóstico rápido y presun-

tivo en el cual basar el tratamiento antibiótico, siendo de gran utilidad en los casos de meningitis bacterianas parcialmente tratadas donde se puede obtener de forma rápida el agente etiológico, iniciándose el tratamiento antibiótico específico. Por otro lado existen pruebas inmunocromatográficas para la investigación de *Streptococcus pneumoniae* en LCR u orina altamente sensibles y específicas, aunque el valor de la antigenuria en niños es controvertido por la alta incidencia de colonización nasofaríngea². Hay que resaltar que este tipo de pruebas permanecen positivas después de un tratamiento apropiado.

2. Los métodos clásicos de tinción de Gram y cultivo tanto del LCR como hemocultivos en los medios habituales siguen siendo el método de referencia¹. Además, la tinción de Gram del LCR permite realizar un diagnóstico etiológico de forma preliminar en apenas una hora de su obtención; su sensibilidad es de un 60-90% dependiendo de la densidad del inóculo. Los cultivos proporcionan un diagnóstico etiológico definitivo junto al antibiograma en 48-72 horas, además de permitir el serotipado, serotipado y serosubtipado de los aislados que nos van a ayudar en el caso de la enfermedad meningocócica a detectar brotes de la enfermedad, y en el caso de la enfermedad neumocócica, donde los brotes son anecdóticos, a conocer las cepas circulantes y su cobertura con los preparados vacunales disponibles. Pero la sensibilidad de los cultivos es un *handicap* ya que obtenemos positividad en el 80% de los casos; además, la positividad disminuye dramáticamente con la antibioterapia previa. También habría que contemplar la realización de hemocultivos, ya que en la enfermedad invasiva, tanto meningocócica como neumocócica, pueden resultar positivos.

3. Técnicas moleculares en LCR y sangre. En los casos de sospecha clínica de meningitis bacteriana con cultivos negativos, la instauración de antibioterapia es obligatoria, así como en el caso de *Neisseria meningitidis* a la realización de quimioprofilaxis en convivientes. Debido a estas circunstancias, en la última década se ha utilizado cada vez más el diagnóstico molecular de las meningitis. El diagnóstico molecular se puede enfocar desde dos puntos de vista: como un método más en el diagnóstico de urgencias, lo que implica microbiólogos de guardia de forma permanente, cosa que no siempre ocurre en nuestro medio, y, sobre todo, para el estudio de casos sospechosos de meningitis meningocócica o neumocócica cuyos cultivos son negativos. Los métodos moleculares son variados, pero todos basados en amplificar ADN bacteriano mediante la reacción de la cadena de polimerasa (PCR)³. En el caso de *Neisseria meningitidis* la amplificación del fragmento de inserción IS1660 ha sido sustituida por la amplificación del gen *ctr* de la cápsula (menos afectado por las especies contaminantes) y en caso de positividad, a la posterior amplificación del gen *srd* para determinación del serogrupo. En el caso de neumococo se amplía el gen de la neumolisina. En el último año se están imponiendo técnicas de PCR a tiempo real (más rápidas) y de PCR multiplex que permiten amplificar las tres especies más comunes en una sola prueba⁴.

Otra vertiente del diagnóstico molecular lo constituyen los estudios de epidemiología que consisten, en el caso de *N. meningitidis* en la realización de estudios de electroforesis en campo pulsado (PFGE) para el estudio interno de los brotes (muy sensible a mutaciones) y de técnicas de tipado molecular por *Multilocus Sequence Type* (MLST) que permite el trazado preciso de los procesos de dispersión de líneas clonales, asociadas a altos niveles de virulencia, el *epidemic type* (ET) permite trazar perfectamente el desplazamiento geográfico y temporal de los aislados. Aunque en el caso de *S. pneumoniae* no se habla de líneas hipervirulentas, si se pueden estudiar por MLST clones asociados a enfermedad invasiva grave y sobre todo clones asociados con resistencia a penicilina.

En el caso del brote epidémico de enfermedad invasiva por *Neisseria meningitidis* B ocurrido en Nerva (Huelva) durante el año 2003 y 2004, el estudio microbiológico se planteó en las dos vertientes

antes reseñadas, la clínica y la epidemiológica. La microbiología clínica de los aislamientos de sangre y/o LCR no se limitó a la identificación de los aislamientos y serogrupo, por otro lado suficientes para el manejo clínico de los enfermos, sino que implicó la realización de técnicas de tipado y subtipado con la intención de determinar si todos los aislamientos eran iguales. Además se aplicaron técnicas moleculares: campo pulsado (PFGE), tipado molecular (MLST) y secuenciación del gen de la porina A, con la misma finalidad. En base a todo lo anterior se determinó que todos los casos estaban producidos por una cepa hipervirulenta idéntica: *Neisseria meningitidis* B:4:P1,15 del complejo clonal ET 5 con patrón PT1 por campo pulsado; además, se constató que dicha cepa no circulaba por otros lugares de España. Paralelamente se realizó un estudio de portadores sanos con intención de conocer la circulación de la cepa epidémica en la población, observándose que el 10,45% de los aislamientos B de los portadores eran del mismo tipo epidémico. Este porcentaje era alto ya que en los brotes la circulación de la cepa epidémica es muy bajo. Esto obligó a realizar una intervención mediante quimioprofilaxis masiva con rifampicina en la población que redujo la circulación de la cepa al 5%. A partir de entonces sólo hubo un caso de la cepa epidémica, aunque sí se observaron casos esporádicos por el grupo C y W135 de más difícil explicación.

BIBLIOGRAFÍA

1. Gray LD, Fedorko DP. Laboratory diagnosis of bacterial meningitis. *Clin Microbiol Rev* 1992;5:130-145.
2. Editorial. Optimising the investigation of meningococcal disease. *BMJ* 1997;315:757-758.
3. Saravolatz LD, Manzor O, VanderVelde N, Pawlak J, Belian B. Broad-range bacterial polymerase chain reaction for early detection of bacterial meningitis. *Clin Infect Dis* 2003;36:40-45.
4. Smith K, Diggle MA, Clarke SC. Automation of a fluorescence-based multiplex PCR for the laboratory confirmation of common bacterial pathogens. *J Med Microbiol* 2004;53:115-117.
5. Marcos M, Martínez E, Almela M, Mensa J, Jiménez de Anta M. New rapid antigen test for diagnosis of pneumococcal meningitis. *Lancet* 2001;357:1499-1500.