

Rev. Chil. Pediatr. 59 (2); 88-93, 1988

Meningitis bacteriana: Identificación del agente causal por aglutinación de látex

Dr. Roberto Bustos L.¹; Dra. M. Teresa Broussain B.²; T.M. Angela Tejero P.²;
Dr. Richard Ríos R.¹; Dr. Jaime Jara S.³

Acute bacterial meningitis: etiologic diagnosis by latex agglutination

Findings at bacterial cultures and CSF latex agglutination test in 48 children with acute bacterial meningitis are described. Bacterial isolates were obtained from CSF cultures in 31/48 cases (64.6%). Latex agglutination tests were performed in 44/48 patients and gave positive results in 32/44 (72.7%), allowing identification of causative agents in 8 patients whose cultures were negative. *Haemophilus influenzae* was the most prevalent agent (61.5%) with preference for infants aged three to twelve months. Antibiotic sensitivity was tested by minimal inhibitory concentrations (MIN). Three strains of *H. influenzae* were simultaneously resistant to both ampicillin and chloramphenicol, whereas all tested strains were susceptible to cefotaxime. Other identified bacteriae were *Streptococcus pneumoniae* (20.5%) and *Neisseria meningitidis* (12.8%).

(Key words: meningitis, acute, bacterial, etiologic diagnosis, latex agglutination test).

La identificación de los diferentes agentes causales de meningitis bacteriana aguda (MBA), es de importancia fundamental por sus implica-

ciones terapéuticas, pronósticas y epidemiológicas. La mayor parte de los casos en lactantes y preescolares, son provocados por *Haemophilus influenzae*. *Streptococcus pneumoniae* o *Neisseria meningitidis*, correspondiendo a *H. influenzae* tipo b, un rol preponderante.¹⁻¹¹

El diagnóstico etiológico de certeza se obtiene a través del cultivo bacteriano, que además permite el estudio de susceptibilidad a los antimicrobianos, lo cual es particularmente necesario si

1. Instituto de Pediatría, Universidad Austral de Chile.

2. Instituto Microbiología Clínica, Universidad Austral de Chile.

3. Servicio de Pediatría, Hospital de Valdivia.

Proyecto S-84-16 DID, Universidad Austral de Chile.

consideramos la aparición en nuestro país de cepas de *H. influenzae* resistentes a ampicilina.¹²⁻¹⁴

Uno de los factores que disminuye el rendimiento de la bacteriología, es el tratamiento antibiótico previo, antecedente que observamos con frecuencia en nuestros pacientes, que en su mayoría proceden del área rural. El desarrollo de técnicas de diagnóstico inmunológico basadas en la detección de antígenos bacterianos en el líquido cefalorraquídeo (LCR), que no requieren necesariamente de la presencia de bacterias viables, ha permitido una orientación etiológica pocos minutos después de ingresado el paciente, posibilitando además la identificación de gérmenes en algunos casos de cultivo negativo. Una de estas pruebas, consistente en la aglutinación de partículas de látex sensibilizadas,¹⁵⁻²⁴ se ha demostrado útil como examen complementario de diagnóstico, con las ventajas de ser de fácil ejecución e instalación.

Los propósitos de este estudio fueron obtener una visión actualizada de las diferentes etiologías de meningitis bacteriana aguda en nuestra área, analizar su susceptibilidad a los antimicrobianos y evaluar la utilidad de la prueba de aglutinación de látex como examen auxiliar.

MATERIAL Y METODO

Se estudiaron, en forma prospectiva, 48 pacientes hospitalizados con diagnóstico de meningitis bacteriana aguda, en la unidad de infecciosos del servicio de pediatría del Hospital de Valdivia, entre julio de 1984 y julio de 1987. El diagnóstico se basó en las manifestaciones clínicas, con o sin signos meníngeos y las siguientes alteraciones del examen citoquímico del LCR: glucosa inferior a 40 mg% celularidad superior a 50 por mm³, y predominio de polinucleares. Se descartaron los casos que plantearan dudas entre etiología bacteriana o viral.

Las 48 muestras de LCR, obtenidas al ingreso, se sometieron a estudio citoquímico, tinción de Gram y cultivo; en 44 se realizó la prueba de aglutinación de látex. El cultivo se realizó en agar sangre con satelitismo, agar chocolate y caldo tioglicolato, incubándose hasta 5 días, en atmósfera de 5 a 10% de CO₂.

El estudio de susceptibilidad antimicrobiana en todas las cepas de *Haemophilus influenzae* aisladas, se realizó mediante antibiograma por difusión, para ampicilina, cloramfenicol y cefotaxima y en 7 cepas se investigó además, ceftriaxona y cefuroxima. Se midió concentración inhibitoria mínima (CIM) en 13 cepas de *H. influenzae*, para ampicilina, cloramfenicol y cefotaxima. En 3 cepas de *Neisseria meningitidis* y 3 de *Streptococcus pneumoniae*, se determinó CIM para penicilina, cloramfenicol, cefotaxima y ampicilina.

La determinación de CIM se realizó utilizando el método de Robson y Salit,²⁵ efectuando diluciones

seriadas entre 256 y 0,03 µg/mL para penicilina, 64 y 0,25 µg/mL para cloramfenicol, entre 32 y 0,03 µg/mL para cefotaxima y entre 256 y 0,03 µg/mL para ampicilina.

La determinación de betalactamasas se realizó por el método de la cefalosporina cromógena.²⁹

Para la prueba de aglutinación de látex se utilizó el "Slidex Meningite Kit" (Bio Merieux) que contiene partículas sensibilizadas a antígenos capsulares de *H. influenzae* tipo b, *S. pneumoniae* (83 serotipos) y *N. meningitidis* grupo A y C. El umbral de sensibilidad para *H. influenzae* tipo b y *N. meningitidis* A y C es de 0,025 µg/mL y para *St. pneumoniae* 0,1 - 0,5 µg/mL. La prueba fue ejecutada por el mismo operador, y sus resultados, de tipo cualitativo, se registraron en una escala de 4 cruces, de acuerdo a pauta de Newman.¹⁹

RESULTADOS

En el período de estudio señalado, ingresaron 48 pacientes con diagnóstico de meningitis bacteriana aguda, 32 de sexo masculino (66,6%) y 16 de sexo femenino (33,3%). Las edades extremas fueron 17 días y 8 años; 34 pacientes eran menores de un año (70,8%), 6 tenían entre 1 y 2 años y 8 eran mayores de 2 años; 35 pacientes eran eutróficos, 9 sufrían desnutrición calórica proteica grado I (según Sempé), 2 desnutrición grado II, y en 2 no se consignó estado de la nutrición al ingresar. Sólo 25% de los pacientes provenían de la ciudad de Valdivia, el resto de localidades distantes.

Los cultivos de LCR fueron positivos en 31 casos (64,6%) (tabla 1). La tinción de Gram fue concordante con el cultivo bacteriano en 93,5% (29/31), y fue negativa en dos casos de cultivos positivos para *N. meningitidis* y *Staphylococcus aureus* respectivamente. Los hemocultivos, realizados en 33 pacientes, fueron positivos en sólo 2 casos (6%), aislándose *N. meningitidis* en uno y *H. Influenzae* en el otro.

La prueba de aglutinación de látex fue positiva en 32 de 44 pacientes (72,7%). Las determi-

Tabla 1.
Cultivo y tinción de Gram en 31 casos de meningitis bacteriana aguda

Germen	Nº	%	Gram
<i>Haemophilus influenzae</i>	19	61,3	19
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6	19,3	6
<i>Neisseria meningitidis</i>	4	12,9	3
<i>Streptococcus</i> grupo B	1	3,2	1
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	3,2	-
Total	31		29 (93,5%)

naciones positivas correspondieron a *H. influenzae* tipo b: n = 22; *St. pneumoniae*: n = 7 y *N. meningitidis* grupo C: n = 3. No se registraron falsos positivos. Se constataron 2 reacciones cruzadas débiles: una entre *H. influenzae* (2+) y *N. meningitidis* grupo C (+) y otra entre *H. influenzae* tipo b (3+) y *N. meningitidis* A y C (+) tardía. En ambos casos el cultivo confirmó la presencia de *H. influenzae*.

En la tabla 2 se detallan los resultados de cultivo, Gram y látex, para los principales gérmenes encontrados.

El *H. influenzae*, se identificó por cultivo y látex, con tinción de Gram concordante en 17 pacientes. En otros 5 casos cuyo cultivo fue negativo, la identificación se logró con prueba de látex y tinción de Gram, 4 de ellos registraban antecedentes de tratamiento antibiótico previo. En 2 pacientes con cultivo LCR positivo a *Haemophilus*, la prueba de látex fue negativa. En base a estos antecedentes, la sensibilidad observada para esta prueba fue de 89,5% (17/19). La tinción de Gram fue concordante, en el 100% con las determinaciones de látex positivas.

St. pneumoniae, se diagnosticó en 5 casos por cultivo y látex. En 2 pacientes, la identificación se logró sólo con prueba de látex y Gram, ambos con antecedentes de tratamiento previo con penicilina intramuscular por 2 días. Esta prueba (látex) se omitió en un caso, cuyo cultivo fue

positivo. No se detectaron reacciones cruzadas.

Para *N. meningitidis* la prueba de látex fue positiva en 3 pacientes, todas del grupo C, en uno de los cuales, el cultivo correspondiente fue negativo (tratado con penicilina, cloxacilina y gentamicina i.m. un día antes). Sólo en una de las 4 cepas cultivadas se hizo serotipificación, correspondiendo ésta al grupo C, en concordancia con látex. En un caso de cultivo positivo la prueba de látex fue negativa.

Para otros gérmenes cultivados: *Streptococcus* grupo B en un lactante de un mes 14 días de edad y *Staphylococcus aureus* en un recién nacido de 17 días, la prueba de látex fue negativa en ambos. En conjunto, esta reacción permitió orientación etiológica en 8 casos cuyos cultivos fueron negativos, con correlación 100% con la tinción de Gram. De esta forma el diagnóstico etiológico se alcanzó en 39 casos (81,2%) cuya distribución por grupos etarios se detalla en la tabla 3.

En conjunto los cultivos de LCR fueron negativos en 17 pacientes (35,4%), de los cuales 15 habían recibido tratamiento antibiótico previo. La prueba del látex realizada en 14 de estos casos, fue positiva en 8 y negativa en 6, y la tinción de Gram fue negativa sólo en 6 pacientes de este grupo.

La susceptibilidad a los antimicrobianos se determinó mediante CIM para 13 cepas de *H. influenzae* para ampicilina, cloramfenicol y cefotaxima (tabla 4). Se identificaron 3 cepas resistentes simultáneamente a ampicilina y cloramfenicol, todas productoras de betalactamasas. Cefotaxima en cambio fue activa sobre todas las cepas estudiadas (tabla 5). El estudio de susceptibilidad por técnica de difusión en placa, fue concordante con los hallazgos obtenidos por técnica de dilución (CIM), comprobándose además susceptibilidad de las 7 cepas para las cuales se evaluó cefuroxima y ceftriaxona.

Tabla 2.
Resultados de Gram, cultivo y pruebas de látex

	H. Influenzae	St. Pneumoniae	N. Meningitidis
Gram, Cultivo y Látex (+)	17	5	2
Gram y Látex (+) Cultivo (-)	5	2	1
Gram y Cultivo (+) Látex (-)	2	-	1
Gram y Cultivo (+) (#)	-	1	-
Sólo Cultivo (+) (#)	-	-	1
Total gérmenes identificados	24	8	5

(#): Látex no realizado.

Tabla 3.
Etiología meningitis bacteriana aguda según grupo etario en 39 pacientes

Germen	< 3 meses (N=5 12.8%)	3-6 meses (N=12 30.8%)	7-12 meses (N=11 28.2%)	13-24 meses (N=4 10.2%)	> 24 meses (N=7 18%)	Total	%
<i>H. influenzae</i>	-	10	9	2	3	24	61,54
<i>St. pneumoniae</i>	2	2	1	2	1	8	20,51
<i>N. meningitidis</i>	1	-	1	-	3	5	12,82
<i>St. grupo B</i>	1	-	-	-	-	1	2,56
<i>Staph. aureus</i>	1	-	-	-	-	1	2,56

Tabla 4.
Susceptibilidad in vitro (CIM en $\mu\text{g/ml}$)
de 13 cepas de *H. Influenzae* frente
a 3 antibióticos

Antibiótico	50%	CIM $\mu\text{g/ml}$ 90%	Rango
Ampicilina	0,25	≥ 256	$\leq 0,03$ - ≥ 256
Cloramfenicol	1	16	0,5 - > 64
Cefotaxima	$\leq 0,03$	0,5	$\leq 0,03$ - 1

Nivel de susceptibilidad²³: ampicilina ≤ 2 ,
cloramfenicol ≤ 8 , cefotaxima ≤ 8 .
CIM 50% y 90% Inhibición del 50% y 90%
de las cepas respectivamente.

Tabla 5.
CIM ($\mu\text{g/ml}$) de 3 cepas de
H. Influenzae Multiresistentes

	Ampicilina	Cloramfenicol	Cefotaxima
CIPA 1	≥ 256	≥ 64	1
CIPA 2	≥ 256	16	0,12
CIPA 3	≥ 256	16	$\leq 0,03$

Las 3 cepas de *N. meningitidis*, en las que se determinó CIM para cefotaxima, penicilina, cloramfenicol y ampicilina, fueron altamente susceptibles, igual que 3 cepas de *St. pneumoniae* frente a penicilina, cefotaxima y cloramfenicol.

COMENTARIO

En 39 de 48 pacientes estudiados se pudo precisar la etiología por cultivo por prueba de látex, concordante con la tinción Gram. *H. Influenzae* fue el agente etiológico más frecuente. La incidencia fue notoriamente inferior para *St. pneumoniae* y *N. meningitidis*. Cabe destacar que *H. influenzae* no se identificó en menores de 3 meses de edad, pero en el grupo etario entre 3 a 12 meses, con etiología demostrada, este germen fue responsable de la gran mayoría de los casos.

La escasa positividad de los hemocultivos (6%) puede atribuirse presumiblemente a problemas de técnica.

La prueba de aglutinación de látex fue positiva en una elevada proporción (72,7%) de las determinaciones. Si se excluyen los 2 pacientes con cultivo de LCR a *Streptococcus grupo B* y *Staphylococcus aureus*, para los cuales la prueba fue negativa, su rendimiento aumenta. Por otro lado la prueba fue negativa en 2 pacientes de cuyo LCR se aislaron *H. influenzae* y *N. menin-*

gitidis respectivamente. Dado que no fue posible serotipificar esas cepas, no podemos asegurar si ese resultado correspondió a falso negativo o a serotipos de *H. influenzae* diferente al b,²⁶ y de *N. meningitidis* distintos a grupos A y C; sólo se comprobaron 2 reacciones cruzadas débiles.

La sensibilidad del método de látex, para *H. influenzae* fue muy alta: consideramos que es un examen complementario de gran utilidad por ser sencillo, de costo razonable y no requerir equipamiento complejo. Obviamente no reemplaza a otros estudios microbiológicos, pero permite una orientación etiológica rápida inicial, lo cual es importante desde el punto de vista terapéutico, pronóstico y epidemiológico.

La tinción de Gram mostró alto rendimiento y concordancia con los cultivos de LCR y reacciones de látex. En 2 lactantes en los que el único examen positivo fue la tinción de Gram negativa con bacilos pleomórficos, la meningitis se asoció clínicamente a celulitis facial, situación altamente sugerente de infección con *H. influenzae*.^{2,3,5,7,9} En otros casos la tinción de Gram reveló diplococcus Gram negativos intra y extracelulares, sugerentes de *N. meningitidis*.

El estudio de susceptibilidad antimicrobiana detectó 3 cepas de *H. influenzae* resistentes simultáneamente a ampicilina y cloramfenicol. Dos de estos pacientes, de 3 y 5 meses de edad, fueron tratados con estos antibióticos y fallecieron antes de recibir el informe de sensibilidad. El tercero respondió satisfactoriamente a cefotaxima. La resistencia a ampicilina de estas 3 cepas, de un total de 19 cultivadas da una frecuencia del fenómeno de 15,7% en esta serie. Esta situación es agravada por el hecho de detectarse resistencia simultánea a cloramfenicol,^{13,27} y por tanto no se puede considerar a este antibiótico como alternativa confiable de tratamiento, mientras no se disponga del informe de susceptibilidad correspondiente.^{12,13}

Todas las cepas estudiadas fueron altamente susceptibles a cefotaxima como también a cefuroxima y ceftriaxona, por el método de difusión.

El panorama etiológico encontrado en este estudio, confirma la situación descrita a nivel internacional y en otros centros nacionales, respecto al rol preponderante que *Haemophilus influenzae* tipo b tiene actualmente en la meningitis bacteriana aguda en el niño, y enfatiza la necesidad de contar con una vacuna específica, que proporcione protección efectiva a los grupos etarios de mayor riesgo.

RESUMEN

Se presentan los hallazgos etiológicos determinados mediante bacteriología y prueba de aglutinación de látex, en 48 pacientes con meningitis bacteriana aguda, reunidos en un período de 3 años (julio 84 - julio 87). Los cultivos de LCR dieron resultados positivos en 31 pacientes (64,6%), y la prueba de aglutinación de látex, realizada en 44 casos, dió una positividad global de 72,7%, permitiendo aumentar el diagnóstico etiológico en 8 casos adicionales. *H. influenzae* fue el germen causal más frecuente: 61,5% con una mayor concentración de casos, en los lactantes menores, entre 3 y 12 meses de edad. *St. pneumoniae* se identificó en 20,5% de los casos y *N. meningitidis*: 12,8%. La tinción de Gram tuvo un alto rendimiento (83,3%) y mostró una estrecha correlación con la prueba de látex. El estudio de susceptibilidad a antimicrobianos, permitió detectar 3 cepas de *H. influenzae* con resistencia simultánea a ampicilina y cloramfenicol y un 100% de susceptibilidad a cefotaxima. No se verificó resistencia para el resto de las cepas de *Haemophilus*, a través de estudio de susceptibilidad por difusión en placa, como tampoco para cepas de *St. pneumoniae* y *N. meningitidis*.

REFERENCIAS

1. Bolan G., Barza M.: Acute bacterial meningitis in children and adults. A perspective. *Med Clin North Am*, 1985; 69: 231-241.
2. Lein J., Feigin R., McCracken G. Jr.: Diagnosis and management of meningitis. *Pediatrics* (Supplement Part. 2) 1986; 78: 959-982.
3. Dajani A., Asmar B., Thirumoorthi M.C.: Systemic Haemophilus Influenzae disease: An overview. *J Pediatr* 1979; 94: 335-364.
4. Herrera P., Prenzel I., Arribas R., Rolón R., Topelberg S.: Haemophilus Influenzae en meningitis bacteriana aguda. *Pediatría* 1975; 18: 89-91.
5. Herrera P., Prenzel I., Topelberg S.: Infecciones graves por Haemophilus Influenzae en el niño. Aspectos generales y aspecto clínico. *Rev Med Chile* 1983; 111: 808-814.
6. Spread of Haemophilus Influenzae Type b. *Lancet*. 1981; 1: 649.
7. Band J., Fraser D., Ajello G.: Prevention of Haemophilus Influenzae type b disease. *JAMA*. 1984; 251: 2381-2386.
8. Schleich W., Ward J., Band J., Hightower A., Fraser D., Broome C.: Bacterial Meningitis in the United States, 1978 Through 1981. *JAMA*. 1985; 253: 1749-1754.
9. Ward J., Lum M., Halla B., Silimperi D., Bender T.: Invasive Haemophilus Influenzae type b disease in Alaska: Background Epidemiology for a vaccine efficacy trial. *J Infect Dis* 1986; 153: 17-26.
10. Juliet C., Rodriguez G., Marti A., Burgos O.: Meningitis bacteriana en el niño: Experiencia con 441 casos. *Rev Med Chile* 1983; 111: 690-698.
11. Smith H.: Chemoprophylaxis of Meningitis. *Arch Dis Child* 1986; 61: 4-5.
12. Reyes L., Prado V., Siri M.T.: Perfil de sensibilidad a los antimicrobianos de Haemophilus Influenzae aislados de patología infantil. *Rev Chil Pediatr* 1984; 55: 54-56.
13. Reyes L., Prado V.: Tres años de vigilancia de la sensibilidad in vitro de Haemophilus Influenzae causante de infecciones pediátricas. *Rev Chil Pediatr* 1986; 57: 128-133.
14. Lederman W., Cohen J., Siri M.T., Banfi A.: Prevalencia de Haemophilus productores de betalactamasa en infecciones pediátricas. *Rev Chil Pediatr* 1983; 54: 166.
15. Whittle H.C., Tugwell P., Egler L.J., Greenwood B.M.: Rapid bacteriological diagnosis of pyogenic meningitis by latex agglutination. *Lancet* 1974; 2: 619-621.
16. Severin W.P.J.: Latex agglutination in the diagnosis of meningococcal meningitis. *J Clin Pathol* 1972; 25: 1079-1082.
17. Ward J., Siber G., Scheifele D., Smith D.: Rapid diagnosis of Haemophilus Influenzae type b infections by latex particle agglutination and counter-immunoelectrophoresis. *J Pediatr* 1978; 93: 37-42.
18. Bortolussi R., Wort A., Casey S.: The latex agglutination test versus counter-immunoelectrophoresis for rapid diagnosis of bacterial meningitis. *Can Med Assoc J* 1982; 127: 489-493.
19. Newman R., Stevens R., Gaafar H.: Latex agglutination test for the diagnosis of Haemophilus Influenzae meningitis. *J Lab Clin Med* 1970; 76: 107-113.
20. Kaplan S.: Antigen detection in cerebrospinal Fluid-Procs and Cons. *Am J Med* 1983; 109-118.
21. Dirks S., Zanen H.C.: Latex agglutination, counter-immunoelectrophoresis and protein A co-agglutination in diagnosis of bacterial meningitis. *J Clin Pathol* 1978; 31: 1167-1171.
22. Commercial Kits for bacteriological diagnosis of meningitis. *Lancet* 1984; 2: 500-501.
23. Del Valle M., Hanning S., Vial P., Montiel F., Cerda M.: Identificación rápida del agente etiológico mediante prueba de aglutinación de látex en meningitis bacteriana aguda. *Rev Chil Pediatr* 1985; 56: 159-161.
24. Misraji A., Villarreal J., Del Canto, et al: Experiencia preliminar con la prueba de aglutinación de látex en la detección precoz de Haemophilus Influenzae tipo b en meningitis aguda bacteriana. *Rev Chil Infect* 1985; 2: 61-64.
25. Robson H.G., Saitt I.E.: Susceptibility of Neisseria Gonorrhoeae to seven antibiotics in vitro. *Can Med Assoc J* 1972; 107: 959-962.
26. Gratten M., Barker J., Shann F., et al: Non type b Haemophilus Influenzae meningitis. *Lancet* 1985; 1: 1343-1344.
27. Campos J., García-Tornel S., Gairi J., Fabregues I.: Multiply resistant Haemophilus Influenzae type b causing meningitis: Comparative clinical and laboratory study. *J Pediatr* 1986; 108: 897-902.

28. *Montiel F., Lobos T., Acuña G., Lam M.*: Breviario de la terapia antimicrobiana, Stgo Fac Med, Universidad Católica de Chile. 1987; 7.
29. *Anhalt J.P., Sabath L.D., Barry A.L.*: Pruebas espe-

ciales: detección de producción de betalactamasa
Lenette, Edwing H. Manual de Microbiología
Clínica. 3a. Ed. Buenos Aires. Panamericana S.A.
1982; 585-586.