

11237  
21  
1983



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

Hospital Infantil de México  
"Dr. Federico Gómez"

AVANCES Y REPERCUSIONES DE LOS METODOS RAPIDOS DE  
DIAGNOSTICO EN ENFERMEDADES INFECCIOSAS EN PEDIATRIA

TESIS DE POSTGRADO  
Que para obtener el título de  
Especialista en Pediatría Médica  
presenta

Dra. Elsa María Guadalupe Heredia Von Schulenburg

Director de tesis: Dr. Demostenes Gómez Berreto

México, D. F.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

1988





Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## C O N T E N I D O

INTRODUCCION

TECNICAS DE LABORATORIO

CONTRAINMUNOELECTROFORESIS

AGLUTINACION EN LATEX

COAGLUTINACION

INVESTIGACION IMMUNOSORBENTE LIGADA CON ENZIMAS

MENINGITIS BACTERIANA

MENINGITIS TUBERCULOSA

INFECCIONES FARINGEAS POR STREPTOCOCO GRUPO A

ESTAFILOCOCCEMIAS

SEPSIS POR STREPTOCOCO GRUPO B

CONCLUSIONES

BIBLIOGRAFIA

" Medicina es una ciencia de  
incertidumbre y un arte  
de probabilidad."

Sir William Osler

Hans Gram, bacteriólogo danés fue el primero en idear un método de diagnóstico rápido de enfermedades infecciosas a fines del siglo XIX. No es sino hasta la década de los 70's que la Inmunología tiene grandes avances y descubrimientos enfocándolos al diagnóstico rápido de las enfermedades infecciosas; estos métodos son cada día perfeccionados siendo cada vez más sensibles y específicos.

La importancia de conocerlos estriba en que permiten establecer en una forma rápida y la mayoría de las veces, a bajo costo, la identificación del germen responsable de un padecimiento infeccioso agudo. Esta identificación generalmente ahorra tiempo en relación a los estudios tradicionales como es el cultivo, que nos permite tener el diagnóstico etiológico bacteriano no antes de las 24 hrs de haber tomado la muestra, éste retardo en la orientación de la etiología en un proceso bacteriano agudo, repercute inaudablemente en los resultados y por lo tanto se incrementa el empirismo y sobre todo, poniendo como ejemplo la meningitis bacteriana, retardo en la esterilización del LCR por consiguiente un incremento en las secuelas; éste por sí solo justifica ampliamente el conocimiento y la utilización de los métodos rápidos

de diagnóstico en los procesos infecciosos.

En las últimas décadas el avance en el área de inmunología ha dado lugar al descubrimiento de diversos métodos de diagnóstico rápidos que están encaminados a descubrir los microorganismos específicos responsables de un proceso patológico o la respuesta inmune que éstos generan en el organismo; - la identificación de un antígeno o la presencia de anticuerpos contra antígenos específicos aunado al conocimiento clínico y con la ayuda de los métodos tradicionales como son la tinción de gram y cultivo hacen promisorio que cada día tengamos la oportunidad de tener más aislamientos o más información en cuanto a las causas responsables de los procesos infecciosos ya sea bacterianos, micóticos, virales o parasitarios.

Los métodos rápidos de diagnóstico estarán encaminados a ser utilizados en los servicios de urgencias en donde el clínico requiere el apoyo de esta tecnología para poder ofrecer a sus pacientes un tratamiento más específico, menos costoso, menos tóxico.

Por las razones antes expuestas, creí conveniente adentrarme un poco en el conocimiento de esta nueva tecnología, haciendo una revisión extensa de los procedimientos técnicos que se requieren y sus implicaciones, esperando que esta información sea útil para las generaciones futuras.

Las técnicas revisadas serán: contrainmunolectroforesis, investigación inmunosorbente ligada con enzimas (ELISA), coagulación y aglutinación en látex.

Las enfermedades investigadas fueron meningitis bacteriana y fúngica, faringitis por estreptococo grupo A, estafilococcemias y sepsis por estreptococo del grupo B.

## C O N T R A I N M U N O E L E C T R O F O R E S I S

Es un método de laboratorio inmunológico utilizado para la rápida identificación de antígenos bacterianos, virales, - micóticos y protozoarios. Se le conoce también con el nombre de inmunolectroforesis por contracorriente, electroinmunodifusión, electroprecipitación y electroinmunodifusión unidimensional doble. (1)

Se basa en la observación de que cuando se colocan en agar de pH y potencia iónica correctos, los antígenos tienen carga negativa y los anticuerpos la tienen positiva. Si se pasa una corriente eléctrica por el agar, antígeno y anticuerpo migran en direcciones opuestas; los antígenos con carga negativa migran hacia el polo positivo y los anticuerpos al lado negativo. (2) Este movimiento es alterado por la aplicación de una corriente eléctrica, la cual aumenta la velocidad de migración a partir de pozos separados. (1) Si se encuentra un anticuerpo para un antígeno específico, se forma una línea de precipitación visible entre el pozo que contiene el anticuerpo y el que contiene el antígeno (2).

La contrainmunolectroforesis (CIE) tiene gran aplicación en la investigación de enfermedades infecciosas, ofrece el descubrimiento rápido y digno de confianza de los antígenos encontrados en casi todos los líquidos corporales (1).

Los agentes bacterianos para los que es muy útil la CIE

son Hemophilus influenzae tipo B (Hib), Streptococo pneumoniae, Neisseria meningitidis y Streptococo del grupo B (2).

Hay en el comercio antisueros contra los antígenos capsulares de las bacterias mencionadas. Su sensibilidad y especificidad varían según el fabricante (2).

#### PRINCIPALES AGENTES IDENTIFICADOS POR CIE

H. influenzae	E. histolytica
S. pneumoniae	G. lamblia
N. meningitidis	P. carinii
Streptococo del grupo B	C. neoformans
P. aeruginosa	S. typhi
K. pneumoniae	Enterovirus
S. aureus	Adenovirus
Candida s.p.	Virus de hepatitis B
L. monocytogenes	Virus de parotiditis
Ch. trachomatis	Varicela-zoster virus
T. gondii	Arbovirus grupo California

## A G L U T I N A C I O N   E N   L A T E X

Consiste en absorber antisuero para un antígeno específico sobre partículas de latex de diámetro uniforme por lo general de 0.8 micras. Se lavan las partículas de latex para eliminar el antisuero no absorbido y se resuspenden en dilución adecuada. Cuando las partículas de latex sensibilizadas se colocan en una solución como LCR, que contiene antígenos contra los que está dirigido el antisuero, se produce aglutinación de las partículas. Esta aglutinación es visible a simple vista. (2). Estas pruebas requieren que además de la muestra del paciente, con las partículas de latex sensibilizadas, se incuben muestras de control positivas y negativa conocidas y que se incuben muestras del paciente con controles negativos y positivos de partículas de latex no sensibilizadas de control con objeto de descubrir la aglutinación inespecífica. -

Es eficaz para descubrir el antígeno de Hib en LCR, suero, orina; meningococo, neumococo, estreptococ del grupo A y B (2).

### M I C R O O R G A N I S M O S   D E T E C T A D O S   P O R   A G L U T I N A C I O N E N   L A T E X

H. influenzae	M. tuberculosis
S. pneumoniae	C. neoformans
Streptococo grupo B	E. histolytica
Citomegalovirus	Virus de rubeola

## COAGULACION

Descrita por Kronvall en 1973, consiste en una reacción antígeno-anticuerpo utilizando *Staphylococcus aureus* ricos en proteína A cubiertos con anticuerpos específicos. Esta proteína tiene la característica de fijar el anticuerpo por su fragmento cristizable y dejar libre su sitio activo, por lo que al ponerse en contacto con el antígeno específico los estafilococos se aglutinan. (11).

La inmunoglobulina G (IgG) se fija al fragmento Fc de las cepas stafilocócicas que contienen la proteína A. El fragmento Fab de la IgG rige así en *S. aureus* está libre para combinarse con antígeno homólogo. (2).

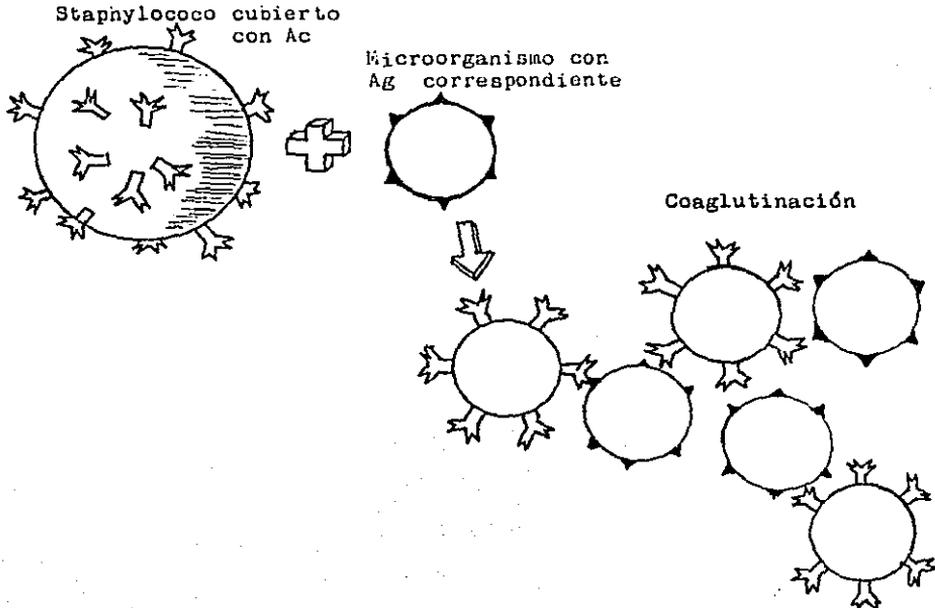
Se lleva a cabo en un minuto y es visible a simple vista. Identifica antígenos bacterianos en concentraciones tan bajas como 8 - 12 ng/ml (11).

Existen varios preparados comerciales para detección directa de antígenos capsulares de Neumococo (83 tipos), Hib, Meningococo del grupo A, B, C, Y, y W 135 y Streptococo agalactiae en LCR, suero y orina.

Procedimiento.- se calienta LCR, suero u orina entre 80 a 100 grados en incubadora o a baño maría, se enfría a temperatura ambiente. Se coloca una gota de cada reactivo en su lugar en la placa, se agrega una gota de la muestra del líquido precalentado, se mezclan y se observa en un minuto. No requiere calibración. (21)

Los resultados positivos.- cuando uno de los reactivos reacciona más rápido y es muy visible. Negativos, cuando ninguno reacciona, indicando que la infección no es por ninguno de los organismos o que el líquido no contiene antígenos suficientes. No interpretable, cuando la aglutinación ocurre con más de un reactivo requiriéndose de cultivo o CIE. (21)

Las limitaciones de este procedimiento son; que no hay reacción con los organismos no capsulados. Ciertos tipos de neumococo tienen antígeno en común con Hib ocurriendo una -- reacción cruzada, las posibilidades son bajas. La coaglutinación negativa no excluye la posibilidad de meningitis o septicemia por los gérmenes mencionados. (21).



INVESTIGACION INMUNOSORBENTE LIGADA  
CON ENZIMAS ( E L I S A )

Es una prueba equivalente en sensibilidad y especificidad a la radioinmunoinvestigación para el descubrimiento de antígenos y anticuerpos microbianos(2). No requiere equipo costoso ni utilización de radioisótopos. Se basa en la observación de que tanto los anticuerpos como las enzimas cuando se ligan de manera covalente, retienen en su mayor parte sus actividades inmunológicas y enzimáticas respectivas. (2,22)

Existen dos técnicas, una por método indirecto y otro directo.

En el método directo de anticuerpos dobles se fija primero anticuerpo específico para un antígeno particular a un soporte de fase sólida. En muchos casos la fase sólida es una lámina de microtitulación de polivinilo con muchos pozos. Las placas se lavan para eliminar el exceso de anticuerpos y se coloca en el pozo el material que contiene el antígeno microbiano. El antígeno presente en la solución se adhiere al anticuerpo específico unido a la fase sólida. La placa se lava de nuevo y se añade una solución que contenga el mismo anticuerpo específico enlazado de manera covalente con una enzima. Se pueden usar diversas enzimas, entre ellas, la peroxidasa de rábano y fosfatasa alcalina. El complejo de enzima y anticuerpo no fijo se elimina mediante lavado y se añade al pozo una mezcla

de reacción adecuada para la enzima conjugada. El grado de reacción indicado por un cambio de color, depende de la cantidad de antígeno en la muestra de prueba. La identificación de antígeno por la técnica directa de ELISA tiene la desventaja de que, para identificar cada antígeno, se requiere un conjugado separado de enzima y anticuerpo con actividad inmunológica específica.

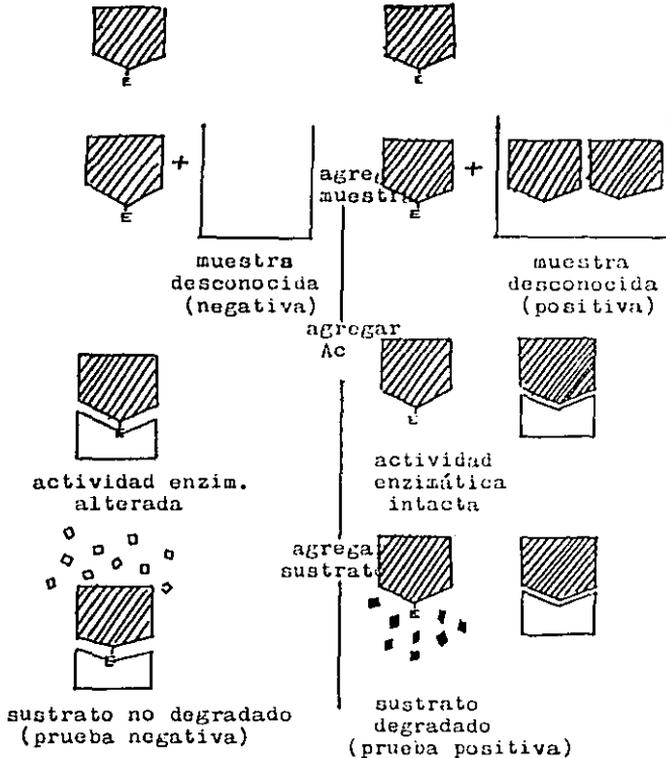
(2).

En el indirecto se usa una investigación doble de anticuerpos (técnica de sandwich"). (2) El método indirecto no tiene la desventaja antes descrita para el directo. La fase sólida se cubre con un anticuerpo específico proveniente de una especie animal después de la adición del antígeno, se añade un anticuerpo específico no marcado de una segunda especie animal que reacciona con el antígeno fijo al primer anticuerpo en fase sólida. El exceso de anticuerpo se elimina por lavado, y se añade un tercer anticuerpo unido a la enzima dirigido contra la globulina de la segunda especie animal. Esto da por resultado un cambio de color proporcional a la cantidad de antígeno en la muestra de prueba (2).

Estas investigaciones de ELISA requieren hasta de 6 hrs por lo que sólo se pueden llevar a cabo una vez al día en un laboratorio ordinario. Además, para que se descubra cada antígeno debe haber una placa separada, o por lo menos, un punto separado cubierto con anticuerpo específico, limitándose para investigar muestras de diferentes antígenos microbianos al mig

no tiempo. (2).

## M E T O D O   E L I S A



CONSISTE en: hapteno marcado con enzima    anticuerpo

                  sustrato enzimático    muestra a analizar

Si la muestra a examinar contiene cualquier hapteno, se combinará con el Ac dejando libre el hapteno marcado con la enzima para degradar el sustrato, para posteriormente leerse en espectrofotómetro.

METODO DE ANTICUERPO DOBLE (SANDWICH) PARA  
MEDIR ANTIGENO

1. Placa cubierta con el Ac A específico



Lavar la placa

2. Reacción de la muestra que contiene Ag



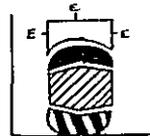
Lavar la placa

3. Agregar el Ac B específico



Lavar la placa

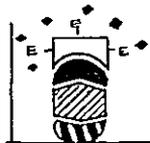
4. Globulina antiB marcada con enzima,  
agregar



Lavar la placa

5. Agregar el sustrato enzimático

(El cambio de color es proporcional a  
la cantidad de antígeno presente)



## ELISA EN INFECCIONES POR:

H. influenzae tipo b	Virus Epstein Barr
M. tuberculosis	Rotavirus
S. typhi	Varicella - zoster
Virus herpes simple	Virus sincitial respiratorio
Virus hepatitis A y B	Aspergillus
H I V	Candida albicans
Toxoplasma gondii	S. aureus
	Virus Norwalk

Para lo más frecuentemente utilizado

## M E N I N G I T I S   B A C T E R I A N A

Las bacterias que más frecuentemente causan meningitis en los niños son; Hemofilus influenzae tipo b, Streptococo - pneumoniae y Escherichia coli (neonatos). La detección inmunológica de antígenos bacterianos es particularmente aplicable en LCR de pacientes con meningitis ya que existen niveles muy elevados de antígenos (6). Los métodos usuales existentes son CIE, aglutinación en látex (AL), coaglutinación (COA), - ELISA y radioinmunoensayo (RAI), éstos dos últimos se procesan entre 2 a 4 hrs y son más costosos. La detección de antígeno tiene una gran ventaja sobre el cultivo o tinción de -- Gram, especialmente en aquéllos que ya recibieron tratamiento, cuando son negativos, la detección de antígeno en LCR puede - ser positivo (4).

Las pruebas más rápidas son AL y COA, existen preparados comerciales, y las personas que las realizan necesitan menos entrenamiento que para realizar CIE, se realizan entre 5 y 15 minutos, contra 40 a 60 minutos para la CIE y no existe preparado comercial para esta última. Todas se pueden realizar en LCR, suero y orina (4).

El antígeno capsular de polirribosa y fosfato (PRF) de H. influenzae tipo b puede detectarse por CIE, AL, COA, ELISA y RAI (5).

C O N T R A I N M U N O E L E C T R O F O R E S I S . -

Con sueros seleccionados, la CIE puede descubrir aproximadamente 0.01  $\mu\text{g/ml}$  del material capsular de polirribosa y - fosfato (PRF) de H. influenzae tipo b (Hib), y menos de 0.05  $\mu\text{g/ml}$  de polisacárido neumocócico purificado de serotipos seleccionados de S. pneumoniae. Pueden producirse reacciones - cruzadas y precipitaciones inespecíficas en algunos de estos antisueros. Se ha documentado que el polisacárido capsular de Hib es semejante a otros antígenos como el del Streptococo - pneumoniae tipo 6. (2). Se asocia a falsas positivas para Hib por CIE. Hasta un 30% de neumococo tipo 6 da reacción cruzada con suero anti Hib. El neumococo tipo 6 contiene ribitol como componente de su cápsula polisacárida. El componente capsular de Hib es poli-ribosil-ribitol. Otros que pueden dar reacción cruzada son Staphilococo aureus, Bacillus pumilus, Lactobacillus plantarum, E coli K100, Streptococo viridans, Streptococo pneumoniae tipo 6, 15, 29, 35. (9).

Los sueros específicos de grupo para estreptococo del grupo B pueden descubrir más de 14  $\mu\text{g/ml}$  de polisacárido purificado B. Se pueden producir falsas positivas con antisueros de meningococos del grupo B. Pueden haber antígenos bacterianos en las muestras clínicas, pero a concentraciones que están - por debajo de los límites de descubrimiento de cualquiera de los antisueros señalados. Por tanto, el resultado negativo de la CIE no excluye de manera inequívoca la infección causada -

por el microorganismo en cuestión. (2).

La CIE ha sido positiva en LCR desde 50 hasta 90% en pacientes con meningitis meningocócica. En muchos casos tanto el cultivo como la tinción de Gram son negativos mientras que la CIE es positiva. La combinación de tinción de Gram y CIE permite el diagnóstico rápido de meningitis por meningococo especialmente del grupo A y C; no es confiable la determinación de la enfermedad meningocócica del grupo B mediante CIE (2).

La CIE es particularmente útil para descubrir el antígeno capsular de PRF de Hib. El antígeno PRF se puede descubrir en más de 80% de las muestras de LCR, se puede efectuar en suero y orina. Si se obtiene LCR, suero y orina para CIE se puede identificar Hib como agente etiológico en el 100% en un plazo de una a dos horas (2,5).

Se ha demostrado la presencia de antígeno bacteriano, la cantidad de éste o ambas en LCR o sangre de pacientes con meningitis bacteriana y se correlacionan bien con la gravedad de la enfermedad y del pronóstico. La cantidad de antígeno PRF en LCR en el momento del ingreso está relacionada significativamente con el desarrollo de secuelas neurológicas tempranas y permanentes. La gravedad de las secuelas neurológicas fue cuando la concentración de antígeno PRF excedía a 1.28 µg/ml; es así como la CIE ofrece diagnóstico etiológico, específico y pronóstico razonable para niños que sufren meningitis (2).

La CIE en LCR en pacientes con meningitis por Hib tiene una sensibilidad de 94%. (2).

En LCR detecta concentraciones de 1.0 ng/ml del PRF de Hib. En suero detecta antígenos en pacientes con bacteremia sin meningitis. La CIE es de valor limitado en el diagnóstico rápido de infecciones no meníngeas por Hib. Tiene poco valor en la detección temprana de las infecciones con bajos niveles de antígeno, mientras que la aglutinación en latex no tiene esta limitación. (5).

En LCR tiene una positividad para Hib de 66%, para neumococo 70% y para meningococo 78%. (6).

#### COAGULINACION (COA).

Existen varios preparados comerciales,

Es positiva en relación directa con la concentración de antígeno y no a la cantidad de bacterias viables; esto ofrece la ventaja de que la COA no se modifica durante varios días por la administración de antibióticos y permite realizar un diagnóstico de probabilidad etiológica en aquéllos que los han recibido. (11).

La COA para Hib comparada con el cultivo fue positiva en 88%, y 82% para neumococo. Puede ser positiva hasta en 40% de cultivos negativos (11). En comparación con la CIE, es igual 76% positiva para Hib mediante coagulación y CIE. (2).

La COA para Hib es menos sensible que AL. (6).

En orina detecta niveles de 25 ng/ml (7).

## AGLUTINACION EN LATEX (AL).

Existe para Hib, neumococo y meningococo.

Es más sensible que la COA o CIE. Tiene 82% de positividad y 78% de sensibilidad para Hib (2). No da falsas positivas. Detecta concentraciones tan bajas como 0.2 ng/ml en suero. Es 200 veces más sensible en pacientes con epiglotitis -- por Hib (5). El LCR, comparada con CIE es positiva 83% para Hib, 77% para neumococo y 93% para meningococo, mientras que para CIE fue de 66%, 79% y 78% respectivamente. Es más efectiva para detectar Hib y meningococo, es igual para neumococo - (6).

En orina la AL detecta niveles tan bajos como 0.2 ng/ml de antígeno de Hib. Los preparados comerciales para antígeno - Hib para detectar niveles tan bajos los hacen preferidos para las infecciones por Hib especialmente las no meningéas y para los que ya recibieron antibióticos (7).

## E L I S A .

Se usa para determinar las concentraciones de anticuerpos contra los polisacáridos capsulares de neumococo y Hib. - Es un método rápido, relativamente barato para cuantificar y diferenciar las inmunoglobulinas contra los polisacáridos capsulares. (8).

En comparación con radioinmunoensayo (RAI) para las ti-

tulaciones de anticuerpos anti PRF tipo IgG e IgM; ELISA no detectó niveles de IgG o IgM contra PRF menores de 0.025  $\mu\text{g/ml}$  mientras que por radioinmunoensayo (RAI) sí. (8).

No es tan sensible como RAI para la detección de Ac anti PRF, pero es más fácil de procesar, menos costosa y no necesita de un antígeno radiomarcado.

ELISA puede detectar Ac anti PRF y distinguirlos entre IgG e IgM. Esta técnica será útil en estudios de las respuestas del huésped a las infecciones por H. influenzae tipo b. (8).

La sensibilidad de ELISA es valiosa sobre todo en la detección de antígeno Hib después de la terapia de antibióticos, en cuyo caso los cultivos, la contraelectroforesis y aglutinación en latex son negativos. Es, por lo tanto, útil en la detección temprana de infecciones por Hib. (10).

Comparación de Directigen y CIE en la detección de  
Ag específicos en cultivos positivos de LCR

Especimen	No. examinado	Directigen positivo	CIE positivo
H. influenzae tipo B	66	57	46
S. pneumoniae	30	24	23
N. meningitidis grupo A	22	20	16

Directigen R aglutinación en latex

Sensibilidad de los sistemas de detección antigénica

Antígeno	Concentración antigénica (ng/ml de LCR esterilizado) detectable por:			
	Directigen (AL)	Bactigen (AL)	Phadebact (COA)	CIE
S. pneumoniae	0.75	0.2	6.2	24.0
N. meningitidis grupo A	1.5	7.5	1.5	24.0
N. meningitidis grupo C	0.75	7.5	1.5	24.0
H. influenzae tipo B	1.5	0.1	1.5	6.0

Comparación de CIE, cultivo y productos comerciales de  
aglutinación para la detección antigénica en LCR

Organismo	No. pacientes	No. especímenes positivos / no. estudiados (%)				
		Cultivo	CIE	Directigen (AL)	Bectigen (AL)	Phadebact (COA)
N. meningitidis						
Grupo B	5	5/5 (100)	0/5 (0)	4/5 (80)	4/6 (66)	4/8 (50)
Grupo C	4	4/4 (100)	4/4 (100)	3/4 (75)		
S. pneumoniae	7	6/7 (80)	5/7 (71)	7/7 (100)	7/7 (100)	6/7 (86)
H. Influenzae B	18	17/18 (94)	17/18 (94)	14/18 (78)	14/14 (100)	15/18 (83)
<b>Totales</b>	<b>34</b>	<b>32/34 (94)</b>	<b>26/34 (76)</b>	<b>28/34 (82)</b>	<b>25/27 (93)</b>	<b>25/33 (76)</b>

## M E N I N G I T I S   T U B E R C U L O S A

La tuberculosis, a pesar de la constante disminución en incidencia y mortalidad sigue siendo la infección crónica más importante en cuanto a mortalidad y morbilidad, especialmente en los países en vías de desarrollo. En nuestro país la meningitis tuberculosa en los niños es frecuente por lo que es imperativo conocer las medidas de diagnóstico rápidas existentes hasta ahora para implementarlas y establecer el tratamiento - adecuado antes del resultado del cultivo, que muchas veces resulta negativo.

En realidad el diagnóstico de meningitis tuberculosa depende de la identificación de *Mycobacterium tuberculosis* en - LCR por tinción o cultivo. Por lo general, los clínicos no retrasan el tratamiento hasta recibir los resultados de laboratorio y el tratamiento se inicia por sospecha.

Existen reportes de que *M. tuberculosis* se identificó - en el frotis de LCR entre 10 a 40% y en el cultivo entre 45 y 90% de los casos. En últimas fechas el frotis es positivo en 87% y el cultivo en 83%.

Existen métodos indirectos y directos para establecer el diagnóstico de meningitis tuberculosa.

Los métodos indirectos son:

Determinación de adenosin deaminasa.

Es una enzima producida por los linfocitos T; los niveles normales son de 6 a 8 U/lit. Se encuentran niveles elevados en LCR en pacientes con meningitis fúngica entre 63 y 100%. Existen falsas positivas en meningitis virales. La especificidad es de 99%. (22).

Relación entre el bromuro sérico y el del LCR.

Después de una dosis administrada, se determina simultáneamente el bromuro en suero y LCR; refleja la integridad de la barrera hematoencefálica. Los valores menores de 1.6 fueron característicos de tuberculosis meníngea. La especificidad es de 90%. Hay falsas positivas en meningitis purulenta y viral. Es mejor que la medición de adenosin deaminasa.

Anticuerpos contra el antígeno M. tuberculosis.

Mediante --

ELISA se determinaron Ac tipo IgG en pacientes con meningitis tuberculosa, o IgG teniendo una especificidad del 80% y sensibilidad de 95%, aunque se han encontrado niveles bajos de Ac contra M. tuberculosis en LCR de pacientes provenientes de una zona con alta incidencia de tuberculosis, sin tener meningitis tuberculosa.

Los métodos directos son aquellos que identifican bioquímicamente los productos del *Mycobacterium*.

Detección de 3-2 ceto-hexil-inaolina mediante cromatografía de gas, se ha reportado en 4 de 5 pacientes con meningitis fúngica. O la detección de ácido tuberculo-esteárico por cromatografía de gas. (22).

Detección del antígeno *Mycobacterium* en LCR mediante ELISA y aglutinación en látex que son métodos muy rápidos y confiables.

#### I N F E C C I O N E S   P A R I N G E A S P O R   S T R E P T O C O C O   G R U P O   A

Desde 1920 cuando se encontró que el *Streptococo* beta hemolítico era el agente responsable de faringitis y tonsilitis, se clasificaron en estreptocócicas y no estreptocócicas.

La faringitis estreptocócica es la infección más frecuentemente tratada por los pediatras. Se sabe que el aislar *Streptococo* del grupo A de una faringe inflamada no necesariamente implica responsabilidad, ya que hay portadores. La urgencia de iniciar antibiótico estriba en que se previene la fiebre reumática y la diseminación a contactos. (14).

Estudios recientes han hecho posible la extracción enzimática del carbonidrato de la pared del *Streptococo* del --

grupo A permitiendo que este complejo antigénico sea el pilar para la aglutinación en latex de partículas cubiertas con anticuerpos anti-grupo A. El diagnóstico rápido mediante AL en faringitis estreptocócicas es adecuado. Existen varios preparados comerciales que llevan en promedio 10 minutos para su realización y lectura. Las fallas de estos métodos rápidos generalmente se acentúan al uso previo de antibióticos, gargarismos, soluciones bucales antisépticas o con antibióticos. (14).

La AL tiene una sensibilidad de 95%, se ha reportado un valor predictivo positivo en 52%, significando que la mitad de los que fueron positivos para AL tendrán cultivos positivos. El valor de predicción negativo es de 96%, así una prueba de latex negativa es altamente confiable que el cultivo será negativo. La prueba de latex es muy efectiva en predecir cultivos negativos, pero es menos exacta para predecir cultivos positivos (13).

Existen en Estados Unidos de Norteamérica por lo menos 10 preparados comerciales para detección rápida, ninguno es superior que otro, y éstos no son superiores a la apreciación clínica. (14).

La importancia y las ventajas de estas pruebas son que pueden realizarse en el consultorio por personas que no requieren entrenamiento especializado, tienen un costo aproximado de 3 dls. Los padres se tranquilizan al saber el diag

nóstico, iniciar el antibiótico tempranamente; se disminuyen las llamadas teleró-nicas al consultorio para saber el resultado del cultivo, así como para ordenar el antibiótico a la farmacia, Los niños acuden a su escuela al día siguiente y los padres a sus trabajos. (12).

Los resultados de AI se correlacionan bien con el cultivo y se adaptan a la rutina de consultorio.

Estos métodos no son superiores al cultivo. Es importante su empleo en pacientes gravemente enfermos, en personal de guarderías, y escuelas, en aquéllos que tienen historia de fiebre reumática y no reciben antibióticos profilácticos. (12,14).

Existen varias preguntas todavía, estas pruebas deben considerarse complemento o sustituto de un cultivo de exudado faríngeo ?. Qué proporción de niños con pruebas de latex negativas y cultivos positivos representan portadores estreptocócicos ?. (12).

## E S T A F I L O C O C E M I A S

Las infecciones por Staphilococo aureus tienen especial importancia ya que ocupan los primeros lugares en infecciones intrahospitalarias, bacteremias, osteomielitis, infecciones cutáneas noenatales, pericarditis, etc.

La detección rápida puede hacerse por ELISA, CIE, RAI

y entre éstos los usos son diversos como detección de toxinas exfoliativas, anticuerpos contra el ácido teicoico o peptidoglicano. A continuación se mencionarán algunas de las ventajas de dichas técnicas. (17).

La cuantificación de los anticuerpos contra ácido ribitol-teicoico (ART), el mayor componente antigénico de la pared celular del *S. aureus*, es muy útil en la detección y manejo de infecciones por dicho germen. El incremento o niveles elevados de Ac anti-ART permite diferenciar entre una bacteremia complicada, requiriendo tratamiento antibiótico prolongado, y una transitoria, así como en infecciones profundas como sería una endocarditis.

Puede haber reacciones cruzadas con los Ac anti ART con los lactobacilos, bacilos y *H. influenzae*. Estos Ac se detectan mediante CIE, difusión en agar y ELISA. (17).

En relación con la edad, se sabe que los títulos más elevados se encuentran en los primeros 6 meses de la vida debido a la presencia de los Ac antiART maternos. (17).

Comparando la CIE con ELISA para la detección de dichos anticuerpos se ha encontrado que las dos son igualmente rápidas, pero ELISA es más sensible por lo que es más útil en la detección temprana de las infecciones profundas por *S. aureus*.

Las concentraciones elevadas de Ac anti ART se encuentran en infecciones profundas y extensas, después de dichas

infecciones los niveles de Ac anti ART regresan a la normalidad después de 2 a 3 meses.

Una septicemia fulminante que causa la muerte en 48 a 72 hrs, no da lugar a niveles elevados de Ac anti ART; se encuentran concentraciones bajas de éstos en osteomielitis indicando que el resultado positivo depende de la duración y el grado de antigenemia más que del lugar infectado. (17).

Las toxinas exfoliativas estafilocócicas son responsables del síndrome de piel escaldada. Estas toxinas se pueden identificar in vivo, mediante la inoculación a ratones recién nacidos, método directo; o bien por métodos inmunológicos para la detección cualitativa de la endotoxina A y B como son difusión en gel, RAI o ELISA por el método de "sandwich". (18).

ELISA detecta niveles de toxina A y B tan bajos como 1.3 ng/ml y 2.9 ng/ml respectivamente; las concentraciones detectadas en el ratón recién nacido son de 5  $\mu$ g/ml. Las concentraciones de toxinas estafilocócicas pueden hacerse en los cultivos, y líquidos corporales, esputo, suero, orina y líquido de vesículas. Las reacciones cruzadas se deben a determinantes antigénicos comunes para la endotoxina A y B. Este método es sencillo y no requiere de equipo de laboratorio especializado. (18).

Staphilococo aureus es responsable hasta en 90% de los casos de osteomielitis; pese al tratamiento agresivo an

tibiótico, prolongado, cirugía u oxígeno hiperbárico la osteomielitis se distingue por su cronicidad y resistencia a la terapéutica empleada. La falla del tratamiento en la osteomielitis crónica es hasta de 80%, y de 15 a 30% de los pacientes con osteomielitis aguda progresan a crónica. (19).

La detección de Ac anti ácido teicoico se hace mediante CIE, RAI y ELISA; estos anticuerpos se encuentran más frecuentemente en la osteomielitis aguda que en la crónica. La detección temprana permite la iniciación del tratamiento adecuado. ELISA detecta los niveles de IgG contra ácido teicoico. Los niveles más altos se encuentran entre el día 21 a 28 de la enfermedad. (19).

Otro método confiable consiste en la detección de anticuerpos contra el péptidoglicano (PG) del *S. aureus*, puede hacerse por ELISA. El PG del *S. aureus* es una molécula compleja que tiene por lo menos tres estructuras antigénicas, La determinación de anticuerpos IgG contra el PG puede hacerse mediante RAI y ELISA, siendo esta última mucho más sensible, más fácil de procesar y detecta niveles bajísimos de los anticuerpos. (20).

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

SEPSIS POR STREPTOCOCCO  
GRUPO B

La infección neonatal por Streptococo del grupo B es rápidamente progresiva y letal, el diagnóstico exacto y rápida iniciación de antibióticos es esencial. Se han desarrollado técnicas para determinar la etiología de la enfermedad antes que el cultivo, estos preparados comerciales son AL, COA que son más sensibles que la CIE.

Se encuentran cantidades perceptibles de antígenos de estreptococos del grupo B en LCR, suero y orina cacentrada. La sensibilidad de la CIE depende en parte de la fuente del antisuero. Cuando se dispone de suero, orina y LCR de neonatos con infección estreptocócica del grupo B, 95% tuvieron CIE positiva por lo menos en uno de los líquidos. La mortalidad es superior en los que tienen CIE sérica positiva que en los que fueron negativos.

La antigenemia estreptocócica del grupo B persiste -- hasta por 30 días después de la iniciación de la enfermedad. La sensibilidad de CIE en comparación con los preparados comerciales fue de 30%, detecta concentraciones de antígeno - de Streptococo del grupo B de 1  $\mu$ g/ml. Las concentraciones más altas de antígeno se relacionaron con desenlaces fatales. (16).

La sensibilidad mediante AL y COA es hasta de 100%

y la especificidad es de 98% para ambos. No da falsas positivas. Tiene un valor predictivo positivo de 78% para AL y de 85% para COA, comparado con 100% de CIE. El valor predictivo negativo es 100% para AL y COA y de 96% para CIE. (15).

La superioridad de la AL se basa en que detecta cantidades pequeñas de antígeno de 60 a 70 ng/ml. La orina es la muestra más confiable, se recomienda el uso de concentrados urinarios para el diagnóstico temprano de infección por -- Streptococo grupo B. (15).

La mayor sensibilidad de AL depende de que es una --- aglutinación más fuerte y más visible que la COA. (15).

Detección del antígeno de Str. grupo B en orina de neonatos

Método diagnóstico	No. muestras examinadas	Sensibilidad %	Especificidad %	Valor predictivo positivo %	Valor predictivo negativo %
AL	176	100	98.2	78.5	100
COA	176	100	98.7	84.6	100
CIE	173	30	100	100	96

## CONCLUSIONES

1. Los métodos de diagnóstico rápidos permiten al clínico tener una orientación etiológica rápida del agente causal sobre todo en enfermedades agudas potencialmente mortales como es la meningitis bacteriana; este conocimiento rápido nos permite decidir el tratamiento específico que repercutirá in dudablemente en un mejor pronóstico y por lo tanto disminuir sustancialmente las secuelas.
2. Los diferentes métodos de diagnóstico rápido generalmente son confiables ya que su sensibilidad y especificidad varía entre 75 y 100%. Tienen una versatilidad muy amplia en la detección de antígenos bacterianos, virales, parasitarios y micóticos así como en la detección de anticuerpos contra los microorganismos responsables.
3. Para realizar los diferentes métodos de diagnóstico se requiere contar con tecnología variable, desde muy sencilla, como es el caso de ELISA, contraelectroforesis y aglutinación en latex, o complicada como es para radioinmunoensayo.
4. El uso de las técnicas rápidas de laboratorio indudablemente repercute en dos situaciones como son: diagnóstico asociado a un tratamiento específico y racional evitando el

empirismo.

En segundo lugar, el hecho de iniciar en las primeras horas el antibiótico repercute, como ya se señaló, en una disminución de las secuelas que indiscutiblemente disminuye la estadía hospitalaria y todo esto en conjunto representa un ahorro importante desde el punto de vista económico justificando sin lugar a dudas su disposición en un servicio de urgencias.

## B I B L I O G R A F I A

1. Friedman AD, Ray CG: Rapid laboratory diagnosis of infections. *Pediatr Infect Dis* 1982; 1: 366-372
2. Kaplan SL, Feigin RD: Identificación rápida del microorganismo invasor. *Clin Ped Nort Am* 1980; 1: 809-840
3. Yogev R: Advances in diagnosis and treatment of childhood meningitis. *Pediatr Infect Dis* 1985; 4: 321-325
4. Tilton RC, Dias F, Ryan RW: Comparative evaluation of three commercial products and counterimmunoelectrophoresis for the detection of antigens in cerebrospinal fluid. *J Clin Microbiol* 1984; 20: 231-234
5. Scheifele DW, Ward JI, Siber GR: Advantage of latex agglutination over countercurrent immunoelectrophoresis in the detection of *Haemophilus influenzae* type b antigen in serum. *Pediatrics* 1981; 68: 888-890
6. Sippel JE, Hider FA, Controni G, et al: Use of the Directigen latex agglutination test for detection of *H. influenzae* S. pneumoniae, and *N. meningitidis* antigens in cerebrospinal fluid from meningitis patients. *J Clin Microbiol* 1984; 20: 884-886
7. Riera L: Detection of *H. influenzae* type b antigenuria by Bactigen and Phadebact kits. *J Clin Microbiol* 1985; 21:638-640

8. Kaplan SL, Mason EO Jr, Johnson G, et al: Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of capsular antibodies against Hib: comparison with radioimmunoassay. *J Clin Microbiol* 1983; 18: 1201-1204
9. Ballard TL, Spangler A, Roe MH, et al: Clinically significant cross-reactions with counterimmunoelectrophoresis between Pneumococcus type 6 and Hib. *J Clin Microbiol* - 1985; 22: 754-756
10. Pepple J, Moxon ER, Yolken RH: Indirect enzyme-linked immunosorbent assay for the quantitation of the type-specific antigen of Hib:A preliminary report. *J Pediatr* 1980; 97: 233-237
11. Guiscafré H, Marrufo CE, Muñoz O, et al: Meningoencefalitis por H. influenzae y S. pneumoniae: Diagnóstico rápido por coaglutinación en líquido cefalorraquídeo. *Bol Med Hosp Infant Mex* 1984; 41: 262-266
12. Schwartz RH, Hayden GF, McCoy P, et al: Rapid diagnosis of streptococcal pharyngitis in two pediatric offices - using a latex agglutination kit. *Pediatr Infect Dis* 1985; 4: 647-650
13. White CB, Bass JW, Yasada SM: Rapid latex agglutination compared with the throat culture for the detection of Group A streptococcal infection. *Pediatr Infect Dis* 1986; 5: 208-212
14. Radetsky M, Wheeler RC, Roe MH: Comparative evaluation of kits for rapid diagnosis of Group A streptococcal - disease. *Pediatr Infect Dis* 1985; 4: 274-281

15. Hamoudi AD, Marcon MJ, Cannon HJ, et al: Comparison of three major antigen detection methods for the diagnosis of Group B streptococcal sepsis in neonates. *Pediatr Infect Dis* 1983; 2: 432-435
16. Friedman CA, Wender DF, Rawson JE: Rapid diagnosis of - Group B streptococcal infection utilizing a commercially available latex agglutination assay. *Pediatrics* 1984; - 73: 27-30
17. Herzog C, Wood H, Koel I, et al: Comparison of a new ELISA method with CIE for detection of teichoic acid antibodies in sera from patients with *S. aureus* infections. *J Clin Microbiol* 1984;19: 511-515
18. Piémont Y, Haubensack M, Monteil H: ELISA for *S. aureus* exfoliative toxins A and B and some applications. *J Clin Microbiol* 1984; 20: 1114-1121
19. Jacob E, Arendt DM, Brook I, et al: ELISA for detection of antibodies to *S. aureus* cell walls in experimental - osteomyelitis. *J Clin Microbiol* 1985; 22: 547-552
20. Christensson B, Espersen F, Hedstrom SA, et al: Methodological aspects of *S. aureus* peptidoglycan serology: comparisons between solid-phase radioimmunoassay and ELISA. *J Clin Microbiol* 1984; 19: 680-686
21. Phadebact R CSF Test 20 Directions for use. Pharmacia Diagnostics AB, Uppsala, Sweden
22. Daniel TM: New approaches to the rapid diagnosis of Tuberculous Meningitis. *J Infect Dis* 1987; 155: 599-602

23. Daniel TM, De Murillo GL, Sawyer JA, et al: Field evaluation of ELISA for the serodiagnosis of tuberculosis. *Am Rev Respir Dis* 1986; 134: 662-665
24. Del Valle M, Hannig S, Montiel F, et al: Identificación rápida del agente etiológico mediante prueba de aglutinación en latex en meningitis bacteriana aguda. *Rev Chil Ped* 1985; 56: 159-161
25. Sippel JE, Prato CM, Girgis NI, et al: Detection of *N. meningitidis* group A, Hib and *S. pneumoniae* antigens in cerebrospinal fluid specimens by antigen capture ELISA. *J Clin Microbiol* 1984; 20: 259-265
26. Petts DN; Early detection of Streptococci in swabs by latex agglutination before culture. *J Clin Microbiol* 1984; 19: 432-433
27. Matteson ML, Anhalt JP: Effect of delay in processing on the performance of Directigen for the detection of group A Streptococci in throat swabs. *J Clin Microbiol* 1985, 21: 993-994
28. Yolken RH, Davis D, Winkelstein J, et al: Enzyme immunoassay for detection of Pneumococcal antigen in cerebrospinal fluid. *J. Clin Microbiol* 1984; 20: 802-805
29. Kronvall G: A rapid slide agglutination method for typing pneumococci by means of specific antibodies adsorbed to protein A-containing staphylococci. *J Med Microbiol* 1973; 2: 187-190
30. Fudenberg HH. *Inmunología Clínica*. Edit. El Manual Moderno 2a edic. México. pags. 377-420