

2 Ej. No. 89



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

**"INCIDENCIA DE MENINGITIS CAUSADA
POR HAEMOPHILUS INFLUENZAE TIPO B,
EN NIÑOS DE DOS MESES A CINCO AÑOS"**

TRABAJO MONOGRAFICO

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A :

MARTHA ESTHELA PEREZ RODRIGUEZ

1984



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.

INDICE.

	Pág.
INTRODUCCION	4
CAPITULO I.	
GENERALIDADES.	
1.1 Historia	6
1.2 Características de <u>Haemophilus influenzae</u>	11
1.3 Metabolismo	14
1.4 Estructura antigénica	18
1.5 Productos extracelulares	27
1.6 Resistencia a los agentes físicos y químicos. Mecanismos de resistencia a los antibióticos en <u>H. influenzae</u>	32
CAPITULO II.	
MENINGITIS.	
2.1 Factores predisponentes	35
2.2 Epidemiología	56
2.3 Patogenia	58
A) Mecanismos de patogenicidad de <u>Haemophilus influenzae</u> tipo b	65
B) Mecanismo de patogenicidad de <u>H. influenzae</u> tipo b en meningitis	68
2.4 Patología	72
2.5 Tratamiento	81
CAPITULO III.	
DIAGNOSTICO DEL LABORATORIO.	
3.1 Bacteriológico	90
1 .- Toma de muestra	90
11 .- Realización del frotis y del cultivo del LCR	92

	Pág.
III.- Requerimientos de los factores de crecimiento I y V	98
IV .- Diferenciación entre las cepas S y R de <u>H. influenzae</u>	99
V .- Diferenciación entre <u>H. influenzae</u> y <u>H. parainfluenzae</u>	99
3.2 Caracterización inmunoserológica y bioquímica de <u>H. influenzae</u>	100
1 .- Aglutinación en placa	101
II .- Reacción de hinchamiento capsular. (Prueba de Quellung)	102
III .- Prueba de precipitación en tubo capilar	102
IV .- Técnica de anticuerpos fluorescentes (inmunofluorescencia)	103
V .- Contraelectroforesis	103
VI .- Aglutinación en látex	103
VII .- Radioinmunoensayo	104
VIII.- Prueba de la enzima ligada inmunoabsorbente (ELISA)	104
IX .- Prueba de conversión del ácido d-aminolevulínico (ALA) a porfirinas	105
X .- Producción de ácido a partir de carbohidratos..	107
XI .- Hemólisis	107
XII .- Oxidasa	107
XIII.- Reducción de nitrato a nitrito	108
XIV .- Prueba de la descarboxilación de ornitina y producción de indol	108
XV .- Prueba de la ureasa	109
3.3 Estudio citológico	109

CAPITULO IV

DISCUSION112

CAPITULO V

CONCLUSIONES118

CAPITULO VI

BIBLIOGRAFIA120

INTRODUCCION.

Debido a que la meningitis provocada por Haemophilus influenzae tipo b es de un porcentaje elevado en la actualidad y que los problemas que ocasiona en la población infantil a la cual ataca son tan serios como la incapacidad física, mental o ambas, es necesario hacer un estudio concienzudo, como se ha estado efectuando en los últimos cinco años, para diagnosticarla y tratarla adecuadamente, lo cual ha disminuido la letalidad de un 21.7% a un 9.9% sobre todo en los lactantes.

Muchos son los factores relacionados con la etiología de la meningitis: edad, otros focos de infección, sitio y evolución de los mismos, antecedentes de intervenciones quirúrgicas y/o fracturas de cráneo, presencia de inmunodeficiencias y estado nutricional.

En nuestro medio, el 50% de las meningitis son tuberculosas y el otro 50% de las meningitis son bacterianas, --- siendo S. pneumoniae y Haemophilus influenzae tipo b, las dos bacterias más frecuentes, seguidas por algunos otros microorganismos Gram-positivos o Gram-negativos.

Por lo anterior, es la intención de este trabajo - el querer contribuir, aunque sea con una mínima parte, al estudio de la meningitis al considerar de vital importancia la investigación de Haemophilus influenzae tipo b como agente etiológico de ésta, y a la realización de un antibiograma, ya que en diferentes estudios realizados en el extranjero y en el país, - se estima que en la actualidad, de 10 a 13% de las cepas de H. influenzae tipo b son productoras de beta-lactamasa y, por lo tanto, en ocasiones también resistentes a la ampicilina.

El presente estudio lleva la intención de servir a toda aquella persona que desee documentarse sobre la enferme---

dad producida por H. influenzae tipo b en meninges, profundizan do el estudio con la revisión del acervo temático incluido en la bibliografía.

CAPITULO I
GENERALIDADES.

1.1 Historia.

Durante la pandemia de influenza en 1890, Pfeiffer bacteriólogo alemán y anterior asistente de Koch, aislo de la nasofaringe y de la expectoración de la mayor parte de aquellos enfermos de influenza, colonias de bacilos Gram-negativos que tendían a encontrarse en grupos y se teñían con dificultad en tinciones ordinarias. El azul de metileno de Loeffler reveló gránulos polares (18, 31, 35, 84, 115, 137, 140). El crecimiento de cultivos puros solo podía llevarse a cabo en agar común suplementado con sangre fresca debido a que requería sustancias presentes en la sangre total, las sustancias que estimulaban el crecimiento se asociaron con el hierro contenido en la hemoglobina (31, 39, 115, 140). Las cajas de agar sangre sembradas dieron colonias pequeñas transparentes que no producían cambio en el medio circundante (35).

La frecuencia con que se presentó este microorganismo en pacientes con influenza y su virtual ausencia en individuos normales, condujo a la conclusión errónea que H. influenzae había sido el causante de la influenza pandémica de 1890, por esto, este microorganismo se denominó el bacilo de la influenza y en 1923 se designó Haemophilus influenzae por la Sociedad Americana de Bacteriólogos (31, 35, 89, 115, 122).

Aquéllos quienes objetaron esta terminología, han continuado usando el nombre de bacilo de Pfeiffer.

Las investigaciones acerca del papel de este microorganismo en la epidemia de 1892 a 1920 fueron revisadas por Kristensen en 1922, Scott en 1929 y Jordan en 1927. El resultado creó dudas sobre la acción primaria del microorganismo en la pandemia de influenza (35).

Durante el brote aún mas devastador de la pandemia de influenza en 1918, se llevaron a cabo extensas investigaciones bacteriológicas para determinar el papel del bacilo de la influenza. Los resultados los revisaron Jordan en 1927 y Scott en 1929. No hay duda de que la mayoría de los investigadores - que estudiaron este problema, en especial tenían un interés notorio en la búsqueda de H. influenzae y encontraron una alta incidencia no solo en la nasofaringe, sino también en los cultivos pulmonares post-mortem (31,35). Desafortunadamente, los métodos disponibles no podían diferenciar entre los bacilos de influenza capsulados y potencialmente patógenos y aquellas formas no capsuladas que están extensamente distribuidas en la nasofaringe normal .

Nor desarrolló métodos para distinguir el verdadero bacilo de la influenza de otras especies muy cercanas (35).

Sin embargo, se aprendieron algunos hechos de investigaciones bacteriológicas intensas llevadas a cabo durante la pandemia de 1918. Davis (1917,1924), Thjötta y Avery (1921), Fildes (1921), y Rivers y Poole (1921) ampliaron nuestro conocimiento sobre los factores de crecimiento bacteriano y estandarizaron los procedimientos para el uso de los factores X y V requeridos como una ayuda para el diagnóstico. En resumen, mostraron que toda sangre contenía ambos factores (35,115). Su acción puede separarse por exposición de extractos de sangre total a 250° F ya que el factor V se destruye así. Un extracto de levadura, esterilizado por filtración, sirve como una buena fuente del factor V (35,115,137).

Un estudio de los requerimientos nutricionales de las colonias identificadas como bacilo de la influenza durante la pandemia de 1918, llevó a descubrir algunos nuevos microorganismos. Pritchett y Stillman (1919) reportaron un microorganismo que designaron como bacilo "X", que mostró una hemólisis de tipo beta después de su crecimiento en pla-----

cas de agar sangre, y el factor X no se necesitó para el crecimiento. Riversen en 1922, describió cultivos que nombró como -- B. parainfluenzae, que difiere del verdadero H. influenzae sólo por su capacidad de crecer en ausencia del factor X. Las cepas hemolíticas que requieren los factores X y V las reportaron Fil^ldes en 1924 y Valentine y Rivers en 1927.

Los resultados que se obtuvieron de los estudios -- realizados durante la pandemia de influenza de 1918, dieron a -- pensar en la posibilidad de una interacción entre un virus y H. influenzae. Joruan en 1927 y Scott en 1929, realizaron la bús-- queda de un virus en pacientes con influenza. Pero esta búsque-- da se encontró con fallas, debido a que las técnicas para el -- aislamiento y la identificación del virus estaban apenas siendo exploradas (35). Esta hipótesis fué confirmada por Shope en --- 1931, por la recuperación de un virus de influenza de cerdo, a la vez que demostraba el efecto sinérgico del bacilo de la in-- fluenza de cerdo, H. suis, y el virus de la influenza porcina; los cuales son esenciales para la enfermedad natural y experi-- mental (31,35,89).

Las investigaciones de Shope (1931,1944) aumentaron la pregunta acerca de que el hecho descubierto para la influen-- za porcina, pudiese ser cierto para la influenza pandémica huma-- na. Desde que la epidemia porcina apareció por primera vez, con-- juntamente con la pandemia de la influenza humana en 1918, Sho-- pe sugirió que la enfermedad originada en los cerdos era poste-- rior a la enfermedad originada en los humanos. Un estudio epide-- miológico de la enfermedad porcina demostró que el virus permanece latente junto con las larvas que se encuentran en los pul-- mones de los cerdos, los cuales viven en relación simbiótica. -- El virus deja de permanecer latente y se desata una epidemia de influenza porcina. Entonces H. suis bajo estas condiciones cli--

máticas apropiadas, se encuentra en un gran número en la nasofaringe de los animales experimentales (31,35).

Esto planteó la posibilidad de que también pudiera existir sinergismo en la influenza humana. La importancia de esta contribución tiene especial énfasis: ilustra el enorme daño causado por el efecto combinado de una bacteria y un virus (31,35,89).

Las similitudes clínicas y patológicas entre la influenza humana y la porcina, han llevado a muchos investigadores a explorar la acción sinérgica del virus de la influenza humana y H. influenzae; los conflictivos resultados fueron revisados y ampliados por Bang en 1943 (31,35).

El efecto de H. influenzae sobre el virus humano merece una profundización en la búsqueda de conceptos comunes referentes a la biología de H. influenzae. Sin embargo, es evidente a nuestro conocimiento presente, que el virus de la influenza humana y porcina, tanto como las dos variedades de H. influenzae y H. suis, poseen diferencias fundamentales (35).

El nombre de H. influenzae se basó en datos erróneos y ha causado mucha confusión, por lo tanto es necesario indicar con insistencia que H. influenzae no es la causa de la influenza (39). El nombre del género deriva de su predilección por la sangre (haemo=sangre; philus=que ama), y el de la especie, de la relación, actualmente descartada, pero que anteriormente se le suponía con la gripe (influenza); pero ello no disminuye su importancia como agente patógeno independiente (19,40, 115,122). Sin embargo, posteriormente se ha comprobado que tanto H. influenzae como Streptococcus sp., S. pneumoniae y Staphylococcus sp., solo son agentes secundarios y comparten el muy importante papel de causar enfermedades pulmonares secundarias en enfermos de influenza, durante las epidemias de influenza ver

dadera causadas por el virus específico (84,89,122).

La meningitis por H. influenzae la describió por primera vez Slawyk en 1899 y constituye la forma más frecuente de meningitis bacteriana en los niños, Lemierre en 1936 reconoció su importancia en la bronquitis obstructiva de lactantes y niños (31,89).

Este microorganismo se establece frecuentemente en la garganta de las personas sanas y se le considera como miembro de la flora habitual de las vías respiratorias superiores de muchas personas y, por lo tanto, el hombre es el único huésped natural conocido; debido a su hábitat el hombre puede actuar como portador asintomático faríngeo pero está también asociado con enfermedades de tipo crónico del tracto respiratorio (18,1943,84,122). Se pueden aislar cepas virulentas de la faringe de casi todas las personas normales; las cepas virulentas capsuladas se encuentran en enfermedades crónicas de los senos nasales, oído medio y de la faringe después de catarrros por virus (84,122). Estos microorganismos están diseminados en toda la población, de igual manera que está distribuido S. pneumoniae (122). H. influenzae es causante de diversas enfermedades en el hombre a nivel de vías respiratorias, y es la causa de una cierta proporción de casos de meningitis piógena aguda en los niños (43,84,137). Pothergill y Wright han demostrado que casi todos los adultos tienen en la sangre anticuerpos contra H. influenzae (122).

Como se puede ver, H. influenzae ha jugado dos importantes papeles en las enfermedades humanas (A) un papel secundario en las pandemias por virus de la influenza y (B) un papel primario produciendo enfermedades piógenas; este último ocurre con poca frecuencia en adultos; en cambio, en los niños, es uno de los más frecuentes (35).

H. influenzae tiene muchas propiedades comunes con S. pneumoniae. Ambos microorganismos son fundamentalmente invasivos y penetran en el organismo a través de las vías respiratorias, poseen cápsulas antifagocíticas formadas por polisacáridos; además, algunos de los antígenos capsulares de ambas especies dan lugar a reacciones cruzadas. Si estas especies crecen en medio artificial, presentan una tendencia a sufrir autólisis (31).

1.2 Características de Haemophilus influenzae.

H. influenzae pertenece al grupo hemoglobínófilo -- de la familia Brucellaceae (antiguamente Parvobacteriaceae) -- (18). Es un microorganismo inmóvil, no esporulado, Gram-negativo y capsulado en los cultivos jóvenes de las cepas virulentas (13,18,19,43,84,122). Se logra una buena tinción con el azul de metileno de Loeffler adicionado durante cinco minutos o con solución acuosa de fucsina al 10% durante cinco a diez minutos (18, 122,140). En ocasiones se observa algo de tinción bipolar característica, debido a la tendencia que tiene a las formas cocobacilares (9,13,18,43,84,122).

En los frotis de los productos patológicos aparece en forma de un bacilo muy pequeño, tanto que da la impresión de ser un cocobacilo; bajo los grandes aumentos del microscopio, se aprecia un bacilo típicamente pequeño, corto, grueso, de --- 0.5 a 2 micras de longitud y 0.2 a 0.3 micras de ancho (9,18,-- 19,84,89,140). Estas formas regulares pequeñas, se presentan en abundancia en las colonias lisas, en cultivos jóvenes y en la mayor parte de los exudados (122,137). En las colonias rugosas, en los cultivos viejos, en los exudados de las lesiones en ---

curación y particularmente en los fluidos cerebrospinales de los casos de meningitis, los microorganismos son muy pleomórficos, encontrándose formas coccoides, bastones rectos de extremos redondeados, solos o en pares y aún filamentos largos, es tan constante el hallazgo de estas formas que es la regla más que la excepción (18,19,43,84,122,137).

A veces el bacilo aparece en cadenas cortas y se toman erróneamente como Streptococcus sp. y S. pneumoniae. Junto con estas formas también es posible encontrar bacilos definidos, o pueden crecer en cadenas parecidas a filamentos (31,35).

Se ha comprobado que en un mismo cultivo se da esta diferencia morfológica, en el sentido de que las formas largas se observan en el agua de condensación de los tubos de agar sangre, y los más cortos en la superficie del medio, lejos del nivel del agua de condensación (140).

En los cultivos, la variedad en la forma de H. influenzae depende tanto del tiempo de incubación como de la composición del medio; en medios enriquecidos predominan las formas cocobacilares a las 6-8 horas de incubación; después se encuentran bacilos más largos, bacterias lisadas o muy pleomórficas (16,35,59).

Quando al agar de Levinthal se le añade 0.5 cm.³ de cultivo líquido de Levinthal y se incuba de 2 a 4 horas, la mayoría de los microorganismos son claramente de forma bacilar. También se ven algunas formas gruesas e irregulares, como si el protoplasma se distribuyera irregularmente, la formación de cadenas es común (35).

Las cápsulas se forman en los exudados, en los cultivos durante las primeras 6 horas de desarrollo en un medio apropiado y en secreciones de procesos infecciosos (84,122).

Las cepas virulentas poseen cápsulas que solo pueden demostrarse fácilmente durante las primeras 6 u 8 horas de incubación en los cultivos líquidos; esta cápsula se disuelve rápidamente en contacto con enzimas autolíticas y, por lo tanto, no es posible observarla en cultivos viejos (31,59). Los microorganismos capsulados que crecen durante 6 a 12 horas sobre un medio de agar transparente (medio de Levinthal) muestran colonias iridiscentes características cuando se examinan oblicuamente, respecto a la dirección de la luz que incide sobre ellas (31,89). También en la inoculación de una caja de agar de Levinthal con 0.5 cm³ de un cultivo líquido de Levinthal de 18 horas, da un crecimiento en 3 a 4 horas. La iridiscencia característica se presenta entre las 4 y 6 horas; esta cualidad se hace más fuerte durante las siguientes 2 horas y después empieza a decrecer, después de 24 horas la iridiscencia no se presenta. Paralelamente a este fenómeno la cápsula desaparece y el microorganismo se desintegra (35,65,70).

Hay razón para creer que estos tres cambios (la iridiscencia, la desaparición de la cápsula y la desintegración del microorganismo) que ocurren simultáneamente, son el resultado de la liberación de enzimas por la bacteria (35).

En caldo de Levinthal, los cambios en la morfología son similares, pero se observa menos pleomorfismo y la autólisis se lleva a cabo más lentamente (35,65,70). En general, después de 24 horas de incubación, desaparece la cápsula y la iridiscencia, contiene una gran cantidad de restos amorfos, y las formas reconocibles predominantes son muy pocas, cortas y se tiñen pobremente como cocobacilos, dando la impresión de que solo una parte del microorganismo toma el colorante (31,35,39).

Hay evidencia de autólisis que se incrementa aparentemente después de 12 horas. Primero el microorganismo se tiñe

más lentamente; después los restos amorfos predominan, indicando que el microorganismo se ha desintegrado (31,35,70,89). La autólisis y la destrucción capsular son consecuencia de la acción de las enzimas endógenas (31,89).

Las pruebas de hinchamiento de la cápsula se emplean para la tipificación de H. influenzae (35,59).

1.3 Metabolismo.

En Bacteriología, la palabra metabolismo tiene el mismo sentido que en Biología general: cambios químicos en estrecha relación con la vida. Sabiéndose que también el metabolismo de las bacterias tiene dos fases: anabolismo, o sea, procesos de tipo sintético (de proteínas por ejemplo), y catabolismo, o sea, procesos de desintegración (oxidación de un carbohidrato) (140).

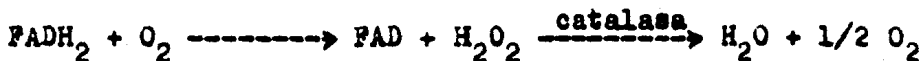
El género Haemophilus contiene las verdaderas bacterias hemófilas y hemoglobínófilas, así como microorganismos para los cuales la hemoglobina es un estimulante para el desarrollo pero no esencial (122).

Los dos factores necesarios para el desarrollo de H. influenzae, son: un factor designado como X, termoestable, y un factor V, termolábil; ambos factores se encuentran en la sangre total de distintas especies animales (84,115,140).

En 1921, varios autores identificaron casi al mismo tiempo el factor X como hamatina la cual es un derivado de la hemoglobina, sustancia usada por H. influenzae en la biosíntesis de las enzimas respiratorias que contienen fierro (citocromo, citocromo-oxidasa, catalasa y peroxidasa) y el cual puede ser substituído por cisteína (19,70,34,115,140). El factor X es suministrado por compuestos de tetrapirrol. La protoporfirina, la hematina (compuesto de fierro y protoporfirinas), y el hie--

ro libre de las porfirinas pueden servir como fuente del factor X (16).

Los microorganismos auxótrofos para la hematina, — que como H. influenzae son facultativos, presentan la particularidad de necesitar este factor de crecimiento solo en aerobiosis, o se llega a requerir solo en muy poca cantidad bajo condiciones anaerobias (Gilder y Granick, 1947) (65,70,115). Este — comportamiento se debe a que la hematina les es imprescindible para formar la catalasa, enzima que los protege contra la acción letal del perhidrol, que se produce en presencia de aire — por autooxidación de las coenzimas flavínicas FAD y FMN (115).



Conversión del ácido D-aminolevulínico (ALA) a porfirinas.

Esta prueba la recomendó Kilian (1974) como una — prueba alternativa, más rápida y segura para el aislamiento de cepas que requieren del factor X para su crecimiento (9,65,70). Este método se basa en la observación de que las cepas de — Haemophilus hemina-independientes, excretan porfobilinógeno y — porfirinas, los cuales son intermediarios en la ruta de la biosíntesis de heme (fig. 1), cuando se les proveen de ácido — d-aminolevulínico. Las cepas que requieren factor X no excre— tan estos compuestos por la falta de todas las enzimas envuel— tas en la biosíntesis de heme. También el porfobilinógeno y por— firinas pueden observarse por métodos simples, los cuales for— man la base de esta prueba (65,71). La porfirina se demostró — por la observación de la fluorescencia roja bajo la lámpara de Wood en caso positivo (71).

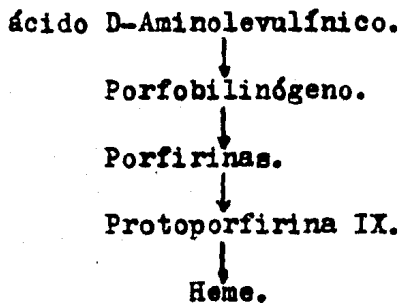
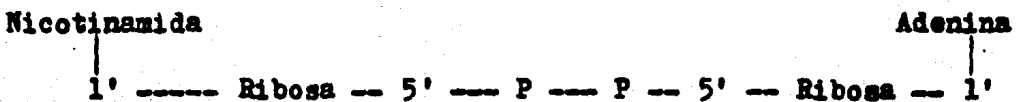


Fig. 1 Principales pasos de la vía biosintética del heme.

A. Lwoff y M. Lwoff (1936) identificaron al factor V como la coenzima I, cuya estructura química la habían establecido un año antes Euler y sus colaboradores (35). Esta sustancia llamada primeramente difosfopiridin nucleótido (DPN) y después nicotinamida adenindinucleótido (NAD), está formada por un ribonucleótido de la nicotinamida unido mediante un enlace éster-fosfórico a un residuo del ácido adenílico:



Junto con el NADP (fosfato de nicotinamida adenindinucleótido) o coenzima II, que se diferencia por poseer un tercer grupo fosfórico esterificado en posición 2 con la ribosa -- del resto adenílico, el NAD contribuye al grupo de los piridin-nucleótidos, coenzimas de deshidrogenasas que intervienen en -- muchos de los procesos metabólicos y son indispensables en la -- respiración del microorganismo (16,19,84,115,140).

Más tarde, los mismos autores observaron que la necesidad de H. influenzae respecto al NAD, puede satisfacerse -- con el ribósido de nicotinamida, lo cual demuestra que esta es la única parte de la molécula de la coenzima, que la bacteria -- es incapaz de sintetizar (115).

El NAD está también presente en algunos tejidos ani

males (extractos de órganos), en el jugo de limón, en vegetales como la papa y en extractos de levaduras, e indispensable en -- los procesos de óxido-reducción de la bacteria (84,140).

Es lógico pensar que estos dos factores (X y V) sirven a la bacteria para edificar los transportes necesarios para su respiración, ya que esta hipótesis se ha comprobado para H. influenzae al cultivarlo en el aparato de Warburg (70,140).

La falta de estos transportadores bloquea la respiración bacteriana, detiene la producción de la energía indispensable para la multiplicación e impide el crecimiento. Por el -- contrario, la adición de estos factores al cultivo hace reaparecer el crecimiento, de donde se deduce el interés de estos fenómenos en la fisiología bacteriana (140).

Reducción de nitrato a nitrito.

Una de las más consistentes características de H. influenzae es su capacidad para reducir nitratos a nitritos (-- 13,18,35,84). Prueba descrita por Cowan y Steel en 1965 (65,70). Hoagland usó la cuantificación de esta acción para medir el crecimiento de H. influenzae (35).

Producción de indol.

Del 40% al 50% de las cepas de H. influenzae producen indol (18). Los microorganismos capsulares pueden convertir triptofano en indol y utilizar los nitratos como aceptores finales de los electrones en ausencia de oxígeno; pero muchos de -- los no capsulados pierden esta propiedad (13,31,84,122). Se ha comprobado que es una característica demasiado variable para agregarla en la clasificación de estos microorganismos (35).

Solubilidad en bilis.

La solubilidad de H. influenzae en bilis, descrito

primero por Sellards y Sturn en 1919 y confirmado por Pittman - en 1931, dió a conocer otros puntos de similitud con S. pneumoniae. Esta acción es característica de ambas variedades patógenas y no patógenas de H. influenzae y, por lo tanto, no es de valor diferencial (35,104).

Fermentación de carbohidratos.

Khristensen reportó que H. influenzae producía ácido a partir de los carbohidratos, sugirió que este hecho podía ser responsable de la diversidad de opiniones concernientes a su capacidad de fermentar carbohidratos (35). Pero aún así se ha visto que la mayoría de las cepas de H. influenzae fermentan lentamente la glucosa dando como productos finales ácido succínico, ácido láctico y ácido acético, sin producción de gas; no fermenta la lactosa ni el manitol (18,84). La fermentación de la glucosa, sacarosa y lactosa, son pruebas importantes para la identificación de especies.

Actividad de la oxidasa y catalasa.

La mayoría de las cepas de H. influenzae son catalasa positiva y la reacción de la oxidasa, en todas las especies probadas, es positiva (65,92).

1.4 Estructura antigénica.

En 1931, Pittman mencionó que la elaboración de una sustancia específica soluble, distinguía a las cepas patógenas de las no patógenas dentro de H. influenzae. La identificación de esta sustancia, por precipitación con el suero específico, servía como un método para estudiar a las cepas dividiéndolas - en seis tipos designados, a, b, c, d, e y f (78,104,122).

Los seis tipos antigénicos de H. influenzae se basan en la presencia de polisacáridos capsulares, con peso molecular mayor de 150,000, los cuales son similares en actividad y estructura química a los polisacáridos de S. pneumoniae (16,40).

Cada tipo produce una sustancia específica soluble que también se encuentra en la cápsula (35,42,104).

Pittman reportó que Goebel encontró la sustancia específica soluble de tipo a, la cual era un polisacárido (35,78,104). En 1937 Hattie E. Alexander, usando la técnica de Neufeld, demostró el hinchamiento capsular, sugiriendo la localización de la sustancia específica dentro de la cápsula (78). Dingle y Fothergill (1939) reportaron la naturaleza polisacárida de la sustancia específica del tipo b (35,78). MacPherson (1946) estuvo de acuerdo en la naturaleza polisacárida de los tipos a y b, y reportó que esto era cierto para los tipos c, d y f también (35).

La observación de que por separación electroforética, la fracción cruda de las pentosas del ácido nucleico de H. influenzae tipo b, estaba acompañada por un material inmunológicamente activo, condujo a una investigación de las propiedades de la sustancia tipo específica de este microorganismo. Esta sustancia se encontró que no era un polisacárido, sino lo que podía ser considerado como una nueva clase de polímeros grandes naturales. En los cuales, los carbohidratos, en este caso la ribosa, estaban unidos uno a otro por enlaces diéster de ácido fosfórico. Los ácidos nucleicos son derivados de este tipo de compuestos (139). Zamenhof (1953) indicó que la sustancia específica capsular de H. influenzae tipo b con actividad inmunológica, estaba formada de un compuesto polirribosfato (1,35,42,52,124,100). Más tarde Zamenhof y Leidy (1954) estudiaron la sustancia específica, responsable de la especifici-

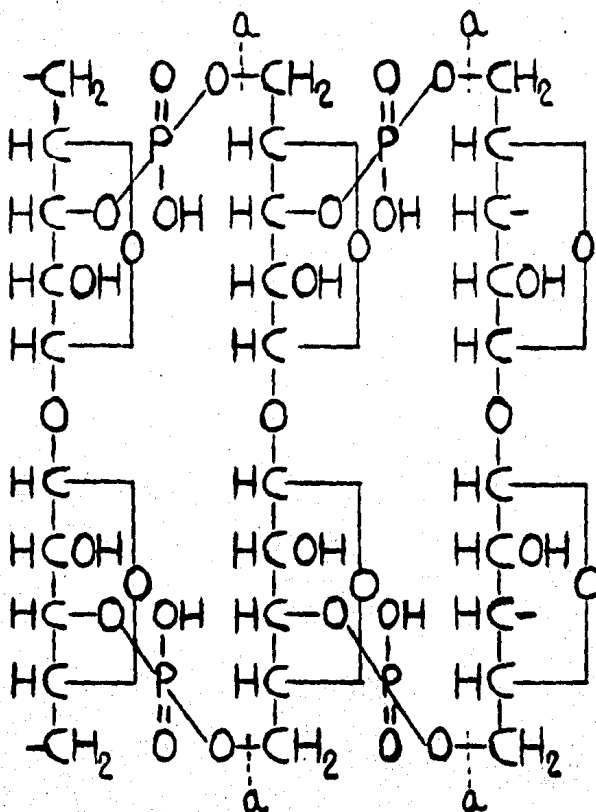
dad de tipo, viendo que no era un polisacárido en los tipos a, b y c, sino una forma de polícarbohidratos fosfatados. Con esto confirmaron los estudios realizados por Zamenhof en 1953 (35).

La evidencia presentada, sugiere que la substancia específica de H. influenzae tipo b, la cual puede separarse tanto de la fracción de DNA, como de las pentosas del ácido nucleico (PNA) presentes en los extractos de los microorganismos, es un polímero de ribosa-ácido fosfórico. Los puentes ésteres de ácido fosfórico que unen los residuos de pentosas, aparentemente no involucran al carbono No. 1 del carbohidrato. Uno de los enlaces del ácido fosfórico es estable al tratamiento suave con ácidos o álcalis; está probablemente localizado en el segundo o en el tercer carbono del carbohidrato. El segundo enlace fosfato se rompe por tratamiento con ácidos o con álcalis, y si se presume que el carbohidrato tiene la forma de la furanosa, este enlace está situado probablemente en el carbono No. 5.

El polirribofosfato (PRP) no es reductor, es degradado por álcalis a fragmentos fosforilados dializables, los cuales son no reductores. La evidencia experimental indica cómo el polirribofosfato tiene la estructura indicada en el esquema -- No. 1.

Se verá que la substancia está formada como una cadena de polirribofosfatos, conectada por 3:5 puentes ésteres de ácido fosfórico, para los cuales se enlaza una segunda cadena similar en 1:1' - enlaces glucosídicos. El producto de la degradación alcalina o ácida suave se considera, por lo tanto, como un disacárido-3,3'-difosfato, el cual después por desfosforilación enzimática deja un 1,1'-ribosa ribósido. No se ha podido confirmar todavía que el PRP tiene una estructura de rama o de bifurcación (con ambas cadenas bifurcadas en la posición 2 o 3,

o en la forma de fosfato terciario), ni hay razones estructurales para que su actividad inmunológica esté en esa condición -- (139).



ESQUEMA No. 1

Los tipos a, c y f de H. influenzae están formados por polihexosas o fosfatos de hexosamina; los tipos d y e son polisacáridos carentes de fósforo y azufre; y el tipo b es un polirribosfato (5,16).

Los polisacáridos tipos a, b y d son levorrotatorios, y las sustancias c y f son dextrorrotatorios (73). Acerca de los ácidos grasos que se encuentran son, láurico, mirísti

co y palmítico (39).

Análisis químico del lipopolisacárido (LPS) de H. influenzae tipo b.

El análisis químico del lipopolisacárido (LPS) de H. influenzae de los diferentes tipos, se encuentra resumido en las siguientes tablas (tabla 1 y tabla 2) (39).

Tabla No. 1

Contenido químico (en porcentajes) del lipopolisacárido de H. influenzae.

MATERIAL	Tipo de <u>H. influenzae</u> .					
	a	b	c	d	e	f
Proteína	...	0.3
Fosfato	...	4.7
Carbohidratos totales	32.0	30.0	24.4	38.0	30.8	27.2
Total de hexosas	...	23.0
Glucosa	...	2.5
Galactosa	...	2.5
Aminohexosa	...	4.3
Metilpentosa	...	0.0
Dideoxihexosa	...	0.0
Heptosa	8.2	8.0	7.1	10.4	9.3	6.4
2-ceto-3-deoxioctonato	0.7	0.4	0.9	1.5	0.9	0.6
Acidos grasos	...	29.3

Tabla No. 2.

Análisis en cromatografía de capa fina del lipopolisacárido de H. influenzae tipo b y de Salmonella typhosa.

Monosacárido	Valores del Rf.		
	Estandars	<u>H. influenzae</u>	<u>S. typhosa</u>
Glucosamina	0.166	0.161	0.161
Galactosamina	0.123
Galactosa	0.322	0.313	0.313
Glucosa	0.384	0.370	0.370
Manosa	0.389	0.370	0.370
Ramposa	0.559	0.554

Aunque todas las cepas de H. influenzae tipo b, — examinadas hasta la fecha parten del mismo polisacárido capsular, se han realizado estudios de la heterogenicidad de la cepa por las diferencias en la susceptibilidad de la intervención de los anticuerpos, la intervención del complemento y la actividad bactericida del suero. Esta heterogenicidad ha aumentado la variabilidad en los componentes superficiales no capsulares del microorganismo, como son, las proteínas de la membrana superficial o los lipopolisacáridos (10,56).

H. influenzae tipo b contiene tres clases principales de antígenos superficiales: el polisacárido capsular tipo b, el lipopolisacárido (LPS) y las proteínas de la membrana superficial (120). De estos antígenos superficiales, se conoce — que la cápsula tipo b sirve para la protección de la fagocitosis que se lleva acabo en ancianos, niños y adultos, pero la — cápsula no estimula la producción de los anticuerpos en el sue-

ro de la mayoría de los bebés menores de 18 meses de edad (2,-- 56,100,120,124).

Es poca la información disponible sobre los antígenos no capsulares de H. influenzae tipo b, pero recientemente -- la evidencia de los modelos en animales experimentales, sugirió que las proteínas de la membrana superficial o determinantes -- LPS, pueden ser también importantes en la inmunidad (1,10,56,-- 120,124).

Las características de los antígenos somáticos son poco conocidas. Platt (1939) aisló dos proteínas: una sustancia P (nucleoproteína interna), que constituye gran parte del -- soma bacteriano, la cual requiere destrucción del microorganismo para su liberación; y una sustancia M que es lábil, está en pequeña cantidad y se localiza en la superficie del microorga-- nismo; por lo tanto, actúa como un antígeno superficial, puesto que es liberada de los microorganismos intactos por lavados con solución salina (16,35,59). La sustancia M es tóxica para los animales y está comúnmente en todas las cepas, mientras que la -- sustancia P no es tóxica y se encuentra en diferentes cepas -- (16,35).

Las especies de H. influenzae contienen diferentes enzimas de restricción (endonucleasas), que son específicas de tipo para el polisacárido capsular y que permiten reconocer al DNA de otras cepas bacterianas. Por el momento, este conocimiento se utiliza como un marcador fino en los estudios de genética, no se ha establecido el papel de esta condición con los posibles mecanismos de producción o pérdida de la capacidad para sintetizar la cápsula bacteriana (5).

En años recientes Kilian, tomando en cuenta la dificultad para caracterizar todos los tipos de H. influenzae por -- métodos serológicos, propuso una clasificación en seis biotipos

(65,66,107). H. influenzae puede ser subdividido basándose en tres reacciones bioquímicas: producción de indol, actividad de la ureasa y actividad de la descarboxilación de la ornitina --- (tabla No. 3) (5,66,71).

Tabla No. 3

Diferenciación bioquímica en biotipos de H. influenzae

Biotipo	Indol	Ureasa	Ornitina descarboxilasa
I	+	+	+
II	+	+	-
III	-	+	-
IV	-	+	+
V	+	-	+
VI	+	-	-

Se ha visto que más del 90% de las cepas de H. influenzae tipo b pertenecen al biotipo I, viéndose que las cepas no capsuladas pertenecen a los biotipos II y III (5,65). Aunque, la determinación de los biotipos no es para distinguir entre la invasividad de una cepa u otra (10).

Las tres reacciones usadas para la subdivisión de estos biotipos son pruebas rápidas.

Como se muestra en la tabla No. 4, H. aegyptius - tiene las mismas características bioquímicas de H. influenzae

biotipo lll. Las características que pueden usarse en la separación de las dos especies incluyen: el pobre crecimiento in vitro de H. aegyptius (el crecimiento empieza muy escaso y en forma delineada), su capacidad para la aglutinación de eritrocitos y su incapacidad para la fermentación de xilosa. Sin embargo, ninguna de estas características podría diferenciar en forma inequívoca a las dos especies. Más la clasificación de ambas especies no es problema, ya que los datos clínicos indican que las dos especies son diferentes (71).

Tabla No. 4.

Diferenciación bioquímica de los biotipos de H. influenzae, H. aegyptius y H. segnis.

Especies y biotipos	Indol	Ureasa	Ornitina descarboxilasa
<u>H. aegyptius</u>	-	+	-
<u>H. influenzae</u>			
Biotipo I	+	+	+
Biotipo II	+	+	-
Biotipo III	-	+	-
Biotipo IV	-	+	+
Biotipo V	+	-	+
Biotipo VI	+	-	-
<u>H. segnis</u>	-	-	-

Se puede establecer el tipo de un cultivo puro de H. influenzae por medio de la reacción de hinchamiento capsular, por aglutinación de los microorganismos o precipitación de una sustancia soluble específica con un suero tipificado (35,89,104). El antígeno específico del tipo es responsable de estas tres reacciones y también de la estimulación de la pro-

ducción de anticuerpos protectores (35,104).

Es de gran interés que los tres tipos de H. influenzae (a, b y c) dan reacciones cruzadas con ciertos tipos de S. pneumoniae (Chapman y Osborne, 1942; Alexander, 1946) (35). Se ha observado que el tipo a de H. influenzae muestra reacción cruzada con el tipo 6 de S. pneumoniae, y el tipo c de H. influenzae muestra reacción cruzada con el S. pneumoniae tipo 11 (89). El tipo b de H. influenzae tiene reacción cruzada con S. pneumoniae tipo 6, 15A, 29 y 35B, siendo éste el patógeno más importante (2, 16, 39, 42, 49, 89, 100, 103, 124).

Los polisacáridos específicos de tipo son los responsables de la virulencia y de la producción de los anticuerpos protectores y reaccionan con éstos al realizarse el hinchamiento capsular, en la aglutinación y en las pruebas de precipitinas (16, 42, 78, 100, 104, 124).

Se necesita la integración física del polímero capsular de H. influenzae tipo b, polirribosfato (PRP), para el efecto de protección (39, 42, 104, 135). La presencia de cápsula es necesaria para aumentar la virulencia, debido al efecto anti fagocítico (39, 100, 103, 124, 135).

1.5 Productos extracelulares.

Algunos autores (Jordan, 1927; y Scott, 1929) trabajaron con las cepas de H. influenzae obtenidas de los pacientes con influenza durante la pandemia de 1918; mencionaron que la inoculación en animales de algunas cepas producía un gran daño debido a una toxina letal. Sin embargo, la cantidad de la dosis letal sugirió que el efecto de la toxina se debía a una endotoxina y no a una exotoxina (35).

H. influenzae no produce exotoxinas, su acción patógena se debe a la liberación de endotoxinas al destruirse el --

microorganismo; este material, que es termolábil y se destruye a 60°C en treinta minutos, juega un papel importante en la sintomatología de las enfermedades causadas por el bacilo (84).

Más tarde, la endotoxicidad la comprobaron DeClerq y Merigan, quienes usaron un extracto crudo de una cepa de H. influenzae tipo b la cual contenía heptosa y pentosa. Estos productos demostraron su potencialidad biológica por la reacción de Shwartzman y la letalidad en el ratón (39).

La presencia de la cápsula en las cepas virulentas juega un papel muy importante en la supervivencia del bacilo, - ya que ello impide o bloquea la fagocitosis y, consecuentemente, impide la destrucción enzimática del microorganismo (84). - H. influenzae secreta una gran cantidad de polisacárido capsular que se acumula en cantidades identificables en la sangre y líquido cefalorraquídeo durante la fase aguda de la enfermedad; el polisacárido capsular soluble neutraliza los anticuerpos específicos tempranos, bloquea la acción opsonica del primer anticuerpo elaborado y demora la aparición de la inmunidad específica adquirida (89,122). La cantidad producida de catalasa está regulada por la cantidad de hemina que se encuentre presente en el medio. Se producen hemoaglutininas en pequeñas cantidades (122).

H. influenzae es uno de las cinco especies bacterianas conocidas que producen proteasas, enzimas que específicamente se unen a la gran cadena Ig A₁ humana.

Las proteasas son enzimas proteolíticas altamente específicas que se han identificado en ciertas bacterias, son capaces de causar enfermedades en los humanos. Las proteasas son producidas por H. influenzae, N. gonorrhoeae, N. meningitidis, S. pneumoniae y S. sanguis, estas enzimas tienen la capacidad única para hidrolizar las proteínas Ig A₁ humanas. Las protea-

sas son endopeptidasas neutrales y su actividad puede distinguirse de las enzimas microbianas de otros tipos por su capacidad para unirse a la Ig A₁ humana dentro de los fragmentos Fab α y Fc α que no sufren degradación secundaria.

Las cepas de H. influenzae producen tres distintos tipos de proteasa que se unen en diferentes ligaduras peptídicas dentro de la región principal de la Ig A₁. La proteasa tipo 1 se une en la cadena en la posición 231-232 del proilil-seril; la proteasa tipo 2 se une en la cadena en la posición 235-236 del proilil-treonil, al igual que las cadenas atacadas por la proteasa tipo 2 de N. gonorrhoeae y N. meningitidis. La proteasa tipo 3 produce una única hendidura del modelo Fd; las uniones exactas en las cadenas peptídicas no se han determinado. El tipo de la proteasa producida, se correlaciona con el serotipo, pero no con el biotipo de las cepas de H. influenzae ni con el origen clínico del aislamiento. Los serotipos a, b, d y f producen la proteasa tipo 1, mientras que los serotipos e y c producen solamente la enzima tipo 2. Las cepas no tipificables de H. influenzae producen la proteasa tipo 3.

H. influenzae es el único miembro del género Haemophilus que produce esta enzima, las especies de Haemophilus no patógenas son Ig A proteasa negativa (14,93).

El Dr. Falkow ha descubierto que las cepas de H. influenzae pueden producir beta-lactamasa y que esta capacidad se debe a que poseen un plásmido específico, la evidencia indirecta para sugerir esto, es que H. influenzae lo adquirió de plásmidos donados por Escherichia coli o algunos otros microorganismos similares con los cuales se encuentra comúnmente (67).

Debido a esto se ha considerado la elaboración de una vacuna, la más efectiva contra H. influenzae tipo b, que debe prepararse con una alta cantidad de protección contra las enfermedades serias causadas por este microorganismo. Las determina--

ciones del tamaño molecular, el contenido de endotoxina, los títulos de los anticuerpos, y la ausencia de reacciones adversas para la vacuna, deben ser las bases para la evaluación de los nuevos productos preparados (101,124).

La consideración de los antígenos superficiales no capsulares como posibles componentes de una vacuna contra H. influenzae tipo b está comprobada (1,120,124). Esto ha contribuido a obtener anticuerpos directos contra los antígenos superficiales de H. influenzae tipo b y en otros casos contra el polirribosfato (PRP) (4,124).

De las cepas de H. influenzae tipo b se aíslan moléculas de alto peso, las cuales forman un complejo soluble, en el cual el PRP se encuentra combinado con la proteína (alrededor de un 7% de proteína) y con el lipopolisacárido (LPS) (1,2,3,56). La asociación LPS-proteína que se encuentra presente en el complejo puede ser covalente o no, dicha asociación se sabe bien que aumenta la potencialidad de la inmunogenicidad de los polisacáridos capsulares, que si se utiliza solamente para la vacuna el PRP purificado (1,3). El complejo polisacárido-proteína (PC) de H. influenzae tipo b produce una gran respuesta de anticuerpos hacia el polisacárido capsular (PRP) (1,2,56). También el PC produce anticuerpos hacia los antígenos (no capsulares) somáticos de las cepas capsuladas de H. influenzae tipo b (1,56). El PC es efectivo en la activación de los linfocitos T en la sangre periférica de los humanos (1,2).

El LPS de H. influenzae es endotóxico y tiene una actividad biológica comparable con las endotoxinas enterobacterianas (39).

El LPS de H. influenzae parece similar biológicamente al de las enterobacterias, pero químicamente es diferente.

El PRP de H. influenzae tipo b se obtiene durante el crecimiento en la fase estacionaria del cultivo, ya que en -

la forma en que se encuentra, es altamente inmunogénico (1,3).

La asociación de las proteínas y el LPS de la membrana superficial de la bacteria Gram-negativa, es un hecho bien establecido. Los complejos de la membrana superficial, que también incluyen al polisacárido capsular, se han descrito recientemente (3,10).

Es un hecho conocido, que varias preparaciones ribosomales obtenidas de una gran variedad de microorganismos, se han probado y encontrado eficaces como vacunas potenciales para prevenir enfermedades en animales de experimentación. Lynn y Sotolorovsky en la Universidad de Rutgers USA fueron los primeros en mencionar que los ribosomas son antígenos alternos, que inducen un alto grado de inmunidad contra la enfermedad letal por H. influenzae; estos mismos autores informaron en artículos científicos subsecuentes, que los ribosomas están libres de material capsular y componentes de pared celular contaminantes, y que la proteína ribosomal es la responsable de la inmunogenicidad apreciada (5,76,127).

Iam y colaboradores iniciaron la búsqueda y la selección de los adyuvantes que cumplan con los dos prerrequisitos, incremento en la inmunogenicidad de las fracciones subcelulares y seguridad para su uso en humanos (5,70,74). Por el momento ellos evaluaron inmediatamente el efecto del polisacárido de M. tuberculosis; enseguida, de las sales de calcio y aluminio, extractos de plantas (saponinas) y por último, dentro de la categoría de adyuvantes bacterianos, la vacuna de Bordetella pertussis -- (en la vacuna difteria-pertussis-tétanos) y Corynebacterium parvum (1,4,5,70,74,124).

En fin, para establecer una vacuna que sea efectiva contra la meningitis causada por H. influenzae tipo b se deben de tener en cuenta los siguientes aspectos que son: 1) --

preparaciones ribosomales; 2) conjugados proteínicos con polisacárido capsular; 3) complejo polisacárido capsular-vacuna de Bordetella pertussis y finalmente 4) la combinación de PRP, proteína y IPS, principalmente proteínas de la pared celular (1,4,5,70,73,74,119,124).

1.6 Resistencia a los agentes físicos y químicos. Mecanismos de resistencia a los antibióticos en H. influenzae.

H. influenzae se destruye fácilmente por exposición a 50-55°C, durante treinta minutos. La desecación y el frío, -- así como la luz solar, los destruye en poco tiempo. Las cepas -- son altamente sensibles a la acción de los desinfectantes comunes y a las sales biliares (18,84,89,122). En los cultivos y a la temperatura del laboratorio se destruye en tres o cuatro días (140). Los cultivos se conservan con dificultad, pero los microorganismos se pueden mantener vivos y virulentos por pasajes frecuentes en agar chocolate, o conservados en el congelador si se suspenden en tubos de sangre de conejo totalmente desfibrinada. Se preservan mejor por liofilización (122).

Los mecanismos de resistencia a los antibióticos en H. influenzae, generalmente se relacionan con la presencia de plásmidos "R". Estos plásmidos se han caracterizado molecularmente, cuando menos al estudiar los que codifican para la resistencia a la ampicilina (Ap), cloramfenicol (Cm), tetraciclina (Tc) y kanamicina (Km) (32,37).

Los fenotipos de estos factores "R" son muy variables, ya que pueden presentar un solo determinante de resistencia (Ap), hasta varios ligados a una sola especie molecular de plásmidos como es el caso de la resistencia a Cm-Tc-Ap (5).

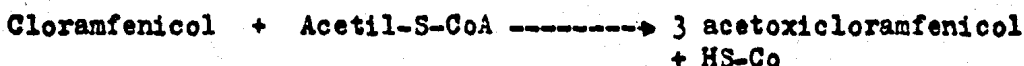
El determinante genético involucrado en la resistencia a la ampicilina es el transposón TnA, secuencia de DNA de --

doble cadena capaz de transponer de un replicón a otro, o en un mismo replicón, por lo que la transposición se puede dar, de -- plásmido a plásmido, de plásmido a cromosoma y de cromosoma a -- plásmido (32, 37).

El TnA corresponde a una secuencia de DNA de 5,000 pares de bases, flanqueada por secuencias invertidas (IR) de 38 pares de bases cada una.

El transposón en cuestión codifica para tres productos, dos de ellos encargados de regular el proceso de transposición y un tercero que es la beta-lactamasa, enzima que rompe el anillo beta-lactámico y/o cefalosporánico, confiriendo la resistencia a los antibióticos antes señalados.

La resistencia al cloramfenicol se lleva a cabo por la enzima acetil-transferasa, que cataliza la siguiente reacción:



Esta enzima podía estar codificada por el transposón Tn 9; Davis y col. en 1978, reportaron que la resistencia a la tetraciclina en H. influenzae la lleva a cabo el transposón Tn 10, transposón que posee la información necesaria para que el antibiótico no penetre al interior de la célula bacteriana, o en su defecto, para que se de un aumento en la secreción del antibiótico hacia el medio externo.

La resistencia a la kanamicina la demostraron Dang Van y col. en 1975, ya que encontraron que el determinante de resistencia residía en un plásmido transferible, pero no se ha descrito cuál de las enzimas "inactivantes" de los aminoglucósidos es la responsable de la resistencia.

El estudio de transferencia genética de los determinantes de resistencia, ha permitido demostrar que en H. influen

zoe los plásmidos involucrados pueden ser donados por conjugación, por transformación y por transducción como sistemas de transferencia genética, que en un momento dado pueden explicar la diseminación de los diferentes plásmidos "R" (5).

CAPITULO II.

MENINGITIS.

2.1 Factores predisponentes.

Existen factores predisponentes que influyen directa o indirectamente en la presentación de cuadros de meningitis, pero que de ninguna manera explican en forma absoluta por qué predominan ciertos agentes infecciosos en determinadas etapas de la infancia (83).

Un agente piógeno invasor puede tener acceso al espacio subaracnoideo después de una infección general y bacterémica (29).

Comúnmente las meningitis son primarias, aunque a veces son secundarias, constituyendo complicaciones de otras enfermedades (132).

Los factores predisponentes para que H. influenzae tipo b pueda llegar al Sistema Nervioso Central y produzca meningitis son:

- 1.- Fracturas de base de cráneo (traumatismo) y septicemia.
- 2.- Infecciones de vías aéreas superiores.
- 3.- Otitis media aguda y crónica.
- 4.- Bronconeumonía y neumonía.
- 5.- Laringitis y laringotraqueítis.
- 6.- Punción lumbar, cirugía neurológica y anestesia espinal.
- 7.- Enfermedades debilitantes. (sarampión, tosferina).
- 8.- Antibióticos. (abuso de los mismos).
- 9.- Inmunodeficiencias y administración de drogas inmunodepresoras.
- 10.- Edad.
- 11.- Estado nutricional.
- 12.- Infecciones intestinales.

1.- Fracturas de base de cráneo (traumatismos) y septicemia.

Los traumatismos craneoencefálicos en el niño revisten especial importancia por su frecuencia y por sus particulares manifestaciones clínicas, ya que pueden ser muy variadas de acuerdo con las estructuras anatómicas que afecten (132).

Como se ha mencionado, la meningitis causada por H. influenzae tipo b generalmente es consecuencia de una enfermedad supurativa en cualquier otro sitio: ocasionalmente H. influenzae tipo b se introduce directamente, como sucede después de una fractura expuesta del cráneo o un cuerpo extraño penetrante, este padecimiento ocurre más frecuentemente en niños y por lo común en los pacientes con infecciones supurativas crónicas de sinusitis paranasal, otitis media crónica, otomastoiditis y mastoiditis, cavidad nasal y senos accesorios (frontal, esfenoidal) infectados (7,20,57,63).

Las fracturas de la base del cráneo se clasifican en: (a) con desplazamiento de los fragmentos, y (b) sin desplazamiento de los mismos; ambas pueden ser primarias o presentar extensiones de las fracturas de la bóveda (29,132).

Las meninges se afectan en gran número de fracturas del cráneo, hundidas o lineales, simples o expuestas (20,29,132). Importan dos hechos: la ruptura de la duramadre en una zona del piso anterior (senos frontales, lámina criboides), o de la región petromastoidea y se asocia con frecuencia a la producción de meningitis purulenta y aún de abscesos cerebrales; o bien cuando la duramadre se desgarrar puede desencadenar el síndrome de erosión craneocerebral, que también se conoce con el nombre de quiste leptomeníngeo, favorecido por los movimientos pulsátiles del cerebro que erosiona las márgenes del defecto óseo, en tanto que éste, a su vez, lesiona las zonas cerebrales correspondientes (29,132).

Los huesos del cráneo y la duramadre, que sirven como el periostio interno del cráneo, protegen a la cavidad craneal contra la penetración de bacterias. Pero este mecanismo de protección falla si hay supuración en el oído medio, en las células matoides o en los senos paranasales (frontal, etmoidal o esfenoidal), o por vía de extensión perineural o perivascular (24,57,128). En el material de autopsia se ha encontrado dos vías de infección intracraneal desde estos puntos.

1.- Se pueden formar trombos infectados en las venas diploicas y diseminarse a lo largo de estos vasos a los senos duros (a los cuales afluyen), y desde aquí ir al cerebro en forma retrógrada, a lo largo de las venas meníngeas (63,128).

2.- Puede formarse un foco osteomielítico con erosión de la tabla interna del hueso e invasión de la duramadre, del espacio subdural, de la píoaracnoides y a veces de la substancia cerebral. Algunas de estas vías pueden demostrarse en ciertos casos mortales de absceso epidural, empiema subdural, meningitis, sinusitis de las venas del cráneo, tromboflebitis meníngea y absceso cerebral. Sin embargo, en muchos casos de autopsia, no se puede determinar la vía.

Después de los cuatro o cinco años de edad, el cerebro (al cual siempre se acomoda el cráneo) casi tiene su tamaño adulto, y las suturas se encuentran tan firmemente cerradas que la enfermedad adquirida posteriormente tendrá poco efecto sobre el cráneo (128).

En las infecciones hematógenas durante las septicemias, habitualmente es un solo microorganismo virulento el que penetra a la cavidad craneal (S. pneumoniae, H. influenzae tipo b o N. meningitidis). Por lo tanto H. influenzae tipo b puede llegar al Sistema Nervioso Central por el torrente sanguíneo, mediante la producción de una verdadera septicemia (24,57,82).

Como se ha mencionado, casi todas las infecciones - piógenas del contenido craneal se originan por propagación hema- tógena (émbolos de bacterias o trombos infectados), debido a -- que la vía más frecuente de diseminación es la hematógena (53,- 57,82,128).

Es sorprendentemente poco lo que se sabe acerca de la vía hematógena, porque el material de autopsia en la especie humana rara vez divulga información al respecto y los experimen- tos en animales por medio de la inyección de bacterias virulen- tas en la corriente sanguínea han dado resultados un tanto con- tradictorios. En la enfermedad pulmonar supurativa crónica, los trombos venosos sépticos constituyen émbolos bacterianos, los - cuales por vía hematógena pueden llegar al cerebro, y en la en- docarditis bacteriana aguda y subaguda se encuentran émbolos -- bacterianos en las arterias cerebrales y meníngeas (128).

2.- Enfermedades de vías aéreas superiores.

Las enfermedades de las vías aéreas superiores son extraordinariamente frecuentes en las primeras etapas de la in- fancia y suelen tener repercusiones locales o generales de im- portancia (132).

El sitio invadido con mayor frecuencia, es el apara- to respiratorio y el microorganismo identificado en la mayoría de las enfermedades es H. influenzae tipo b, que es una de las - causas más frecuentes de faringitis en los niños y tiende a per- sistir muchos días a menos que se trate adecuadamente. La enfer- medad de la porción superior de las vías respiratorias produci- da por H. influenzae tipo b se lleva a cabo por vía nematógena, de donde llega a extenderse hacia la nasofaringe (135).

La nasofaringitis, la cual por vía interna llega a producir una conjuntivitis, es de las manifestaciones clínicas

de evolución espontánea y trivial más frecuente. Este es un foco de infección que antecede a la diseminación cuando los mecanismos de inmunidad local o humoral, se encuentran inoperantes o son superados (5,48,114). Por lo tanto, la meningitis también es secundaria a un proceso infeccioso localizado en aparato respiratorio (11,57).

Un reflejo de lo mencionado, se hace evidente en población aparentemente sana, en donde es posible aislar de nasofaringe a H. influenzae tipo b en el 10-15% de individuos, en este caso no más del 2% de las cepas de H. influenzae son beta-lactamasa positivas (5).

La fig. No. 2 nos muestra como están relacionadas varias enfermedades de las vías respiratorias con la meningitis (132).

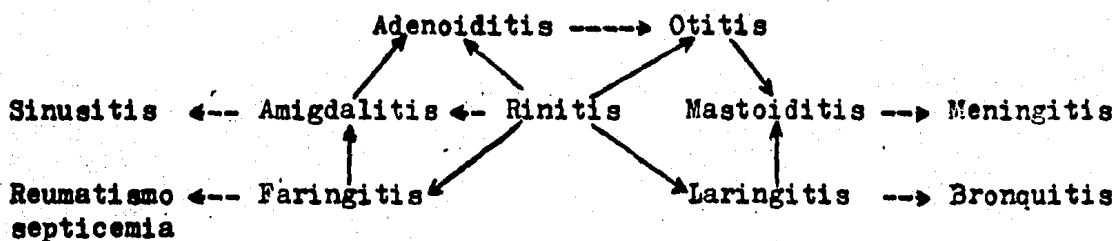


Fig. No. 2 Esquema de las complicaciones de las enfermedades -- de las vías respiratorias superiores.

También se llegan a presentar enfermedades severas intracraneales como la meningitis, en forma secundaria a abscesos del tabique nasal. Esta complicación se presenta durante una mala terapia y se debe a la comunicación de las venas con la zona dañada, como son las venas angulares, venas oftálmicas y también las venas etmoidales que se comunican con el seno cavernoso y la zona dañada. Fig. No. 3 (36).

Moxon realizó experimentos con cepas de H. influenzae tipo b y observó que en ratas bebés a menudo se llegaba a desarrollar bacteremia después de una inoculación intranasal y también se desarrollaba meningitis (36,135).

Zona de riesgo

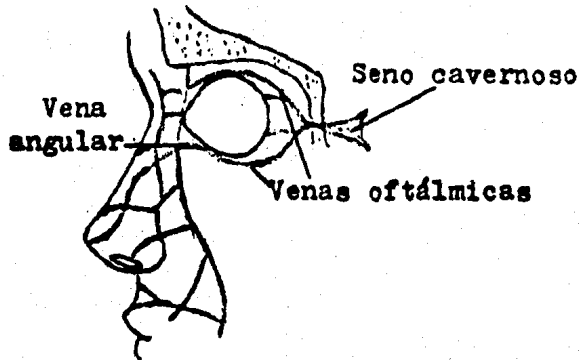
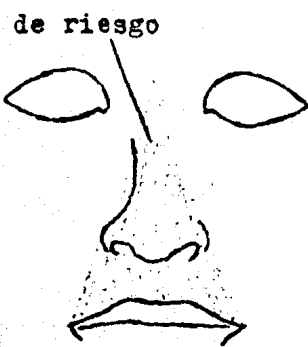


Fig. No. 3 Izquierda. Cualquier infección en el área sombreada tiene potencialidad para propagarse por la posible comunicación intracraneal. Derecha. Las venas angulares y oftálmicas son válvulas. Se muestra la comunicación del área nasal con el seno cavernoso. Las venas etmoidales (no ilustradas) también llegan al interior nasal y van hacia el seno cavernoso.

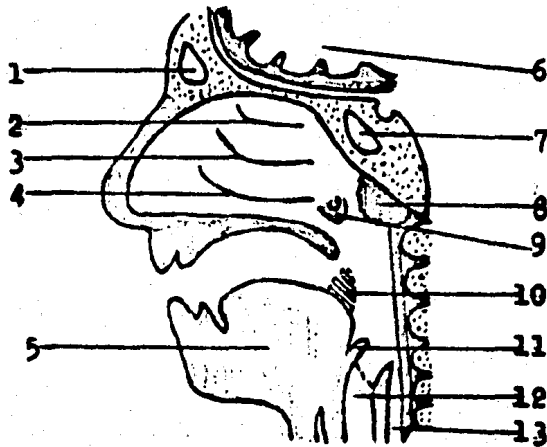


Fig. No. 4 Esquema anatómico de la rinofaringe que muestra las relaciones vecinas. 1, Seno frontal; 2, Cornete superior; 3, Cornete medio; 4, Cornete inferior; 5, Lengua; 6, Cerebro; 7, Seno esfenoidal; 8, Adenoides; - 9, Orificio faríngeo de la trompa de Eustaquio; 10, Amígdala faríngea; 11, Epiglotitis; 12, Laringe y - Tráquea; 13, Esófago.

3.- Otitis media aguda y crónica.

H. influenzae tipo b es una causa común de otitis media supurativa en el niño; este cuadro raramente se presenta en adultos, en el primer caso representa del 20-35% en la etiología de la otitis, la mayoría son no tipificables, H. influenzae tipo b varía del 5-20%, esto es un antecedente positivo previo en niños que desarrollan meningitis o septicemia (5,114,123, 128).

Cuando se ordena un tratamiento para la otitis media en los preescolares (2-5 años de edad) y en los lactantes (de 2 meses a 2 años de edad) debe tenerse en cuenta la posibilidad de que se encuentre una septicemia. La terapia elegida puede acortar el período de duración de la septicemia (si está presente) y quizás pueda prevenir complicaciones tales como meningitis, ya que durante la terapia puede llegar a desarrollarse (Ver Fig. No. 2) (109).

4.- Bronconeumonía y neumonía.

En la bronconeumonía y neumonía, H. influenzae tipo b tiene importancia si se considera que este microorganismo es esencialmente de vías aéreas y que es capaz de producir bacteremia, y como las meningitis parecen ser habitualmente secundarias a una bacteremia por este microorganismo, es por esto que la bronconeumonía y neumonía son también enfermedades predisponentes a la meningitis (54). La bacteremia se observa en la tercera parte de los casos, aproximadamente (128).

H. influenzae afecta principalmente al grupo de menores de dos años de edad, el cual es también el grupo en el que se presenta la mayor incidencia de meningitis purulenta y entendido este fenómeno por el esquema de Fothergill, resulta llamativa la dificultad de poder encontrar tempranamente a H. influenzae tipo b como agente frecuente de bronconeumonía y neumonía en el lactante y sólo se llega a detectar cuando la enfer

medad ya está avanzada.

El hecho de que la meningitis purulenta sea una complicación muy frecuente durante el desarrollo de la bronconeumonía o neumonía, sugiere fuertemente la probabilidad de que sean, o el foco primario de la bacteremia que da origen a la meningitis, o por lo menos, una manifestación focal respiratoria que, en determinados casos se sigue de bacteremia y, a su vez, de este grupo de bacterémicos, un determinado porcentaje llegue a tener meningitis purulenta. De ser así, el problema de las enfermedades por H. influenzae tipo b adquiere un sesgo de especial transcendencia: (a) las meningitis por este agente serían menos si se les realizara a tiempo un hemocultivo a los niños que presenten bacteremia así como aquellos que no tengan los signos claros de una bacteremia, excepto cuando hay signos claros de una bronconeumonía o una neumonía que responda mal al tratamiento con penicilinas, y (b) si existiera un modo de detectar la etiología de una bronconeumonía o una neumonía inicial, se podrían prevenir casos de meningitis (54). Además, H. influenzae tipo b tiene una acción destructora sobre el epitelio bronquial (35).

5.- Laringitis y laringotraqueitis.

La totalidad del árbol laringotraqueobronquial puede ser el asiento de una enfermedad previa a la producción de meningitis por H. influenzae tipo b, hecho que se traduce por obstrucción progresiva y rápida de las vías respiratorias (Fig. No. 5) (128,129).

Tradicionalmente se considera a estos procesos como exclusivos de H. influenzae tipo b, sin embargo, algunos virus como los de la parainfluenza y de la influenza son más frecuentes, o bien, quizá exista algún sinergismo (no probado) entre -

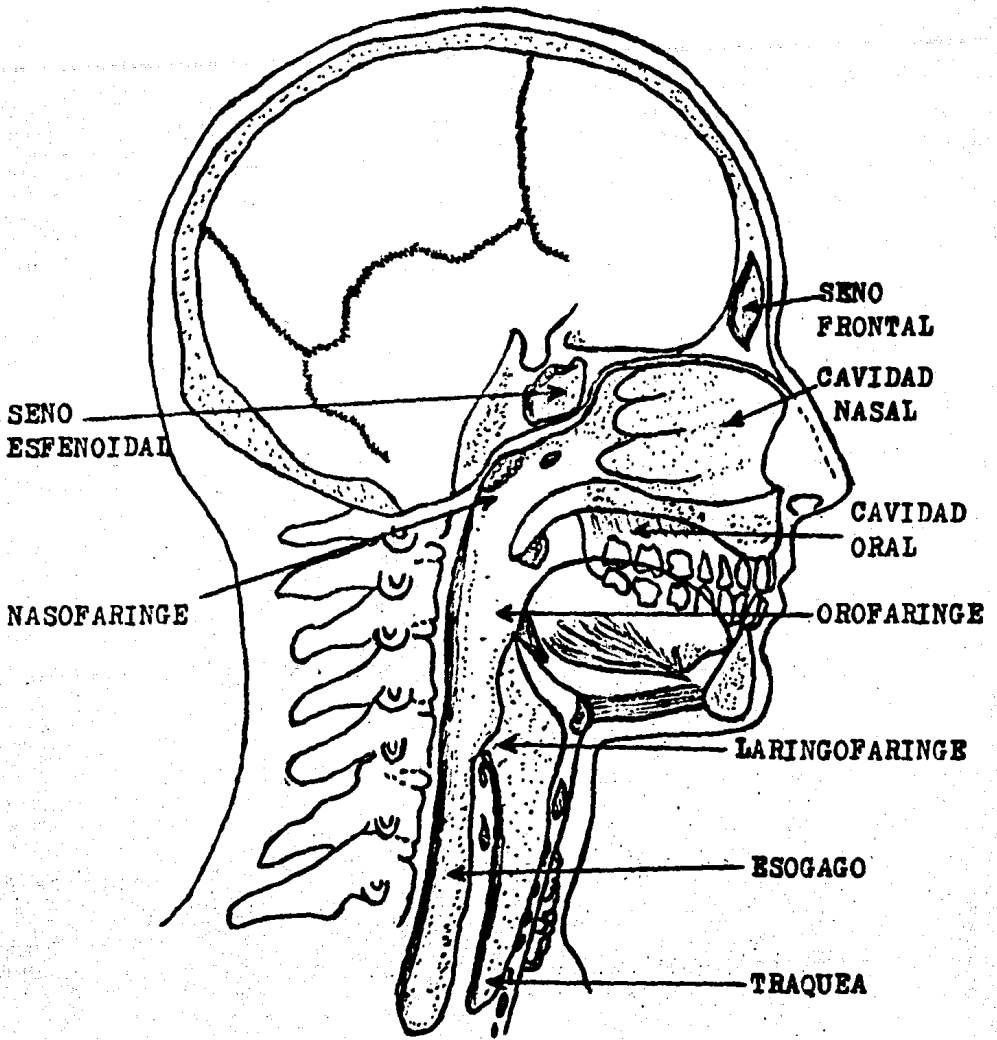


Fig. No. 5 Sección sagital de la cabeza, de la cavidad nasal de recha, el cuello y parte superior del tórax.

ambos (5,38).

6.- Punción lumbar, cirugía neurológica y anestesia espinal.

La punción lumbar es esencial para descubrir meningitis o hemorragia subaracnoidea, y es útil para otros fines -- diagnósticos como son estudios y bacteriología del líquido cefalorraquídeo, estudios radiológicos de contraste y también con fines terapéuticos como son la introducción de medicamentos -- (33,112).

La frecuencia con que se realiza una punción lumbar en presencia de una septicemia, ha originado que durante ésta se introduzca accidentalmente en el canal espinal H. influenzae tipo b, produciéndose una enfermedad meningea mortal (19,126,-- 133).

Pero la septicemia no es una contraindicación para realizar la punción lumbar, porque el alto riesgo de omitirla y dilatar el diagnóstico de la meningitis, es probablemente una consecuencia mucho mayor que el posible riesgo de causar una meningitis con una punción lumbar (126,133).

El número de enfermos con padecimientos susceptibles de tratamiento neuroquirúrgico es relativamente pequeño, pero dada la variedad de agentes infecciosos y las diferentes lesiones que pueden causar, este campo sigue planteando serios problemas al neurocirujano (112). Sin embargo, sobre todo en el paciente neuroquirúrgico, hay que tener presente el posible empeoramiento neurológico del enfermo, cuando este contiene una masa patológica focal como absceso, tumor, hematoma o anomalías congénitas del cráneo, o bien cuando se le extrae líquido cefalorraquídeo por vía espinal (112,132). A este paciente le puede sobrevenir cualquier complicación, como la meningitis, en donde H. influenzae tipo b puede llegar al Sistema Nervioso Central.

La anestesia espinal muy raramente se utiliza en niños, pero cuando se llega a utilizar también sirve para que este microorganismo tipo b penetre al Sistema Nervioso Central -- (33,112).

7.- Enfermedades debilitantes. (Sarampión y tosferina).

H. influenzae tipo b aparece con frecuencia como invasor secundario en otros estados patológicos, como la neumonía que sigue al sarampión (19). También se encuentra como invasor secundario en enfermedades como escarlatina, viruela y tosferina (18).

El sarampión es una enfermedad aguda predominante - en la infancia, es de carácter endémico, pero se llegan a presentar epidemias al final del invierno o principios de la primavera y causa manifestaciones de vías respiratorias; es una enfermedad muy frecuente en nuestro país. Como se puede observar, el microorganismo se puede relacionar con esta enfermedad debido a muchos factores, como son la edad, las estaciones del año y las manifestaciones de las vías respiratorias; es por esto -- que la meningitis se puede presentar en un lactante o en un -- preescolar tratado en forma inadecuada y con antecedentes de -- sarampión.

La tosferina es otra enfermedad que se presenta --- principalmente desde recién nacidos hasta los cinco años de --- edad, el microorganismo ataca las vías respiratorias superiores, y como ya se vió puede ser un factor predisponente para -- que H. influenzae tipo b pueda causar la enfermedad.

La escarlatina como la viruela, también son enfermedades propias de la niñez y los lugares donde comienza a evolucionar son en las vías respiratorias superiores, ya que en ambas enfermedades la puerta de entrada es el tracto respiratorio

y el lactante y el preescolar se encuentran susceptibles a contraer estas enfermedades, que pueden llegar a ser causa de meningitis en los casos no tratados (83).

3.- Antibióticos. (Abuso).

H. influenzae tipo b es un patógeno responsable de gran número de enfermedades humanas, siendo más frecuentes como ya se ha mencionado, las del tracto respiratorio superior e inferior (5).

Tradicionalmente, como se había venido utilizando para el tratamiento de enfermedades causadas por este microorganismo a algunas ampicilinas, se ha visto que aproximadamente hace unos cinco años, empezaron a aparecer cepas resistentes. Esto se debe a que en nuestro medio se presenta mucho la automedicación y por lo regular uno de los antibióticos de mayor uso es la ampicilina, teniendo un empleo indiscriminado. Se emplean además ampicilinas en malas condiciones, aplicadas por una vía inadecuada, o también se administra cuando se tratan procesos febriles sin conocer el diagnóstico (5,83).

Debido a esto, algunas cepas son productoras de beta-lactamasa y no responden al tratamiento con ampicilina llegando a extender la infección hasta causar meningitis en el lactante o preescolar (83).

9.- Inmunodeficiencia y administración de drogas inmunodepresoras.

Se lleva a cabo la terapéutica inmunodepresora en aquellas enfermedades autoinmunes que se presentan durante la infancia principalmente, como puede ser la anemia hemolítica inmune y las leucemias agudas y esto contribuye a que el lactante o preescolar inmunodeprimido sea susceptible a meningitis --

por H. influenzae tipo b (83,132).

Los pacientes con defectos en la inmunidad humoral tienen infección pulmonar crónica o recurrente, meningitis y -- septicemia, casi siempre causada por bacterias piógenas como -- H. influenzae tipo b, S. pneumoniae y Staphylococcus sp.. Este espectro de infecciones es similar al que ocurre en pacientes -- con respuestas inmunes normales (53,128).

La hipoglobulinemia gamma transitoria de la infan-- cia, la deficiencia aislada de Ig A, y la deficiencia aislada -- de Ig M son otras de las enfermedades que contribuyen a que el lactante y el preescolar se encuentran susceptibles a cualquier infección por H. influenzae tipo b y pueda presentarse un caso de meningitis (128).

10.- Edad.

Las meningitis bacterianas ocurren con más frecuen-- cia en la infancia que en cualquier otra edad, además de ser un padecimiento de alta letalidad, la que varía de 10-15% en el -- lactante. Cuadro No. 1 (11,57,85,94,121).

La etiología varía con el grupo de edad considera-- do, debido a que existe una distribución característica según -- los grupos etarios (57).

En lactantes de dos a seis meses de edad, el 73% de las meningitis purulentas obedecen a S. pneumoniae y H. influen-- zae tipo b y 18.5% a enterobacterias (94). Entre las edades de 7 meses a 5 años, el 83% corresponde a H. influenzae tipo b y -- S. pneumoniae (4,57,69,85,94,123). Este último predomina en los niños mayores de cinco años y en los adultos jóvenes (Cuadro No. 2, No. 3, No. 4 y No. 5) (57).

Cuadro No. 1

Agente etiológico y letalidad en 205 casos de meningitis purulenta. Hospital de Infectología. Centro Médico La Raza. IMSS. (1954-1973).

Agente etiológico	No. de casos.	Defunciones	%
<u>Streptococcus pneumoniae</u>	65	30	46.1
<u>Haemophilus influenzae</u>	56	9	16.1
<u>Salmonella sp.</u>	15	5	33.3
<u>Neisseria meningitidis</u>	11	6	54.5
<u>Pseudomonas aeruginosa</u>	11	9	81.8
<u>Escherichia coli</u>	10	7	70.0
<u>Klebsiella pneumoniae</u>	9	5	55.5
<u>Staphylococcus aureus</u>	6	2	33.3
<u>Streptococcus pyogenes</u>	6	3	50.0
<u>Enterobacter aerogenes</u>	5	4	80.0
<u>Proteus sp.</u>	5	1	20.0
<u>Streptococcus faecalis</u>	3	0	0.0
<u>Alcaligenes faecalis</u>	1	1	100.0
<u>Paracolobactum</u>	1	1	100.0
<u>Listeria monocytogenes</u>	1	0	0.0
Total	205	83	40.5

Cuadro No. 2

Etiología más frecuente de meningitis bacterianas en relación con la edad.

Recién nacido	Lactante hasta 5 años	5 a 45 años	Más de 45 años
<u>E. coli</u>	<u>Haemophilus influenzae</u> tipo b	<u>S. pneumoniae</u>	<u>S. pneumoniae</u>
<u>Streptococcus del grupo B</u>			Bacilos Gram negativos
<u>Proteus sp.</u>	<u>S. pneumoniae</u>	<u>N. meningitidis</u>	
<u>Klebsiella-</u>			
<u>Aerobacter</u>	<u>N. meningitidis</u>		raramente <u>N. meningitidis</u>
<u>Pseudomonas aeruginosa</u>			
<u>Listeria monocytogenes</u>			
<u>Salmonella sp.</u>			

Rev. Fac. Med. Méx. 18(11), 1975. Guías Diagnóstico Terapéuticas, IMSS, 1981.

Cuadro No. 3

Frecuencia y distribución de agentes etiológicos de las meningitis purulentas de acuerdo con la edad, 1963-1968.

Microorganismos	# de casos	30 días	Grupos de edad.			
			1-2 meses	2-23 meses	2-6 años	6 años
<u>S. pneumoniae</u>	53	5	10	28	8	2
<u>H. influenzae</u> tipo b	25	-	-	24	1	-
<u>Streptococcus</u> sp.	12	2	1	6	2	1
<u>Staphylococcus</u> sp.	10	-	2	5	2	1
<u>Klebsiella</u> sp.	10	2	3	3	2	-
<u>E. coli</u>	9	4	3	2	-	-
<u>Proteus</u> sp.	9	3	1	3	-	2
<u>Ps. aeruginosa</u>	5	2	-	3	-	-
<u>Salmonella</u> sp.	4	-	2	2	-	-
<u>N. meningitidis</u>	3	-	-	2	1	-
<u>Micrococcus</u> sp.	3	-	-	3	-	-
<u>Paracolobactum</u> sp.	1	-	-	1	-	-
Difteroides	1	-	1	-	-	-

Manual de Pediatría. Valenzuela R.H., 1975.

Cuadro No. 4

Especies bacterianas aisladas en 205 casos de meningitis purulentas. Hospital de Infectología. Centro Médico La Raza. IMSS. (1954-1973).

Agente causal	Edad (años)						
	1	1-4	5-14	15-24	25-44	45-64	65
<u>S. pneumoniae</u>	31	9	6	3	10	6	0
<u>H. influenzae</u> tipo b	44	11	1	0	0	0	0
<u>Salmonella</u> sp.	12	2	0	0	1	0	0
<u>N. meningitidis</u>	2	3	1	1	2	1	1
<u>Ps. aeruginosa</u>	4	2	0	0	2	2	1
<u>E. coli</u>	5	0	0	1	0	1	3
<u>Klebsiella</u> sp.	8	0	0	0	1	0	0
<u>S. aureus</u>	0	2	0	0	2	1	1
<u>S. pyogenes</u>	3	0	2	0	0	0	1
<u>E. aerogenes</u>	3	0	0	0	0	2	0
<u>Proteus</u> sp.	4	0	1	0	0	0	0
<u>S. faecalis</u>	1	0	0	0	2	0	0
<u>A. faecalis</u>	0	0	1	0	0	0	0
<u>Paracolobactum</u>	0	1	0	0	0	0	0
<u>L. monocytogenes</u>	1	0	0	0	0	0	0

Cuadro No. 5

Distribución de los agentes etiológicos de acuerdo con la edad.
1971-1977.

Microorganismos	Grupo de edad					
	# de casos	2 meses	2-6 meses	7-24 meses	2-5 años	6 años
<u>S. pneumoniae</u>	70	9	30	18	10	3
<u>H. influenzae</u> tipo b	72	-	29	32	10	1
<u>Streptococcus</u> sp.	9	3	2	4	-	-
<u>S. aureus</u>	7	-	2	2	-	3
<u>Micrococcus</u> sp.	5	1	2	1	-	1
<u>N. meningitidis</u>	1	-	1	-	-	-
<u>Klebsiella</u> sp.	20	12	4	4	-	-
<u>Salmonella</u> sp.	16	8	7	1	-	-
<u>Proteus</u> sp.	12	11	1	-	-	-
<u>Pseudomona</u> sp.	12	8	3	1	-	-
<u>E. coli</u>	11	10	-	1	-	-
<u>Citrobacter</u>	2	2	-	-	-	-

Hospital de Pediatría. Centro Médico Nacional. IMSS.

Como se puede observar, las infecciones por enterobacterias son más frecuentes en las edades extremas de la vida; H. influenzae tipo b prevaleció en los menores de cinco años y especialmente en lactantes menores de un año. Este fenómeno está relacionado con la aparición del poder bactericida contra H. influenzae tipo b, en el suero de niños mayores de cinco años - (57,85).

En el cuadro No. 5 se mostró una estadística de los agentes etiológicos con respecto a la edad, que se llevó a cabo en el Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional del IMSS (94).

11.- Estado nutricional.

La influencia de ciertos factores sociales, económicos o culturales, contribuye en gran parte a proporcionar los hábitos inadecuados de alimentación, causa directa de que exista en el país desnutrición en el 50% de la población menor de cinco años Fig. No. 6 (83).

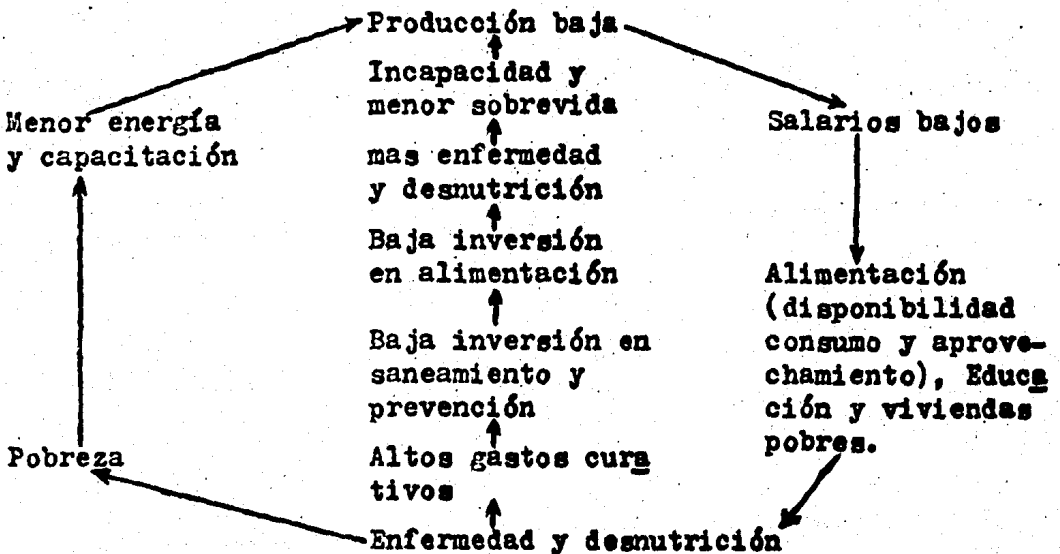


Fig. No. 6

Por lo tanto, hay una deficiencia y/o desequilibrio entre los nutrientes (calorías, proteínas, vitaminas y minerales), dando origen a que los lactantes y preescolares se encuentren susceptibles a la presencia de meningitis por H. influenzae tipo b (83).

12.- Enfermedades intestinales.

Las meningitis también son secundarias a procesos infecciosos digestivos, como pueden ser: diarrea aguda infecciosa, gastroenteritis aguda, enteritis y enterocolitis aguda, debido a la facilidad con que H. influenzae tipo b pasa del intestino a la circulación sanguínea (83,99).

Como se puede observar, cada uno de los factores -- predisponentes influyen de una u otra manera (Cuadro No. 6), para que se lleve a cabo la meningitis producida por H. influenzae tipo b, principalmente en la población pediátrica, lactantes y preescolares por ser ésta una edad en la cual se está muy expuesto a cualquier tipo de infección (11).

Cuadro No. 6

Antecedentes patológicos.

	Por ciento
Enfermedades de vías respiratorias	33.3
Enteritis	20.4
Mielomeningocele	7.2
Traumatismo craneoencefálico	4.8
Hidrocefalia congénita	1.3
Onfalitis	1.0
Herida quirúrgica infectada	0.9
Infección de vías urinarias	0.6
Síndrome de Down	0.3
Hernias generalizado	0.3

Hospital de Infectología Del Centro Médico La Raza. 1972-1978 .

2.2 Epidemiología.

La epidemiología de las meningitis bacterianas guarda relación directa con la epidemiología de muchas otras enfermedades como la gastroenteritis y enfermedades de vías respiratorias, ya que pueden ser su puerta de entrada (46).

La puerta de entrada, en orden de importancia, es la respiratoria y/o la digestiva, con menor frecuencia, cutánea, urinaria y traumática (20,46,69,83)

La explicación de que por qué la vía respiratoria y digestiva son las dos vías principales, es que estos dos sistemas son en donde con mayor frecuencia se presentan procesos infecciosos en el lactante y preescolar y con frecuencia la sintomatología se refiere principalmente al sitio de entrada y enmas cara los signos o síntomas de ataque inicial al Sistema Nervioso Central (20,83).

El mecanismo de transmisión es fundamentalmente por contacto directo, a partir de secreciones respiratorias, a través de gotitas expulsadas al toser, hablar o estornudar, tanto de portadores asintomáticos como de enfermos y, ocasionalmente, puede llevarse a cabo por objetos, alimentos y bebidas contaminadas con secreciones. También puede producirse en forma endógena por la flora microbiana del paciente (del 40 a 60% de las meningitis son causadas de esta forma), y en el huésped comprometido (inmunodeprimido) (20,57,69,84,121,137,140).

El hombre es el único huésped natural de este microorganismo, pudiendo actuar como portador asintomático faríngeo o bien presentar enfermedades de tipo crónico sobre todo a nivel de senos nasales, oído medio y faringe (137,140).

Los niños son especialmente susceptibles a la enfermedad por el tipo b del microorganismo, adquiriéndola probablemente por contacto con adultos sanos (105,137,140).

Epidemiológicamente, el lactante y preescolar representan la fuente de diseminación más frecuente de H. influenzae tipo b y S. pneumoniae, ya que más del 3 a 5% de la población infantil es portadora asintomática. En cambio sólo 0.8% de niños mayores de cinco años y 0.4% de adultos son portadores de H. influenzae tipo b en nasofaringe. Cuadro No. 7 y No. 8 (5,--46,83).

Cuadro No. 7

Prevalencia de bacterias capsuladas en niños sanos menores de tres años de edad.

Bacterias	Casos
<u>Streptococcus</u> B hemolítico A	3/213
<u>Streptococcus</u> B hemolítico B	5/213
<u>Streptococcus pneumoniae</u>	27/213
<u>Streptococcus</u> B hemolíticos (C,D,F,G).	6/213
<u>H. influenzae</u>	43/213

Frontera de Investigación. Universidad Autónoma Metropolitana. 1981.

Cuadro No. 8

Prevalencia de bacterias capsuladas en 421 adultos sanos.

Bacterias	Casos
<u>Streptococcus</u> B hemolítico A	12/421
<u>Streptococcus</u> B hemolítico B	25/421
<u>Streptococcus pneumoniae</u>	118/421
<u>Streptococcus</u> B hemolíticos (A,D,F,G).	14/421
<u>H. influenzae</u>	130/421

Frontera de Investigación. Universidad Autónoma Metropolitana. 1981.

2.3 Patogenia

El Sistema Nervioso Central es sitio frecuente de infecciones, y una de ellas es la meningitis (24).

Las meningitis son causadas, en orden de frecuencia, por virus, bacterias, parásitos y hongos, que invaden al Sistema Nervioso Central por diferentes vías. Cuadro No. 9 (19,83).

Cuadro No. 9

Virales	{	Transmitidas de hombre a hombre	{ Poliovirus Coxsackie B ₅ Adenovirus Herpes simple Parotiditis Mononucleosis	
		Transmitidas por animales al hombre	{ Rabia Coriomeningitis-linfocítica	
Bacterianas	{	Purulentas	{ <u>S. pneumoniae</u> <u>H. influenzae</u> tipo b <u>E. coli</u> <u>Klebsiella</u> sp. <u>Proteus</u> sp. <u>Streptococcus</u> sp. <u>Ps. aeruginosa</u> <u>Staphylococcus</u> sp. <u>Salmonella</u> sp. <u>N. meningitidis</u>	
			Tuberculosas	{ <u>Mycobacterium tuberculosis</u> <u>Mycobacterium bovis</u>
Parásitos	{	Cisticercosis Amibiasis Toxoplasmosis		
Hongos	{	Candidiasis Aspergilosis		

Clasificación etiológica de las meningitis.

En nuestro medio, la frecuencia de microorganismos aislados en casos de meningitis bacterianas, de acuerdo a lo observado en varias publicaciones nacionales y lo correspondiente a cuatro hospitales del D.F. en diversas fechas, se notó que S. pneumoniae y H. influenzae tipo b son las dos bacterias más frecuentes que producen meningitis purulenta en niños de la ciudad de México, seguidos por otros microorganismos Gram-positivos o Gram-negativos. Cuadros No. 10, 11, 12 y 13 (11,19,20,46, 57,69,85,94,99,132). Sin embargo, el grupo de microorganismos Gram-negativos tiene elevada incidencia en los niños pequeños, en tanto que los microorganismos Gram-positivos predominan en los niños mayores, lo que distingue esto de otras publicaciones del extranjero. Contrasta además la baja frecuencia de N. meningitidis, que en otros países ocupa lugar prominente (35,69,132).

La explicación para estas diferencias radica probablemente en las pobres condiciones higiénico-ambientales en las que vive nuestra población; además de agregar la condición social, ya que la mayor incidencia de ellas se registra en niños de familias de bajos recursos socioeconómicos y culturales, que viven en barrios o zonas en malas condiciones sanitarias y de higiene (69,83,132).

Cuadro No. 10

Microorganismos identificados en líquido cefalorraquídeo en niños con meningitis purulenta en varios hospitales de la ciudad de México.

Microorganismos	Hospital Infantil (1961)		Hospital General SSA (1968)	
	# de casos	%	# de casos	%
<u>S. pneumoniae</u>	56	28	39	39
<u>H. influenzae</u> tipo b	30	15	27	27
<u>E. coli</u>	12	6	2	2
<u>Klebsiella sp.</u>	-	-	2	2
<u>Proteus sp.</u>	-	-	2	2
<u>Streptococcus sp.</u>	3	1	16	16
<u>Ps. aeruginosa</u>	-	3	2	2
<u>S. aureus</u>	7	4	7	7
<u>Salmonella sp.</u>	8	1	-	-
<u>N. meningitidis</u>	2	2	1	1
Otros Gram-negativos	5	2	3	3
Total	123		101	

Cuadro No. 11

Microorganismos identificados en líquido cefalorraquídeo en niños con meningitis purulenta en varios hospitales de la ciudad de México.

Microorganismos	Hospital de Pediatría GMN. IMSS. (1963-1971)		Hospital de Infec- tología, Centro - Médico La Raza. (1970-1972)	
	# de casos	%	# de casos	%
<u>S. pneumoniae</u>	106	17.4	14	33
<u>H. influenzae</u> tipo b	56	9.1	17	39
<u>E. coli</u>	18	2.9	1	2
<u>Klebsiella</u> sp.	16	2.6	1	2
<u>Proteus</u> sp.	16	2.6	1	2
<u>Streptococcus</u> sp.	14	2.3	2	5
<u>Ps. aeruginosa</u>	13	2.1	-	-
<u>S. aureus</u>	13	2.1	-	-
<u>Salmonella</u> sp.	11	1.8	4	9
<u>N. meningitidis</u>	8	1.3	2	5
Otros Gram-negativos	9	1.5	-	-
Total	280		42	

Cuadro No. 12

Agente etiológico en 205 casos de meningitis purulenta. Del -
1 de enero de 1969 al 31 de diciembre de 1973.

Agente etiológico	No. de casos
<u>S. pneumoniae</u>	65
<u>H. influenzae</u> tipo b	56
<u>Salmonella sp.</u>	15
<u>N. meningitidis</u>	11
<u>Ps. aeruginosa</u>	11
<u>E. coli</u>	10
<u>K. pneumoniae</u>	9
<u>S. aureus</u>	6
<u>S. pyogenes</u>	6
<u>E. aerogenes</u>	5
<u>Proteus sp.</u>	5
<u>S. faecalis</u>	3
<u>Alcaligenes faecalis</u>	1
<u>Paracolonobactum</u>	1
<u>Listeria monocytogenes</u>	1
Total	205

Hospital de Infectología del Centro Médico La Raza. IMSS.

Cuadro No. 13

Meningitis.

(1972-1978)

<u>Etiología</u>	<u>No. de casos</u>	<u>Por ciento</u>
<u>Mycobacterium tuberculosis</u>	212	42.4
<u>H. influenzae</u> tipo b	90	18.0
<u>S. pneumoniae</u>	89	17.8
<u>E. coli</u>	32	6.4
<u>Salmonella sp.</u>	17	3.4
<u>Klebsiella sp.</u>	12	2.4
<u>Proteus sp.</u>	9	1.8
<u>Ps. aeruginosa</u>	7	1.4
<u>S. aureus</u>	7	1.4
<u>N. meningitidis</u>	6	1.2
<u>S. pyogenes</u>	6	1.2
<u>Enterobacter sp.</u>	6	1.2
<u>S. viridans</u>	3	0.6
<u>A. faecalis</u>	2	0.4
<u>Citrobacter sp.</u>	1	0.2
<u>Fusobacterium russi</u>	1	0.2

Hospital de Infectología del Centro Médico La Raza del IMSS.

En los hospitales infantiles, la meningitis causada por H. influenzae tipo b, es una de las formas más frecuentes - que se presenta en forma no epidémica (19,84).

En los Estados Unidos Americanos han aumentado las admisiones de casos de meningitis causadas por H. influenzae tipo b, como se puede observar en el Hospital Infantil de Pittsburgh durante los años de 1940-1970. Fig. No. 7 (87,123).

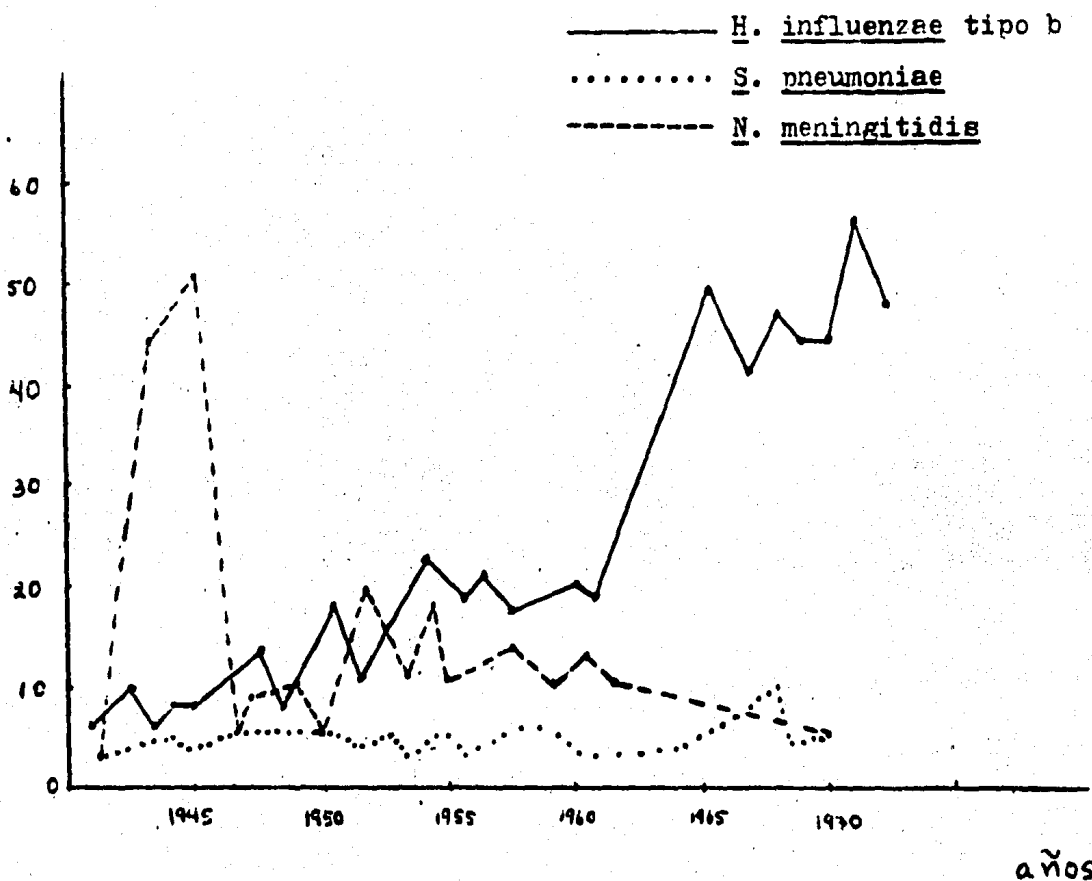


Fig. No. 7 Comparación de meningitis causadas por H. influenzae tipo b, S. pneumoniae y N. meningitidis.

A) Mecanismos de patogenicidad de Haemophilus influenzae tipo b.

Los miembros del género Haemophilus representan un ejemplo de parasitismo estricto, su importancia biológica se hace evidente tanto en humanos como en otros vertebrados. Los microorganismos no patógenos (no capsulados) forman parte de la flora normal de las vías respiratorias superiores (5,59).

H. influenzae tipo b solo infecta al hombre en forma natural. La frecuencia de las infecciones es mayor durante el invierno y comienzos de la primavera. En los cultivos de exudados de nariz y garganta realizados durante dichas estaciones, se encuentran los microorganismos en muchos individuos asintomáticos. El tratamiento penicilínico aumenta la frecuencia de cultivos positivos de la garganta en una población (83,128,132). - Juega dos importantes papeles en las infecciones humanas: un papel secundario en pandemias por virus de la influenza (como ya antes se mencionó) y un papel primario produciendo enfermedades piógenas; este último es poco frecuente en adultos, pero en los niños es uno de los más frecuentes en casos de enfermedades piógenas serias (35).

Algunas especies tienen un reconocido papel patógeno para el humano, el protipo de ellas es H. influenzae tipo b, el cual puede aislarse de una gran variedad de procesos patológicos fundamentalmente en población pediátrica (5,30,45,114).

En muchos casos, los efectos patógenos se ejercen en grado variable mediante dos o tres mecanismos, de acuerdo con la bacteria involucrada, en el caso que nos ocupa, la patogénesis se lleva a cabo mediante dos efectos que son, la interferencia de la fagocitosis y la producción de endotoxinas. La interferencia de la fagocitosis se observa por tener sustancias no tóxicas, como el polisacárido capsular tipo b (PRP), la proteína M, etc, que se encuentran situadas en la cápsula y en la

membrana del microorganismo, como ya antes se explicó lo protegen así de la fagocitosis.

Los efectos más importantes de la endotoxina de H. influenzae tipo b son: (a) letal; (b) pirogénicos; (c) fenómeno de Shwartzman; (d) fenómenos vasculares y hemodinámicos; (e) fenómenos metabólicos; (f) inmunitarios inespecíficos; y (g) citotóxicos (33).

La razón por la que H. influenzae tipo b presenta con prontitud una septicemia, se debe a la presencia del polisacárido capsular como una mayor determinante de la virulencia (1,44,92,135).

Por razones que no se han definido, la incidencia de las enfermedades sistémicas causadas por H. influenzae tipo b ha aumentado durante los últimos años (124).

Las enfermedades son siempre causadas por cepas capsuladas y virtualmente, aquéllas que elaboran el polisacárido -- capsular tipo b, y es por esto que el serotipo b es el responsable de la mayoría de las enfermedades graves, como meningitis y septicemia. Aproximadamente el 90% de las meningitis son causadas por H. influenzae tipo b con este microorganismo que, como ya se ha mencionado, coloniza la porción superior del aparato respiratorio, los niveles de colonización suelen ser del 5%, aunque en algunos casos, se elevan cuando la población se pone en contacto con niños enfermos o en centros hospitalarios; ya que para la mayoría de los agentes etiológicos, la fuente de infección es el humano enfermo o el portador (4,5,10,11,19,35,46,--69,80,84,88,92,93,94,97,100,101,120,123,124,128,135).

La colonización en la nasofaringe y en la orofaringe se considera que es un paso primario crítico en la patogénesis de las enfermedades invasivas (7,49,103,107). Guerina y colaboradores realizaron estudios con cepas de H. influenzae tipo b aisladas de casos clínicos y observaron que algunas poseían -

pili, sugiriendo que éste juega un papel importante en la adherencia y en la colonización de las células de la orofaringe (38,49). En los lactantes y preescolares, primeramente infecta las superficies mucosas (la nasofaringe y la orofaringe), en las cuales la defensa del huésped es mediada principalmente por la Ig A que se produce y el microorganismo lleva a cabo su rompimiento debido a que produce una proteasa de tipo 1 y utiliza como substrato a la Ig A humana de la subclase Ig A₁ (como ya antes se mencionó) y este factor contribuye a su patogenicidad (93,103,135).

En contraste, los anticuerpos que se encuentran en el suero y que contribuyen a prevenir al huésped frente a las enfermedades son las inmunoglobulinas C, A y M, aunque siempre predomina en el suero la Ig M (2,56,103).

Los anticuerpos que se producen, se ha demostrado que sirven para prevenir la colonización en la nasofaringe y en la orofaringe de otros patógenos bacterianos y en algunos casos para proteger al huésped de enfermedades subsecuentes (103).

Por lo explicado anteriormente, las cepas de H. influenzae tipo b comúnmente causan infecciones sistémicas, debido a que tienen la potencialidad de invadir el flujo sanguíneo o las meninges (92).

En los lactantes y preescolares la susceptibilidad a enfermedades sistémicas con H. influenzae tipo b se correlaciona en forma elevada con la ausencia en el suero de anticuerpos frente a la cápsula tipo b, ya que los niños durante los dos primeros meses de vida tienen un alto título de anticuerpos transferidos pasivamente por la madre. Entre las edades de dos meses a tres años, la mayor parte de los niños muestran pocos o nada de anticuerpos, pero con la edad va aumentando su nivel (3,92,103,128,135).

Por lo general, los microorganismos tipo b causan la meningitis, aunque se han llegado a encontrar algunos casos debidos a los tipos a, c y e que también pueden causar meningitis (17,33).

Las características de H. influenzae tipo b que se han analizado, realmente no permite establecer que estas cepas poseen características únicas de virulencia, ya que está relacionada al incremento de la invasividad y a la gran supervivencia en la corriente sanguínea (1,5,92,100).

El diagrama No. 1, muestra los mecanismos de patogenicidad de H. influenzae tipo b y la participación del huésped en el establecimiento de la infección, así como la evolución hacia la depuración, estado de portador o a formas clínicas graves (5).

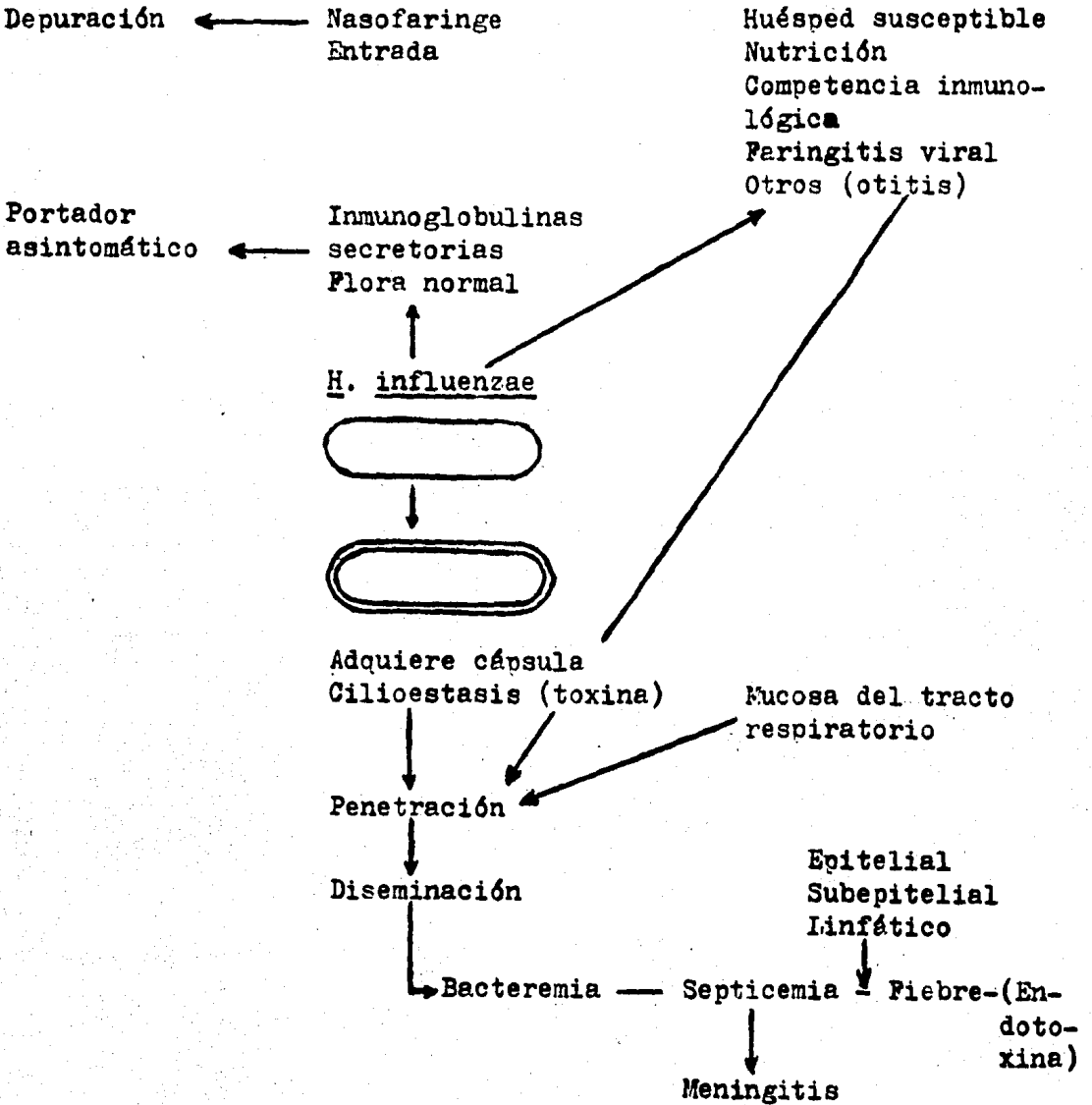
B) Mecanismo de patogenicidad de H. influenzae tipo b en meningitis.

La invasión al Sistema Nervioso Central puede llevarse a cabo por vía hematógica y/o directa.

Vía hematógica: la vía de infección en los casos de meningitis infecciosa es generalmente la hematógica. Casi siempre existe un período septicémico preliminar que puede, en ocasiones, pasar inadvertido o bien expresarse sólo por discretas alteraciones como fiebre moderada, rinitis o faringitis (7,132). Es por esto que es un hecho bien conocido que la mayor parte de las meningitis son secundarias a focos de infección extraencefálicos, los que dan lugar a un proceso septicémico ocasionando trombos sépticos que se instalan en los vasos capilares de los plexos coroides, iniciándose en esos momentos la infección bacteriana. En este lugar, el patógeno ocasiona una respuesta local que se manifiesta por congestión y edema, lo que se traduce en aumento de la presión intracraneana y trastorno -

Diagrama No. 1

Mecanismo de patogenicidad de Haemophilus influenzae.



en el retorno venoso que origina más congestión y edema. Esto se refleja en la clínica por irritabilidad, movimientos anormales de los ojos, alteraciones de deglución y succión, a sí como alteraciones de la esfera emotiva y de conciencia. Después de esta etapa, si el proceso continúa, se instala una fase exudativa en la que hay flebitis y periarteritis de los vasos cerebrales.

La acumulación de exudado en la base, a nivel de cisternas interpendiculares y cisterna magna, da lugar a un aumento de los signos encefálicos, aumenta la irritabilidad y se hacen más aparentes los signos de irritación meníngea. También puede dar lugar a signos de hipertensión; sin embargo, estos son de aparición variable y dependerán de la edad del paciente y de la presencia o ausencia de fontanela, ya que si se trata de un lactante, es más fácil observar fontanela abombada que signos de hipertensión intensa con edema papilar (46,132).

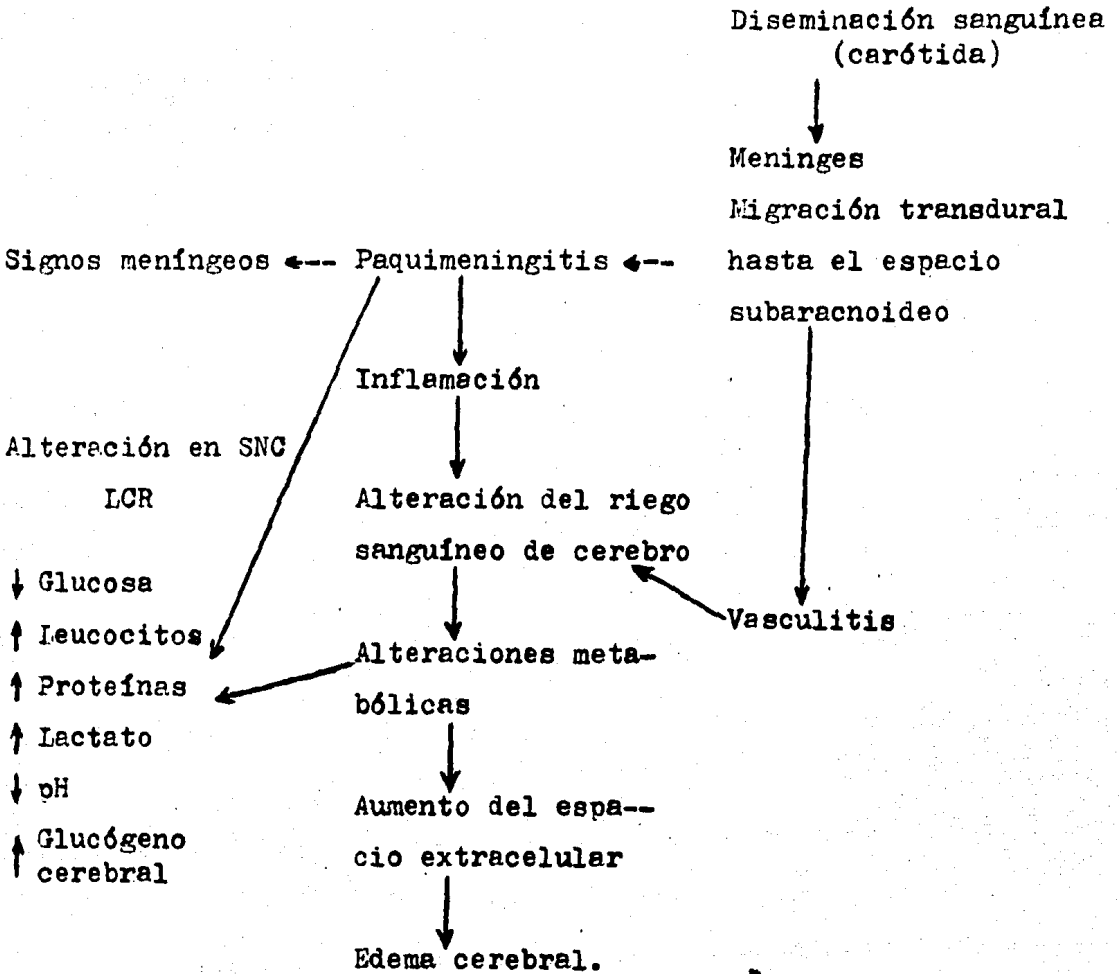
El diagrama No. 2, presenta la secuencia de eventos que participan en el establecimiento de meningitis por H. influenzae tipo b, hasta la aparición franca de alteraciones en el LCR.

Vía directa: cuando la vía de entrada de la enfermedad es directa o por continuidad, no hay fase septicémica, ya que el patógeno se instala directamente en el encéfalo, iniciándose de inmediato las reacciones locales de congestión y edema y ulteriormente todos los signos ya comentados (5,46).

Los factores del huésped tienen importancia fundamental en la patogenia de esta enfermedad, puesto que la mayoría de los niños con bacteremias o infecciones pericraneales no sufren infecciones en el SNC. Esto está en relación directa con la maduración de diversos mecanismos de defensa del huésped, tales como la capacidad de eliminación que tiene el Sistema Reticulo Endotelial y los cambios en la respuesta inmunitaria (46).

Diagrama No. 2

Mecanismo de patogenicidad de H. influenzae tipo b.



2.4 Patología.

La frecuencia de los distintos síntomas y signos en la meningitis varían con la edad y con la vía de invasión al Sistema Nervioso Central, determinando esto una mayor o menor participación del encéfalo en el proceso infeccioso (85).

Por meningitis se entiende la inflamación de las meninges, es decir, las membranas que cubren la médula espinal y el cerebro. Fig. No. 8 (16,19,22,40,106). Las meninges están formadas por tres capas. La fuerte membrana externa que recubre las cavidades óseas del cráneo y del canal espinal se llama duramadre. Inmediatamente por debajo de ésta se encuentra otra membrana, la aracnoides. La delicada membrana interna, que cubre directamente al cerebro y la médula, recibe el nombre de piamadre (19,60,108,129). La piamadre sigue todas las irregularidades de la superficie del Sistema Nervioso Central (60). La primera membrana se conoce también como paquimeninge. La aracnoides y la piamadre se encuentran unidas entre sí, por medio de trabéculas que, partiendo de la aracnoides, une a esta con la piamadre, siendo consideradas por muchos autores como una membrana única, la piaracnoides o leptomeninge. Fig. No. 9 (24).

Entre la piamadre y la aracnoides se encuentra el espacio subaracnoideo que contiene el líquido cefalorraquídeo (LCR) (19,60,108,129). En la meningitis, el pus se acumula en el espacio subaracnoideo. Cuando esto sucede, la meningitis toma el nombre de meningitis purulenta (16,19,40,106,108,129).

En los niños pequeños, la meningitis por H. influenzae tipo b se presenta después de una enfermedad en la porción superior de las vías respiratorias o del oído medio (128).

H. influenzae tipo b puede tener acceso al espacio subaracnoideo después de una infección general o una bacteremia, donde las bacterias consiguen llegar al Sistema Cerebroes-

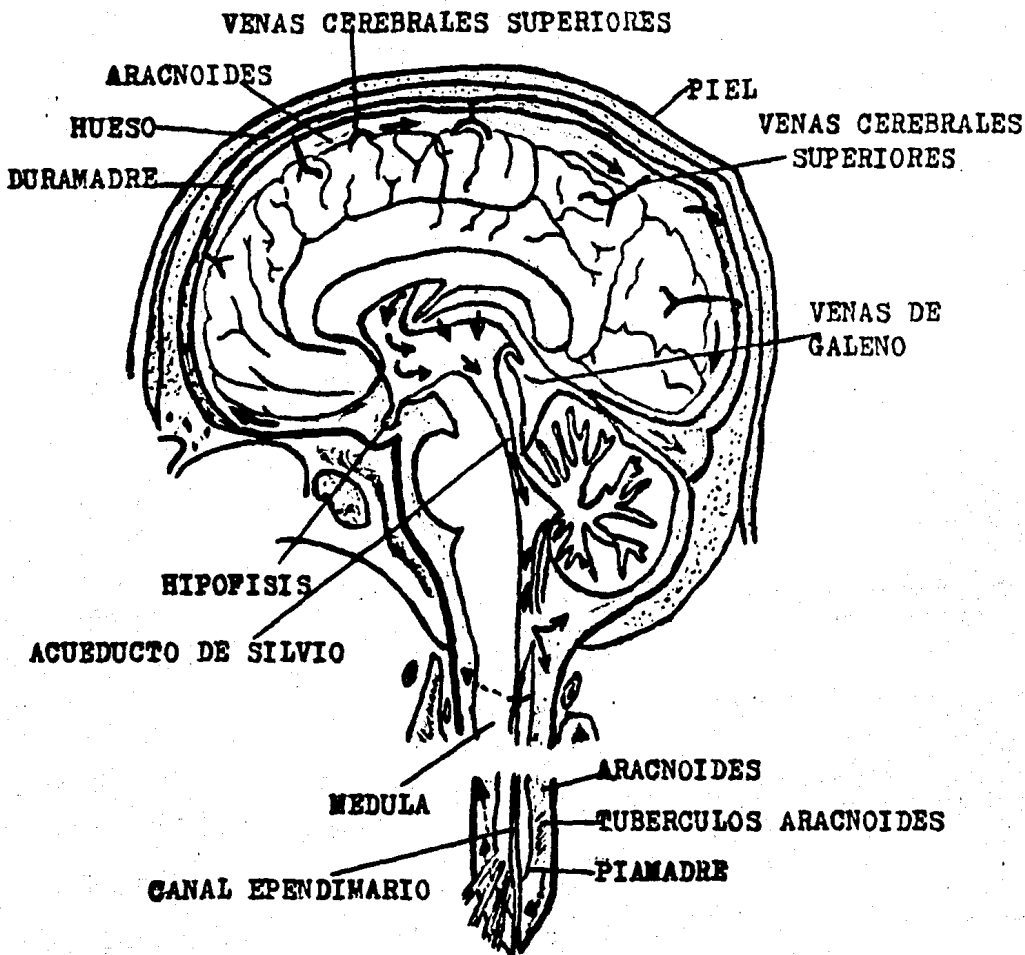


Fig. No. 8 Esquema de las relaciones entre las meninges y la -- masa encefálica y médula. Las flechas marcan la circulación del LCR.

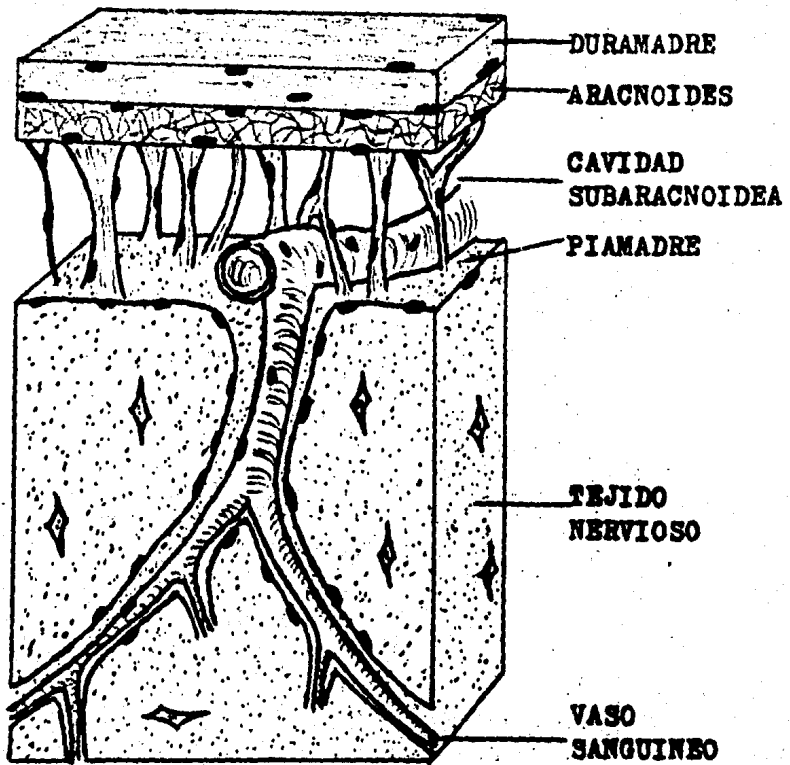


Fig. No. 9 Dibujo esquemático de la estructura de las meninges. Notese el vaso sanguíneo en la cavidad subaracnoidea y su penetración en el tejido nervioso, acompañado de la piamadre en cierta extensión.

binal a través del torrente sanguíneo o por los canales linfáticos perineurales que acompañan al nervio olfático desde las fosas nasales al interior del cráneo (16,22,29,40,71,123). Los microorganismos se multiplican en el LCR, del que se puede tomar muestras para analizarlas en el laboratorio, por un procedimiento aséptico conocido como punción lumbar (22,40).

La meningitis puede existir durante varios días, en mascarada como una enfermedad respiratoria; muchas veces, en el paciente pediátrico con la enfermedad ya establecida, no hay --signología de daño neurológico, pudiéndose presentarse únicamente fiebre, irritabilidad o rechazo al alimento (11,46,68,106,--123,128).

Alrededor de la mitad de los casos de meningitis causada por H. influenzae tipo b son enfermedades asintomáticas (16).

El cuadro clínico de las meningitis está constituido por un síndrome infeccioso, uno de hipertensión intracraneana y uno de irritación meníngea, los cuales se acompañan de signos de daño neuronal así como de infección en otros aparatos y sistemas. Frecuentemente existe choque tóxico, sobre todo en --lactantes (46,69,83,106,123).

El síndrome infeccioso se manifiesta por:

Cefalea intensa. Es uno de los síntomas más tempranos y constantes. Puede ser generalizada o localizada (frontal, occipital o temporal). En el lactante, que por supuesto no puede expresarla, se identifica por llanto doloroso, inusitado muy vivo.

Fiebre. Las meningitis cursan siempre con fiebre, y es muy alta en las meningitis purulentas.

Anorexia y ataque al estado general (29,46,69,83,--106,128,132).

El síndrome de hipertensión intracraneana se mani--

fiesta por :

Vómitos. Los vómitos también son de los primeros -- síntomas en la meningitis. El vómito es de tipo cerebral, es de cir, fácil, que puede ser en proyectil, precedido o no ---- por náuseas, y se presenta posprandial, o aunque el niño no - tome alimentos.

Se encuentra también la continuación de la cefalea, irritabilidad, alteraciones del estado de conciencia que varían desde somnolencia hasta coma y respiración irregular; en los pa- cientes pequeños, existe separación de suturas de huesos cranea- les y fontanela abombada, la cual en el lactante es un signo -- constante y muy acentuado; aún en los períodos en que el peque- ño no grita, ni llora, se palpa la hipertensión de la fontanela anterior (11,16,23,29,46,57,69,83,106,128,132).

El síndrome de irritación meníngea constituye la - confirmación del diagnóstico clínico y está caracterizado por:

Rigidez de la nuca. Puede ser más o menos acentua- da, pero siempre se encuentra; cuando es discreta sólo se reco- noce al intento de la movilización de la cabeza; cuando es exa- gerada puede acompañarse de opistótonos.

Signo de Kernig. Consiste en la imposibilidad, por el dolor intenso de extender la pierna del paciente acostado, - con la articulación de la cadera flexionada en ángulo recto.

Signo de Brudzinski. El signo del "cuello" de Brud- zinski es positivo cuando la flexión forzada del mismo sobre el pecho hacen que se flexionen las piernas y los muslos (16,29,46, 57,69,83,106,128,132).

La rigidez de nuca o los signos positivos de Kernig y Brudzinski son más frecuentes en la meningitis causada por H. influenzae tipo b (128). Los signos de daño neuronal se encuen- tran representados por el ataque a pares craneales, nistagmus,

aumento de tono muscular, hiperreflexia osteotendinosa y convulsiones. Estas últimas son las más frecuentes (69,83).

Las convulsiones se presentan casi constantemente durante toda la evolución de la meningitis o por lo menos en alguna de sus etapas (123,132). Las convulsiones son más frecuentes en lactantes con meningitis por H. influenzae tipo b, pero es difícil precisar su importancia ya que las criaturas de esta edad sufren convulsiones con fiebre de cualquier causa (128).

Es importante mencionar que tanto los síntomas como los signos, varían de acuerdo con la edad del paciente (69).

Así, las meningitis en el lactante menor, son difíciles de reconocer; conforme aumenta la edad, los datos clínicos adquieren características más definidas y ya en el lactante mayor, y en el preescolar, las manifestaciones son más típicas -- (69,95).

Las enfermedades meníngeas son las más frecuentes de las observadas en el encéfalo y tienen distintas formas.

Paquimeningitis. Este término hace referencia a la infección de la duramadre. Con alguna frecuencia se observa como una complicación de la osteomielitis del cráneo o de fracturas óseas en las que hay infección de la piel cabelluda propaga da hasta el espacio que existe entre la duramadre y el hueso, formando el llamado absceso epidural.

La enfermedad puede progresar hasta producir leptomeningitis o absceso cerebral (24).

Leptomeningitis. Esta es la forma de lesión más --- frecuente del Sistema Nervioso y consiste en una inflamación de la piaracnoides en la cual se observa el exudado en el espacio subaracnoideo (24,128).

Debido a la continuidad del espacio subaracnoideo alrededor del cerebro, de la médula espinal y los nervios ópticos, un agente infeccioso que logre entrar a cualquiera de estas par

tes, puede extenderse inmediatamente a todas, aún a sus espacios más remotos, es decir, la meningitis siempre es cefalorraquídea (128).

La forma más frecuente de leptomeningitis es la llamada purulenta, piógena o aguda, que puede ser causada por H. influenzae tipo b (24). Su presencia en el espacio subaracnoideo provoca una reacción inflamatoria en la piamadre, la aracnoides y el canal raquídeo.

H. influenzae tipo b con su endotoxina, si se le permite actuar el tiempo suficiente, lesiona los elementos anatómicos que están en el espacio subaracnoideo (nervios craneales y raíces espinales) o ventrículos (plexos coroides) y los elementos vecinos (arterias y venas piales, corteza cerebral y cerebelosa subyacente, sustancia blanca subpial de la médula espinal, fibras periféricas de los nervios ópticos, cubierta ependimaria de los ventrículos y tejidos subependimarios). Aparte, el material purulento obstaculiza la circulación del LCR, desde los ventrículos o por el espacio subaracnoideo sobre el tallo cerebral, dando lugar, respectivamente, a una hidrocefalia obstructiva o comunicante. Aunque la membrana aracnoidea externa es una barrera muy efectiva para evitar la extensión de la enfermedad, puede haber extensión hasta el espacio subdural craneal, la duramadre y el espacio epidural espinal. Esto es más frecuente en los niños (128).

Las complicaciones que ocurren durante la fase aguda de la meningitis purulenta constituyen las principales causas de muerte de esta enfermedad. Su identificación temprana y su manejo adecuado son los factores más importantes para disminuir la letalidad (95).

Las complicaciones se pueden dividir de acuerdo a su localización, en neurológicas y no neurológicas (46,69). Den

tro de las primeras se encuentran el higroma subdural, el epie-
ma subdural, el absceso cerebral, el bloqueo de la circulación
del líquido cefalorraquídeo con el consecuente desarrollo de hi-
drocefalia, la lesión de pares craneales, la úlcera de stress,
la secreción inapropiada de la hormona antidiurética y la desce-
rebración. Cuadro No. 14 (57,69,95,123). Las no neurológicas in-
cluyen el desequilibrio hidroeléctrico y ácido-base, el choque
séptico, la coagulación intravascular diseminada y la artritis.
Tabla No. 5 (12,46,57,69,83,123,128).

En el cuadro No. 15 se describen las complicaciones
que ocurren durante la fase aguda de la enfermedad. El edema ce-
rebral grave y el status epilepticus son los más frecuentes,
pero la mayor letalidad relativa corresponde al estado de cho-
que (85,95). El status epilepticus es un estado de crisis convul-
sivas generalizadas o focalizadas, recurrentes con inconciencia,
que puede continuar durante horas o días (95).

Cuadro No. 14

Frecuencia de complicaciones durante la evolución de la enfer-
medad. 1971-1977.

Complicación	No. de casos	% del total
Bloqueo subaracnoideo	58	9.0
Higroma subdural	29	4.4
Úlceras de stress	30	4.6
Lesión de pares craneales	13	2.0

Hospital de Pediatría. Centro Médico Nacional. IMSS.

Tabla No. 5
Complicaciones en meningitis.

	Crisis convulsivas
	Edema cerebral
	Secreción inapropiada de hormona antidiurética
Generalizadas	Choque séptico
	Coagulación intravascular
	Higroma subdural
	Epiema subdural
Focales	Artritis
	Absceso cerebral
	Anormalidades de pares craneales

Rev. Fac. Med. Mex.: Vol. 18(11),1975.

Cuadro No. 15

Frecuencia de complicaciones durante la fase aguda y letalidad relativa en 646 casos. 1971-1977.

Complicación	No. de casos	% del total	Letalidad por complicación.
Edema cerebral grave	118	18.2	26.3
Status epilepticus	73	11.3	17.3
Estado de choque séptico	59	9.1	44.1
Hemorragia intracereana	18	2.3	44.4

Hospital de Pediatría. Centro Médico Nacional. IMSS.

Las meningitis causadas por H. influenzae tipo b -- tiene una prevalencia usualmente alta de anemia (98). Se presentan principalmente en los pacientes de tres meses a dos años de edad, y es generalmente más severa que aquellas anemias observadas en otras formas de meningitis bacteria (61).

En el cuadro No. 16 puede apreciarse que de los 547 sobrevivientes con meningitis purulenta, 33.8% quedó con secuelas permanentes; es que a medida que disminuye la mortalidad se elevan las secuelas por el padecimiento (20,90,95,123,124).

En un estudio previo, en el cual el Dr. Muñoz y colaboradores analizaron el coeficiente intelectual de un grupo de niños que habían padecido meningitis purulenta cinco años antes de realizarse el estudio y que habían quedado sin secuelas neurológicas, encontraron que el 50% exhibían un coeficiente intelectual menor de 90 puntos (95).

2.5 Tratamiento.

El tratamiento debe ser considerado como una emergencia médica, ya que un retardo en su establecimiento, puede significar la muerte del paciente o la presencia de secuelas importantes (69,83,123). La rápida destrucción de las bacterias en las meninges y en el LCR resulta esencial para la sobrevivencia (123,128).

El antimicrobiano será seleccionado conforme a la etiología, la edad del paciente, su estado nutricional, enfermedad subyacente, si es que la tiene (por ejemplo neumonía, gastroenteritis, otomastoiditis crónica, etc.), y en base al fro--ntis de LCR (12,57).

En el cuadro No. 17 se describe el tratamiento anti--biótico inicial, cuando el agente etiológico no ha sido identificado. El uso de diferentes antibióticos, sus dosis, vía de ad

Cuadro No. 16.

Secuelas permanentes en 547 sobrevivientes con meningitis purulenta. 1971-1977.

Secuela	No. de casos	Por ciento
P. C. I. espástica	76	13.9
Retraso psicomotor	33	6.0
Atrofia cerebral	18	3.3
Hidrocefalia	17	3.1
Hemiplejia	11	2.0
Descerebración	9	1.6
Lesión de pares craneales	9	1.6
Hipoacusia o sordera	5	0.9
Convulsiones	5	0.9
Ceguera	1	0.2
Postencefalia	1	0.2
Total	185	33.8

Hospital de Pediatría. Centro Médico Nacional. IMSS.

Cuadro No. 17.

Tratamiento antibiótico inicial.

Edad	Antibiótico	Dosis	Vía	Duración
De 2 a 6 meses	Ampicilina	400mg/Kg/día repartida en 6 dosis cada 4 horas	IV	10-14 días
	y Gentamicina	7.5mg/Kg/día repartida en 3 dosis cada 8 horas	IM	10-14 días
De 6 meses a 5 años	Ampicilina	400mg/Kg/día repartida en 6 dosis cada 4 horas	IV	10-14 días

Manual de Infectología, Kumate J., 1980.

ministración y duración del tratamiento están determinadas se-- la edad del paciente, por el conocimiento de los microorganis-- mos más frecuentemente identificados en nuestro medio en los di-- ferentes grupos de edad, así como por las variaciones en la fi-- siopatología de la enfermedad (69,106). La respuesta al trata-- miento instituido deberá ser evaluada cuidadosamente tomando en cuenta la respuesta clínica y las características del LCR, cuyo examen debe practicarse cada 24 horas durante los primeros tres días hasta la negativización del cultivo del mismo. Si el mi-- croorganismo no se ha identificado y la respuesta terapéutica -- no es satisfactoria, el esquema terapéutico debe cambiarse a pe nicilina-cloramfenicol (69).

Las pruebas de sensibilidad antimicrobiana son de valor para determinar el medicamento de elección en el trata-- miento, pero éste no debe ser aplazado esperando los resultados de las pruebas (29).

Los antibióticos deben administrarse por vía paren-- teral, de preferencia endovenosa y a dosis máximas desde el ini-- cio (46). En general, es recomendable cambiar la vía endovenosa cuando la mejoría del paciente lo permita, habitualmente entre el tercero y cuarto día, a la vía oral o intramuscular según -- el caso, con el fin de evitar flebitis, complicación muy fre-- cuente cuando se prolonga la administración endovenosa de anti-- bióticos (69).

Se ha considerado a la ampicilina como el antimicro-- biano de elección para el tratamiento de las enfermedades por -- H. influenzae tipo b, ya que por lo general su crecimiento es inhibido por concentraciones menores de $1.5 \mu\text{g/ml}$ (50,128).

Sin embargo, la ampicilina ha sido usada indiscrimi-- nadamente en una escala inmensa para la mayoría de los trata-- mientos de cualquier enfermedad febril, en todas partes del mun--

do se lleva a cabo este uso indiscriminado provocando un gasto inecesario y peligroso. Como un resultado de esto, más y más cepas de H. influenzae tipo b son menos y menos sensibles a la ampicilina, y llegan a ser, comúnmente, cepas resistentes productoras de beta-lactamasa (5,8,9,12,15,26,28,37,50,64,69,71,75,81,89,94,110,113,131,134).

En México en 1969, se publicaron cinco casos con falla de reacción clínica a la ampicilina, y en 1974 se identificaron dos cepas resistentes con una concentración mínima inhibitoria (CMI) mayor de $400\mu\text{g/ml}$, y no solo en México, también en otros países se ha reportado esta CMI (50,75,130). En noviembre y diciembre de 1978 en el Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional hubo 11 cepas de H. influenzae tipo b aisladas del LCR de niños con meningitis purulenta resistentes a este antimicrobiano (CMI $>400\mu\text{g/ml}$).

Aproximadamente, en la actualidad, del 14-18% de las cepas son resistentes a la ampicilina (50,130).

Hay reportes de microorganismos resistentes a la ampicilina aislados del LCR previos a un tratamiento, o inicialmente los microorganismos son sensibles a la ampicilina y llegan a ser resistentes durante el tratamiento (75). Debido a esto, ha aumentado el número y gravedad de las secuelas resultantes de la meningitis (130). Esto se ha vuelto un problema bastante importante, y se ha planteado la necesidad de regresar al antiguo esquema de ampicilina-cloramfenicol; la ampicilina sódica 300mg/Kg/día/IV , de la cual, la cuarta parte de la dosis debe administrarse de inmediato y la restante en dosis divididas cada cuatro horas y cloramfenicol 100mg/kg/día/IV cada 6 horas (5,12,35,64,68,69,75,77,94,110,113,128,131,134).

Los antibióticos deberán administrarse por separado y no en inyección mixta (68). A fin de evitar la interferencia

entre estas dos drogas, la ampicilina debe administrarse una -- hora antes del cloramfenicol (128). Este tratamiento es utiliza do en las meningitis purulentas por H. influenzae tipo b en los niños menores de cinco años y mayores de dos meses, edad en la que se observa con mayor frecuencia esta etiología (69). Tan -- pronto se haya establecido la susceptibilidad de los microorga nismos a los antibióticos uno de los dos deberá suspenderse y - el otro deberá administrarse durante 10-14 días, hasta que el - enfermo se encuentre bien (5,9,68,75,77,131,134).

Esta conducta terapéutica está justificada en las - áreas donde se demuestre una elevada frecuencia de dicha resis tencia antibiótica (69).

H. influenzae tipo b es susceptible in vitro a di- versos agentes antimicrobianos incluyendo estreptomycin, tetra ciclinas, cloramfenicol y las sulfonamidas (128).

La droga de elección para H. influenzae tipo b es - la ampicilina o el cloramfenicol 110 mg/Kg, dependiendo de si - la cepa, es resistente a la ampicilina o no (9,20,21,28,29,50,- 63,69,81,94,113,123). Aunque también se puede obtener un trata miento efectivo con estreptomycin (15 a 20 mg/Kg/día/IM cada - 12 horas), y sulfadiazina (150mg/Kg/día/IV cada 8 horas) (9,12, 16,29,35,64,72,134,137). Las tetraciclinas (20-50mg/Kg/día/IV - cada 8-12 horas) y la rifampicina son igualmente útiles (15,29, 63,71,134), aunque en el extranjero se han llegado a reportar raramente cepas resistentes a la rifampicina (96).

Se ha visto también que es de gran eficacia el tra tamiento combinado a base de sulfadiazina con estreptomycin -- (16,84,140).

En menor grado es sensible también a la aureomici na y terramicina (140).

El porcentaje de cepas de H. influenzae tipo b resistentes a la ampicilina y el hecho de que todas las cepas son sensibles al cloramfenicol, justifica considerar en la actualidad a este último antimicrobiano como el de primera elección en las enfermedades graves (meningitis, neumonía, artritis, epiglotitis y celulitis) causadas por este microorganismo. Por su toxicidad potencial no es conveniente utilizarlo en enfermedades menos graves (8,12,50,75,130).

Tan pronto como el cloramfenicol llegó a estar disponible hace 30 años, llegó a ser la droga de preferencia en el tratamiento por su capacidad de pasar fácilmente al LCR (58).

H. influenzae tipo b puede sobrevivir dentro de los leucocitos polimorfonucleares y la ampicilina es poco eficaz para erradicar microorganismos intracelulares, ya que difícilmente atraviesa la barrera hematoencefálica cuando las meninges están inflamadas, alcanzando concentraciones en el LCR 1 a 2% menos que en el suero; pero se aumenta su penetración cuando se administran dosis IV de 400 mg/Kg/día y es eficaz al principio de la meningitis (12,123). En cambio, el cloramfenicol se concentra en los leucocitos polimorfonucleares y es efectivo para destruir H. influenzae tipo b intracelular. Esta observación sugiere que el cloramfenicol puede tener ventajas sobre la ampicilina en el tratamiento de enfermedades debidas a este microorganismo (12,58), porque los microorganismos siempre habían sido susceptibles a él, los resultados eran buenos y porque no había efectos secundarios inmediatos debido al cloramfenicol; pero más tarde se vió que el cloramfenicol era la causa de anemia aplásica severa. Esta reacción retardada no se había predicho y mucho menos prevenido. Fué descubierta por Schröter en 1974 (12,28,75). Por esto se recomienda que los dos primeros días la

administración del cloramfenicol sea IV y luego la administración sea oral, para disminuir la probabilidad de una anemia --- aplástica (28).

Además de que H. influenzae tipo b ha presentado -- resistencia a la ampicilina, también se han llegado a reportar en otros países, aunque raramente, algunas cepas aisladas de pa- cientes con meningitis que han presentado resistencia a la te- traciclina y al cloramfenicol (5,64,75,81,101,110,131,134). Es- to obliga a establecer un programa permanente de vigilancia --- periódica sobre los cambios de sensibilidad de este microorga-- nismo a los antibióticos, para detectarlos oportunamente y man- tener definido al antibiótico de primera elección (130). No se ha encontrado ninguna cepa que sea resistente a los dos antibi^ó ticos (ampicilina y cloramfenicol) (64,75,110,131,134).

Por inoculación a conejos, se han preparado sueros contra los seis tipos antigénicos de H. influenzae, utilizándo- se estos sueros como auxiliares en la terapéutica antiinfeccio- sa en niños con cuadro agudo, principalmente meningitis (35,40, 84,137).

Generalmente, el LCR queda libre de los microorga-- nismos después de 48 a 72 horas (46).

En el cuadro No. 18 se puede observar la proceden-- cia y la resistencia a la ampicilina de H. influenzae tipo b, - incluyendo los aislamientos de LCR de 26 niños con meningitis - purulenta; siendo evidente la mayor frecuencia de portadores sa- nos que tienen contactos familiares con niños con meningitis -- causada por este microorganismo (5,26,50,130). Las edades de -- los niños comprendían entre dos meses a cinco años, asistentes a guarderías particulares y del Instituto Mexicano del Seguro Social (50,130).

Es importante elegir el antimicrobiano adecuado, ya que si este llega a fallar se presenta una recaída de la enfermedad (116).

Cuadro No. 18

Proporción de cepas de H. influenzae tipo b resistentes a la ampicilina de julio a diciembre de 1979.

Procedencia	tipo b resistentes/probados
Exudado faríngeo de niños de guarderías.	8/57 (14%)
Exudados faríngeos de contactos intrafamiliares de pacientes con meningitis.	2/9 (23%)
LCR de niños con meningitis.	2/26 (7.6%)
Totales	12/92 (13%)

Hospital de Pediatría. Centro Médico Nacional. IMSS.

CAPITULO III.

DIAGNOSTICO DEL LABORATORIO.

El diagnóstico de la meningitis bacteriana se basa en la detección de los microorganismos en el espacio subaracnoideo (el LCR se examina para la detección de los microorganismos), o en la observación de la respuesta del huésped a la enfermedad debido a la invasividad de la bacteria (22,123).

Para realizar el diagnóstico se cuenta con diferentes métodos como son los ya conocidos de estudio citoquímico, frotis, cultivo del LCR y nuevos métodos bioquímicos e inmunológicos, muchos de ellos aún en estudio. No obstante, lo más adecuado para establecer la etiología de este padecimiento, se basa en el aislamiento del microorganismo en medios adecuados de cultivo (123).

El examen del LCR es la prueba más importante del laboratorio en el diagnóstico de la meningitis (55).

3.1 Bacteriológico.

1.- Toma de muestra.

Punción lumbar.

La punción lumbar se utiliza para fines diagnósticos, como son estudios y bacteriología de LCR (22,83). Debe de realizarse ante la menor sospecha de meningitis aún cuando no existan suficientes datos para apoyar el diagnóstico, como puede ser en la ausencia de signos clínicos definitivos de irritación meníngea, particularmente cuando no se noten las alteraciones del estado de conciencia o no hayan ataques (20,41). Esta presentación clínica inusual de la meningitis bacteriana puede ocurrir en cualquier edad. La punción lumbar no debe de realizarse en niños con simples convulsiones febriles (41).

Cuando se toman las máximas medidas de asepsia necesarias, la punción lumbar es inocua y de gran valor para la clínica (6,20,43,71).

La punción lumbar se debe de realizar hasta certificar la esterilidad del LCR, por lo regular son en dos bacteriogramas copias con intervalo de 24 horas cada una (46).

La punción lumbar debe efectuarse con el paciente en decúbito lateral. Se esteriliza la región donde se va a realizar la punción lumbar y se busca la tercera y cuarta o de la cuarta y quinta vértebras lumbares (a la altura de la cresta ilíaca); en este punto, se inyectan por vía subcutánea unas gotas de procaína al 2%. La aguja de la punción lumbar debe de ser de 6 a 10 cm de longitud, de 0.5 mm de diámetro y de níquel o de acero inoxidable; se introduce la aguja de punción con estilete perpendicularmente de abajo a arriba, con el bisel dirigido hacia el operador, hasta percibir una sensación característica al penetrar la duramadre (sensación de perforar un pergamino). En estos momentos se retira el mandril y se observa la salida del LCR. Enseguida se mide la presión con el raquimanómetro, estando el paciente tranquilo. Por último se obtiene de 1-2 ml de LCR en el cual se realizará el estudio citoquímico, bacteriológico y la tinción de Gram.

Las complicaciones que se pueden presentar durante la realización de la toma de la muestra incluyen hemorragia (por punción de plexos venosos anteriores), cefalea postpunción, infección e introducción de irritantes químicos.

La punción lumbar no debe de realizarse si el procedimiento no está justificado, en presencia de hipertensión intracraneal severa (puede hacerse tomando las precauciones necesarias) e intervenciones quirúrgicas previas a nivel de columna dorso lumbar (laminectomía) (63,83,132).

Siempre que sea posible, se toma la muestra antes de iniciar la terapéutica antimicrobiana (111).

El LCR que se va a someter al examen microbiológico debe llegar, de preferencia, todavía caliente, y debe examinarse sin demora. No se deben refrigerar las muestras para someterlas a examen posterior, porque la refrigeración puede matar algunos microorganismos como es el caso de H. influenzae tipo b (111). Si la muestra no puede ser entregada al laboratorio inmediatamente, esta debe guardarse a 37°C; en cualquier caso, los procedimientos del laboratorio deben de llevarse a cabo dentro de las dos a cuatro primeras horas en que se obtuvo la muestra (43,71). El manejo inmediato del LCR en el laboratorio es de gran importancia si se quieren obtener buenos resultados (20).

11.- Realización del frotis y del cultivo del LCR.

Los métodos básicos para la estabilización del diagnóstico bacteriológico de la meningitis son: el examen microscópico de un frotis con tinción de Gram del sedimento del LCR y un cultivo del mismo (5, 13, 16, 19, 22, 34, 50, 57, 69, 71, 123, 125, 130).

Una vez que la muestra ha llegado al laboratorio se registra el volumen del LCR obtenido y se anota si está claro, turbio (grado) o con sangre (111). En enfermedades piógenas agudas el LCR es usualmente turbio pero puede variar de claro a denso (43). Inmediatamente después de recibido, por lo general se centrifuga un tubo del LCR durante 10 minutos a 2,500 rpm, lo cual es suficiente para que la bacteria y otros elementos celulares se sedimenten (ocasionalmente, la muestra está francamente turbia o purulenta y puede examinarse microscópicamente sin centrifugación), después todo el sobrenadante se desecha, se resuspende el sedimento, se prepara un frotis, se tinte por el método de Gram y se examina el frotis, por último se reali--

zan las inoculaciones en diferentes medios de cultivo (ver diagrama No. 3) (6,9,31,99,111,123).

El examen microscópico directo del LCR es particularmente importante para poder obtener un diagnóstico presuntivo lo más pronto posible e iniciar una quimioterapia (31,71,111).

Cuando desde el inicio el frotis de la tinción de Gram es negativo, se puede poner a incubar un mililitro del LCR en un tubo estéril, de cuatro a ocho horas a 37°C, lo cual es de gran ayuda, ya que ocurre la suficiente multiplicación para que los microorganismos puedan identificarse en el frotis (55).

En los frotis en que se observen microorganismos Gram negativos se debe de sospechar la presencia de H. influenzae, Klebsiella, Bacteroides y coliformes (111). En caso de que sean microorganismos capsulados debe de sospecharse con mayor seguridad de H. influenzae (y la mayoría de las veces siempre se trata del tipo b). Este microorganismo se localiza dentro de los neutrófilos al principio de la enfermedad, pero más tarde se encuentra libre en el LCR (9,71,111).

El error más común en la observación de un frotis de LCR teñido con Gram, es la interpretación errónea del colorate precipitado o de restos con cocos Gram positivos, o el confundir S. pneumoniae con H. influenzae, debido a que H. influenzae tiende a teñirse un poco más fuertemente en ambos polos de modo que semejan diplococos Gram positivos; esto sucede cuando los frotis de las tinciones que se realizan son gruesos o cuando no son lo suficientemente decolorados (9,13,16,55,71,128).

La práctica sistemática de cultivo será la que en definitiva establezca el diagnóstico etiológico (20).

El sedimento resuspendido se utiliza para la inoculación de medios de cultivo. Se inoculan medios diferentes, co-

Diagrama No. 3

Cultivo de líquido cefalorraquídeo.

Es imperativo el uso de equipo esterilizado y técnica aséptica durante todo el proceso.

Empléense muestras de diferentes tubos para los procedimientos.

Registro del volumen total y las características de la muestra.

Centrifugar 10 minutos a 2,500 rpm.

Transferir el sobrenadante; resuspender suavemente el sedimento.

Preparación para el examen directo.

Frotis con tinción de Gram.

Inoculación.

Agar sangre. Se emplea dos placas si se utiliza el método directo de sensibilidad.

Agar de chocolate, o medio GC con hemoglobina y enriquecimiento de iso vitalax.

Medio de Levinthal.

Incubar a 35°C en CO₂. Examinar día 1^o.

Incubar a 35°C en CO₂. Examinar día 1^o.

Incubar a 35°C en CO₂. Examinar día 1^o.

mo son agar sangre, medio de Levinthal, agar chocolate, etc, -- (por lo menos una caja de cada uno) y se incuban de 35 a 37°C, a pH 7.8 con una incubación microaerofílica (5-10% de CO₂) para alcanzar su crecimiento óptimo, sobre todo en casos de primoaig lamiento (5,6,9,13,18,19,31,35,43,50,65,71,84,93,99,107,111,--- 122,130,140).

Las placas negativas se mantienen en observación du rante 5 días, al cabo de los cuales se desechan aquéllas que no presenten colonias (6,99).

Quando la tinción de Gram del sedimento indica la - presencia de una sola especie microbiana, se inocular inmediatamente una placa adicional de agar sangre en la que se colocan - sensi-disco (111).

Entre los medios de cultivo recomendados para el -- crecimiento de H. influenzae y los cuales deben de contener los factores de crecimiento X y V (hemina y NAD respectivamente) se encuentran:

- Agar gelosa chocolate con isovitalex y hemoglobi-
na.
- Agar sangre de caballo.
- Agar chocolate.
- Agar de Levinthal.
- Agar de Levinthal con enriquecimiento de Fildes
(5,9,13,18,19,50,59,65,71,84).
- Agar gelosa chocolate con isovitalex y hemoglobina.

Se emplea para el aislamiento y cultivo de microor- ganismos exigentes como es el caso de H. influenzae, un agar -- chocolate hecho mediante la adición de una base de agar gelosa chocolate (GC), hemoglobina (2%) y enriquecimiento de isovita-- lex (1%), debido a que produce un crecimiento exuberante de ce pas de Haemophilus (5,111). Una vez desarrolladas, las colonias

que se presentan son grises, semiopacas, lisas y convexas, usualmente de bordes redondos (5).

- Agar sangre de caballo.

El agar sangre de caballo es un medio que contiene sangre desfibrinada de caballo al 5%, enriquecimiento de Fildes al 2%, isovitalax al 1%, bacitracina (5,000UI/ml) y base de gelosa Columbia.

En este medio, clásicamente empleado, a las 24 horas las colonias de H. influenzae son brillantes, color gris claro, poco convexas (casi puntiformes) pero no totalmente planas, de 1 a 1.5 mm de diámetro. Tienen la característica que al tocarlas con el asa, se desprende toda la colonia (5,18,43,65,115,130). Estos microorganismos no crecen en agar sangre que contenga sangre de cordero, excepto en torno de colonias de otra bacteria, como es el caso de S. aureus en donde se encontrarán colonias satélite típicas de H. influenzae en torno al crecimiento de S. aureus (111).

Este fenómeno, conocido con el nombre de satelitismo, es debido a que S. aureus, bacteria no auxótrofa para el NAD, excreta esta substancia, con lo que las colonias de H. influenzae alcanzan un desarrollo mayor que el que les permite la pequeña cantidad de NAD existente en la sangre (84,115).

No solo con S. aureus sucede el fenómeno de satelitismo, también con otras bacterias como son E. coli, Neisseria sp. y otros microorganismos sintetizadores principalmente del factor V (13,16,18,43,65,71,84,137,140).

- Agar chocolate.

En las placas de agar chocolate se obtienen cultivos de Haemophilus, como es el caso de H. influenzae sin dificultad, a partir del LCR, de la nasofaringe y de otras muestras patológicas (19).

Cuando se utilizan placas de agar chocolate, debe tenerse cuidado de sellarlas después de las primeras 24 a 48 horas, para evitar la deshidratación durante un período más largo de incubación (111). En la placa de agar chocolate las colonias se encontrarán después de 24 a 48 horas de incubación a 35°C en una atmósfera del 10% de CO₂ (5,111). Las colonias aparecerán como gotitas transparentes, lisas, convexas e incoloras, de 1 a 2 mm de diámetro, semejantes a pequeños puntos de humedad (18, 65, 71). Los microorganismos capsulares producen colonias mucoides y más grandes que las cepas no capsuladas (9,16,65).

- Agar de Levinthal y agar de Levinthal con enriquecimiento de Fildes.

Los medios de Levinthal y de Levinthal con enriquecimiento de Fildes, son medios adecuados para la demostración de cepas capsuladas de H. influenzae, ya que son medios apropiados para la detección de la producción de la cápsula (9,65). -- Las colonias son más grandes, la superficie de las colonias es lisa, mucóide, de bordes redondos y sobre todo la iridiscencia que presentan. Si las colonias se encuentran muy juntas, tienden a unirse (104). La iridiscencia de las cepas capsuladas se detecta con una mejor claridad en cultivos jóvenes (10 a 18 horas), la cual desaparecerá gradualmente durante la prolongación de la incubación (65,71,104). Al medio de Levinthal se le pueden añadir 5 unidades/ml de bacitracina para inhibir el crecimiento de microorganismos contaminantes (107).

También en estos medios las colonias son mayores cuando se desarrollan cerca de las colonias de S. aureus u otras bacterias que sintetizan el factor V (122).

El crecimiento de H. influenzae es delicado en cualquier caso y los cultivos mueren si no son transplantados con frecuencia (19).

El aislamiento de las colonias es esencial para un examen adecuado de la morfología de la colonia (13). Las cepas pueden mantenerse en agar chocolate, en agar sangre de caballo desfibrinada y en agar base de sangre (65).

Dentro de 24 horas debe hacerse un informe preliminar sobre los resultados del cultivo. El informe definitivo sobre todos los hallazgos, incluyendo las pruebas de sensibilidad, debe hacerse tan pronto como sea factible.

En todos los casos de meningitis debe hacerse un intento para descubrir el foco primario de la enfermedad, por lo tanto, deben de realizarse hemocultivos, porque son positivos en el 40 al 60% de los pacientes con meningitis causada por H. influenzae, N. meningitidis y S. pneumoniae, y proporcionan la única clave definitiva acerca del agente causal (si los cultivos de LCR son negativos), aunque casi todos los microorganismos se han aislado del LCR (69,111,128). El hemocultivo se realiza principalmente en los casos de meningitis aguda (111).

Después de la antibiótico-terapia adecuada, aproximadamente a las 48 horas todos los cultivos aparecerán negativos (123).

111.- Requerimientos de los factores de crecimiento X y V.

Varios son los métodos utilizados para probar los requerimientos de los factores X y V de una muestra sospechosa de contener Haemophilus. Un método fácil para determinar la necesidad de los factores de crecimiento es la prueba del satelitismo que se efectúa alrededor de discos comerciales impregnados de los factores X y V. Se inocula con la muestra una caja de Petri con infusión cerebro-corazón, los discos X y V se colocan sobre la caja Petri aproximadamente a 5 cm de distancia. -- Después de 24 horas de incubación, la caja se examina para ver el crecimiento alrededor y entre los discos, si se presenta así

indica un requerimiento de ambos factores X y V; si solo se presenta alrededor de un disco, indica solamente el requerimiento de un solo factor (9).

IV.- Diferenciación entre las cepas S y R de H. influenzae.

Cuando las cepas de H. influenzae se siembran repetidamente en agar sangre, llegan a aparecer otras colonias, que son pequeñas, rugosas, opacas, de bordes irregulares y no presentan iridiscencia y los subcultivos que se realizan de estas colonias rugosas, darán colonias con las mismas características. Further estudió los cultivos obtenidos de las colonias lisas y rugosas y demostró que una es variante de la otra. La cepa de la colonia lisa se llama cepa S, y la colonia rugosa como cepa R. Las cepas S se pueden distinguir, por su superficie lisa, — son grandes, son menos opacas e iridiscentes en la luz transmitida oblicuamente. Otra importancia especial de este hecho, es que la bacteria de la cepa S posee cápsula. Sin embargo, debe enfatizarse, que estas grandes diferencias solo aparecen en el caso de los cultivos que crecen en el agar transparente de Levinthal. En el agar sangre o en el agar chocolate la presencia de las colonias R puede detectarse sólo con mucha más dificultad. Así como también se ha encontrado que las cepas S son más virulentas y patógenas para los animales de laboratorio que las cepas R (84,104).

V.- Diferenciación entre H. influenzae y H. parainfluenzae.

Para lograr la identificación y la diferenciación preliminar entre H. influenzae y H. parainfluenzae, se recurre a la práctica de dos pruebas muy simples:

(a) Requerimiento de factores X y V Mediante discos comerciales como se mencionó anteriormente.

Las colonias sospechosas de Haemophilus se siembran

en una caja Petri de medio BHI y se colocan los discos comerciales aproximadamente a 5 cm entre sí. Se incuba a 37°C durante 18 a 24 horas.

H. influenzae crece en medio de los dos discos, pues requiere de ambos factores. H. parainfluenzae crece únicamente alrededor del disco V. Cuadro No. 19 (5,84).

(b) Prueba de la porfirina.

El sustrato consiste de ácido delta aminolevulínico hidrociorado 2 mM y sulfato de magnesio 0.8 mM en 100 ml de amortiguador de fosfato 0.1 M, pH 6.9. El sustrato se almacena a -20°C. Los tubos se inoculan suspendiendo una asada gruesa de un cultivo de 24 horas, en el sustrato, se incuba durante 24 horas a 37°C. Se observa con la iluminación proveniente de una lámpara de luz U.V.; si hay fluorescencia indica un resultado positivo, producto de la síntesis de porfobilinógeno por parte de H. parainfluenzae a partir del delta aminolevulínico (5).

Cuadro No. 19

Microorganismo	Factor X	Factor V	Hemólisis
<u>H. influenzae</u>	+	+	-
<u>H. parainfluenzae</u>	-	+	-

3.2.- Caracterización inmunoserológica y bioquímica de H. influenzae.

La identificación serológica tiene importancia solo para cepas capsuladas de H. influenzae (5,71).

Una vez que H. influenzae se aísla de los medios de cultivo, puede serotipificarse por varios métodos, y en todos estos procedimientos se usa un suero que se obtiene comercial-

mente (9).

La detección de los antígenos bacterianos ha permitido tener un diagnóstico temprano para ciertas enfermedades invasivas (117). En una enfermedad sistémica como la meningitis, el LCR y el suero se pueden obtener para la detección del antígeno capsular por medio de diferentes métodos que sirven para identificar a los antígenos capsulares, entre estos se pueden citar: aglutinación en placa, reacción de hinchamiento capsular (reacción de Quellung), prueba de precipitación en tubo capilar, técnica de anticuerpos fluorescentes (inmunofluorescencia), contraelectroforesis, aglutinación en látex, radioinmunoensayo y la prueba de la enzima ligada inmuoabsorbente (ELISA) (4, 5, 6, 9, 13, 16, 18, 34, 35, 43, 55, 71, 84, 92, 99, 100, 102, 117, 120, 124, 125).

1.- Aglutinación en placa.

Una vez que se han aislado las colonias que producen iridiscencia, el método más práctico para la serotipificación de cepas capsuladas, es la aglutinación en placa (5, 35, 65, 71).

Para realizarla se prepara una suspensión espesa de un cultivo de 24 horas en agar chocolate o en agar de Levinthal en 1 ml de solución de NaCl al 0.85% conteniendo 0.5% de formaldehído. Una gota de esta solución se coloca en una placa y se mezcla con una misma cantidad de suero polivalente de H. influenzae. La placa se pone en agitación durante un minuto y se observa la aglutinación. Si ocurre ésta con el suero polivalente, la prueba debe repetirse con los sueros tipoespecífico. Es mejor usar primero el tipo b, debido a que este serotipo es el más comunmente aislado (9).

11.- Reacción de hinchamiento capsular (Prueba de Quellung).

Para realizar la prueba de hinchamiento capsular, -- una suspenden los microorganismos como se indicó anteriormente. La suspensión bacteriana usada para la prueba se debe obtener a partir de un cultivo joven (6 a 18 horas), por que la estructura de la cápsula se pierde en cultivos viejos (5,9,35,65,71). -- Se coloca una gota de esta suspensión en un extremo del portaobjeto, se adiciona una gota del suero tipo específico de H. influenzae y una gota de azul de metileno de Loeffler, se mezcla y se cubre con un cubreobjetos. En el otro extremo del portaobjeto se deposita una gota de una suspensión bacteriana comercial de H. influenzae y se trata de la misma manera que la muestra anterior (5,71). Esta muestra se usa como un control para -- el tamaño de la cápsula. El portaobjeto se examina bajo aceite de inmersión y un aumento del tamaño de la cápsula se considera como una reacción positiva. El portaobjetos debe examinarse durante 10 minutos antes de considerarse como negativo. Esta -- prueba debe de realizarse con los seis sueros tipo específico -- de H. influenzae.

Si se observa que el LCR o cualquier otro fluido -- del cuerpo tienen microorganismos morfológicamente compatibles con H. influenzae, en esta muestra puede efectuarse una reacción directa de Quellung con la misma técnica anteriormente descrita, substituyendo una gota de este material por la suspensión -- bacteriana (9,13).

111.- Prueba de precipitación en tubo capilar.

Para realizar esta prueba de precipitación, se llena un tubo capilar aproximadamente un centímetro de altura con un cultivo líquido de 24 horas, enseguida se toma una cantidad equitativa del suero tipo específico de H. influenzae y los ex-

tremos del capilar se sellan con plastilina; se coloca el capilar en posición recta en una placa de plastilina o sobre una base de madera. Se incuba a 37°C durante dos horas para que la reacción se acelere. Se observa en la interfase de los dos fluidos si se llevó a cabo la precipitación (13).

IV.- Técnica de anticuerpos fluorescentes (inmunofluorescencia).

En esta técnica se usan reagentes, los cuales se marcan con fluoresceína y se obtienen por serotipificación de H. influenzae. Esta técnica es rápida y eficiente cuando se realiza en el laboratorio con el microscopio de fluorescencia adecuado (9,13).

V.- Contraelectroforesis.

La contraelectroforesis es adecuada para la determinación cuali y semicuantitativa de PRP de H. influenzae en LCR o en otros fluidos.

Es una técnica inmunológica de difusión en gel de agar. El antígeno y el anticuerpo se colocan en pozos diferentes en el medio de gel de agar, los antígenos se mueven hacia el ánodo en el campo eléctrico y los anticuerpos específicos se mueven hacia el cátodo, cuando los dos se juntan se forma una línea de precipitación visible en el medio de soporte (gel de agar). La contraelectroforesis se caracteriza por la mayor rapidez en la formación del precipitado y por su grado de sensibilidad (6,9,117).

VI.- Aglutinación en látex.

La prueba de aglutinación con partícula de látex se usa frecuentemente para el diagnóstico de la meningitis purulenta debido a su sensibilidad, especificidad, simplicidad y rapidez.

Esta prueba es una aglutinación indirecta, en la cual se tiene el anticuerpo en solución y se desea realizar una reacción de aglutinación con el objeto de obtener los resultados en solo unos minutos, para ello el anticuerpo es absorbido en partículas de látex; la realización de esta prueba es de la misma forma que la aglutinación en placa (34).

VII.- Radioinmunoensayo.

La prueba de radioinmunoensayo no se usaba anteriormente para la detección del polisacárido capsular de H. influenzae tipo b. Esta prueba es parecida a la inmunofluorescencia, solo que en esta técnica se usan anti-Igs marcadas con I^{125} . La prueba ofrece ciertos avances, debido a que es cuantitativa y posee gran sensibilidad. Los límites de sensibilidad son 0.5 -- ng PRP/ml, mientras que la aglutinación en látex y la CIE son 32.5 ng/ml y 10 ng/ml respectivamente (4,62,80,100,102).

VIII.- Prueba de la enzima ligada inmunoabsorbente (ELISA).

La prueba de ELISA es una prueba sistemática similar al radioinmunoensayo, se utiliza una enzima en lugar de un isótopo radioactivo como la inmunoglobulina marcada. Esta prueba puede proveer una extremada sensibilidad sin utilizar reactivos radioactivos inestables. Dicha prueba puede ser capaz de medir concentraciones de PRP tan pequeñas como 0.1 ng/ml.

Una de las desventajas de esta técnica es el tiempo de incubación que requiere, aproximadamente 4 horas para su realización, mientras que la CIE puede realizarse en 90 minutos y la aglutinación en látex en 5 minutos (102).

ELISA se introdujo por primera vez en 1971-1972 por Engvall, Perlmann, Van Weemen y Schuurs, para la detección de anticuerpos y antígenos en los fluidos del organismo. Esta técnica se ha usado extensamente para la detección de hormonas, --

proteínas oncofecales, proteínas del suero y anticuerpos para una gran variedad de bacterias, virus y parásitos.

En la prueba de radioinmunoensayo los reactivos que se usan son lábiles, la técnica es peligrosa y requiere el uso de un equipo caro, haciendo esto que la prueba sea inadecuada. En cambio ELISA no tiene ninguna de estas desventajas y es más sensible que el radioinmunoensayo.

El tiempo de la prueba no se puede reducir a menos de 4-5 horas, pues pierde sensibilidad (136).

En todos estos procedimientos es importante recordar que los antígenos tipo específicos de H. influenzae pueden dar reacción cruzada con otras bacterias. Como son los casos de E. coli (algunas cepas), S. aureus, S. pyogenes, S. faecalis, S. epidermidis, B. subtilis, y varios de los tipos de S. pneumoniae que se han demostrado que tienen antígenos de reacción cruzada, por ejemplo: H. influenzae tipo a tiene reacción cruzada con el S. pneumoniae del subgrupo 6, H. influenzae tipo b tiene reacción cruzada con S. pneumoniae del grupo 15A y 35B, y puede dar también con los subgrupos 6 y 29, H. influenzae tipo c con S. pneumoniae 11 (6,9,13,35,71).

Para un estudio más completo los cultivos también se procesan bioquímicamente. M. Kilian propuso una subdivisión de H. influenzae en biotipos, basada en las características bioquímicas, a la vez que comprobaba que la mayoría de las cepas de H. influenzae tipo b pertenecen al biotipo 1. Cuadro No. 20 (5,65).

IX.- Prueba de conversión del ácido d-aminolevulínico (ALA) a porfirinas.

Como ya se explicó anteriormente, es una prueba que se utiliza para ver el requerimiento del factor X. los microorganismos que pueden convertir ALA a porfirinas (prueba positi--

va) no requieren del factor X para crecer (9,65,71,92).

X.- Producción de ácido a partir de carbohidratos.

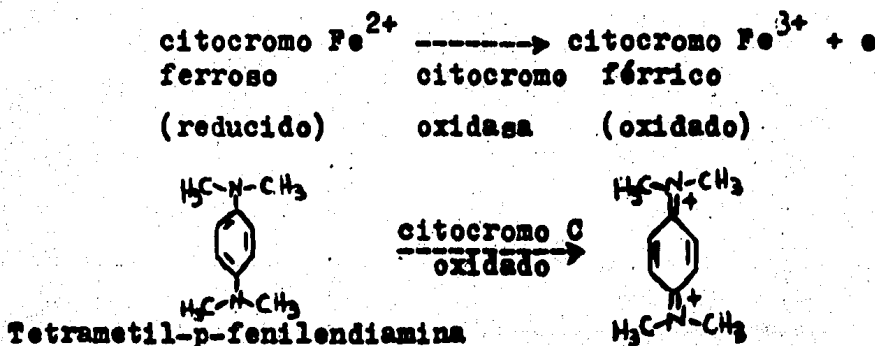
Las cepas de H. influenzae fermentan los carbohidra-
tos a pH final 5.3 a 5.9. Todas las cepas frementan la glucosa
con producción de pH ácido, dado por ácido succínico, ácido lác-
tico y ácido acético (9,71). No producen gas; la mayoría de las
cepas fermentan la xilosa, pero no fermentan la sacarosa, lacto-
sa o manitol y son H₂S negativas (5,9,65).

XI.- Hemólisis.

La hemólisis de un microorganismo puede observarse
en agar sangre de conejo o en agar sangre de caballo (suplemen-
tado con factor V). Las colonias aisladas que producen hemóli-
sis se pueden observar después de 24 a 48 horas de incubación -
(9,65).

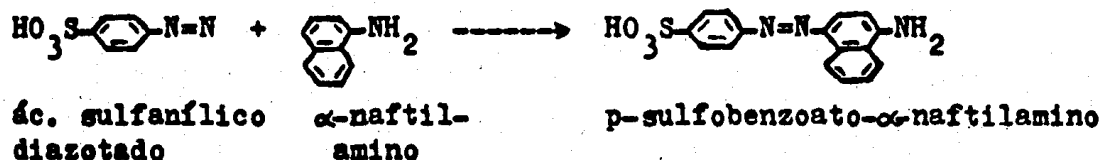
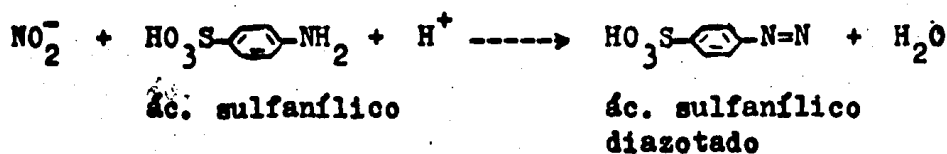
XII.- Oxidasa.

La reacción de la oxidasa se puede determinar al -
dejar caer unas gotas del reactivo de oxidasa (una solución al
1% de tetrametilparafenilendiamina) sobre las colonias, las --
que son oxidasa positivas se ponen negras enseguida, debido a -
que el citocromo c se oxida y este oxida al tetrametilparafeni-
l endiamina.



XIII.- Reducción de nitrato a nitrito.

Para determinar la reducción del nitrato, los microorganismos usualmente crecen en un caldo nutritivo que contenga 0.1% KNO₃; después de 24 horas la presencia del nitrito se determina por la adición del ácido sulfanílico primero y después el α-naftilamino. El ácido sulfanílico y el nitrito reaccionan para formar la sal de diazonio (ácido sulfanílico diazotado) y este con α-naftilamino produce p-sulfobenzoato-α-naftilamino



Así, la formación de un color rojo después de la adición de los dos reactivos indica que está presente el nitrito.

XIV.- Prueba de descarboxilación de ornitina y producción de indol.

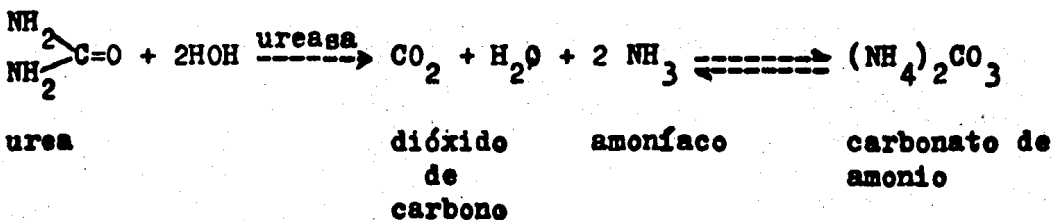
La descarboxilación de la ornitina se verifica en el medio MIO obtenido de fuente comercial. Al cual se añaden 5µg/ml de hemina e isovitalex al 0.1%. El catabolismo de la ornitina se aprecia por el vire del indicador púrpura de bromocresol a un color púrpura en caso positivo, en caso negativo se aprecia un color amarillo.

El sustrato que se utiliza en la prueba de indol -

es 0.1% de triptofano en una solución reguladora de fosfato --- 0.05M a pH 6.8. La producción de indol se registra añadiendo -- unas gotas de reactivo de Kovacs (p-dimetilaminobenzaldehído), que adquiere una coloración roja, si el indol está presente (5, 9, 25, 65, 71).

XV.- Prueba de la ureasa.

La base de caldo urea, se enriquece en igual forma a la mencionada en el inciso anterior. El pH del medio debe ser de 7 y el indicador que se utiliza es el rojo de fenol. La presencia de la ureasa se detecta por la alcalinización del pH y - el vire consecuente del indicador a un color rojo oscuro del - caldo (5, 9, 65, 71).



Todas las pruebas bioquímicas se inoculan con una a-sada gruesa, proveniente de un cultivo puro (24 horas) de gelosa chocolate o de cualquier otro medio de los antes mencionados. Los tubos se incuban a 37°C durante 1 a 2 días como máximo, antes de descartarlos (9).

3.3 Estudio citoquímico.

El LCR obtenido por punción lumbar también debe de analizarse con un estudio citoquímico en los siguientes aspectos:

El aspecto será opalino, turbio o francamente purulento (normalmente su aspecto es de agua de roca); las células estarán aumentadas (normalmente son menos de 10 por mm³) y casi

siempre se encontrarán de 500-15,000 e incluso incontables, con franco predominio de polimorfonucleares; la glucosa estará baja o incluso en 0 (normal 40-80 mg/100ml); las proteínas estarán aumentadas alcanzando cifras de 100 a 500 mg/100ml (normal 16-45 mg/100ml); así como la presión del LCR que se encuentra hasta 300 o más (normal 50-120 mm). Cuadro No. 21 (11,16,20,41,57,63,69,85,99,123,138).

La biometría hemática generalmente revela leucocitosis con neutrofilia (57).

Por regla general las infecciones ocasionadas por H. influenzae tipo b se acompañan de leucocitosis polimorfonuclear que oscila entre 15,000 y 20,000 elementos por milímetro cúbico. Sin embargo, en niños pequeños con cuadro grave, puede observarse leucopenia (2,000 a 3,000 leucocitos por milímetro cúbico) con reducción de polimorfonucleares (128,132).

CUADRO N° 21

EL LIQUIDO CEFALORRAQUIDEO EN ESTADOS PATOLOGICOS

TIPO DE INFECCION	PRESION (mm de agua)	ASPECTO	LEUCOCITOS (por mm ³)		PROTEINAS (mg/100 ml)	GLUCOSA (mg/100 ml)	CLORUROS
NORMAL	40-200	Claro	Número 0-5	Tipo Mono	15-40	40-80	110-128 mEq/lt
			(Algunos acepta hasta 10)			(2/3 de la glu cosa sanguínea)	
MENINGITIS BACTERIANA PU- RILENTA AGUDA	Hasta 300 ó más	Turbio o pu- rulento	500 a - 15,000	N.P.	Hasta 500 ó más	baja o ausente	103-116 mEq/lt
MENINGITIS BACTERIANA PARCIALMENTE TRATADA	Generalmente aumentada	Claro u opa- lescente	General- mente au- mentada	Predominio de NP	Elevadas	Normal o disminu- nuda	
MENINGITIS TUBERCULOSA		Claro u opa- lescente	30-500	Prime- ro mez- clados Despues mono.	Hasta 300 ó más	0-45	Temprana normal Posterior 94-110 mEq/lt

MONO = MONONUCLEARES

N.P. = NEUTROFILOS POLIMORFONUCLEARES.

CAPITULO IV

DISCUSION

A pesar del desarrollo de nuevos y modernos métodos de diagnóstico y tratamiento, las enfermedades bacterianas del Sistema Nervioso Central continúan siendo un gran desafío para la salud y la vida de muchos pacientes, principalmente de los de edad pediátrica.

Debe hacerse notar que las enfermedades difusas del cerebro y sus envolturas se han dividido técnicamente en dos -- síndromes clínicos: (a) meningitis y (b) encefalitis; sin embargo, es poco frecuente que un agente bacteriano (en este caso H. influenzae tipo b) afecte selectivamente a las meninges o al tejido cerebral por separado, por lo que el término de "meningoencefalitis" es una descripción más representativa de la existencia clínica de ambas enfermedades. Es por esto que es más correcto hablar de la enfermedad como meningoencefalitis en lugar de meningitis.

La meningoencefalitis causada por H. influenzae tipo b ocurre con más frecuencia en la infancia que en cualquier otra edad, de ahí que la mayoría de los informes se refieren -- exclusivamente a este período y en escasa o nula proporción a la edad adulta.

La razón por la que este microorganismo se presenta predominantemente en la población infantil (cuadro No.2, No.3, No.4 y No.5), se debe a que, durante los dos primeros meses de vida, el lactante está protegido contra esta enfermedad gracias a la acción de los anticuerpos específicos de origen materno -- transferidos pasivamente, además, estos anticuerpos también los protegen contra la bacteremia producida por los microorganismos patógenos respiratorios más comunes. Los anticuerpos llevan a --

cabo la acción bactericida y la opsonización de H. influenzae - tipo b; dichos anticuerpos se han demostrado en la sangre del cordón umbilical. Se ve que esta falta de vulnerabilidad que se presenta para el desarrollo de la meningoencefalitis durante -- los dos primeros meses de vida es por lo tanto debido a la inmunidad pasiva, pero esta va disminuyendo, y esto da lugar a que H. influenzae tipo b produzca meningoencefalitis en lactantes y preescolares. En cambio en escolares, adolescentes y en adultos se van desarrollando progresiva y activamente anticuerpos contra este microorganismo; es por esto que en el curso de los últimos 15 años raramente se han dado casos de meningoencefalitis en estos grupos de edad, aunque durante los últimos siete años solo se ha identificado un caso de H. influenzae tipo b en un niño de siete años.

Vale la pena señalar que tiene importancia en este grupo de edad la meningoencefalitis producida por este microorganismo, debido a que es uno de los agentes bacterianos más frecuentes en las enfermedades meníngeas no tuberculosas.

Los factores predisponentes mencionados anteriormente como son fracturas de base de cráneo (traumatismo), septicemia, infecciones de vías aéreas superiores, otitis media aguda y crónica, bronconeumonía, neumonía, laringitis, laringotraqueitis, punción lumbar, cirugía neurológica, anestesia espinal, enfermedades debilitantes (sarampión, tosferina), antibióticos (abuso de los mismos), inmunodeficiencias, administración de drogas inmunodepresoras, edad, estado nutricional e infecciones intestinales juegan un papel muy importante para que se lleve a cabo la infección del LCR, originándose de esta forma una meningoencefalitis secundaria, la cual se puede originar a partir de un foco bacteriano vecinal o distante. La punción lumbar, la cirugía neurológica, la anestesia espinal, la inmunodeficiencia y

la administración de drogas inmunodepresoras son de las causas menos comunes para que se lleve a cabo una meningoencefalitis secundaria, pero esto no quiere decir que no sean importantes también. Es por esto que el médico debe de poner más atención en los factores predisponentes con el fin de evitar la producción de una meningoencefalitis causada por H. influenzae tipo b.

Hay una mayor frecuencia de portadores sanos (cuadro No.7 y No.8) en los familiares de niños con meningoencefalitis, así como en las personas que han tenido contacto íntimo con los pacientes; así mismo, refleja el riesgo mucho mayor -- que tienen los contactos familiares, sobre todo si se trata de lactantes y preescolares, de desarrollar la enfermedad por este microorganismo, debido a la alta prevalencia de la colonización nasofaríngea.

En la meningoencefalitis continúa habiendo letalidad, sobre todo en los lactantes. Aunque no es el objeto del -- presente trabajo hacer un análisis de dichos factores, vale la pena señalar que probablemente la causa más importante de que tengamos todavía tan elevada letalidad en nuestro medio, consiste en que una proporción grande de estos enfermos se lleva tardíamente a cualquier institución, además de que un gran porcentaje de estos enfermos llegan por primera vez al médico con secuelas irreversibles. Sin embargo, la letalidad por meningoencefalitis ha disminuído (cuadro No.1), los factores involucrados en este descenso son múltiples: diagnóstico más oportuno, conocimiento de la epidemiología y reconocimiento y manejo adecuado de las complicaciones de la fase aguda.

Los síntomas predominantes en meningoencefalitis -- son la fiebre y los signos de irritación meníngea, con una notable alteración de la conciencia y fenómenos convulsivos en ma--

por porcentaje.

Las complicaciones de la fase aguda señaladas en el cuadro No.15 y tabla No. 5, son las que con mayor frecuencia de terminan la muerte del paciente en las etapas de la enfermedad, de tal forma que es necesario identificarlas tempranamente para aumentar las posibilidades de sobrevida.

El edema cerebral grave es una de las complicaciones más frecuentes, su manejo debe ser considerado desde el punto de vista terapéutico y preventivo, ya que todos los casos -- causan edema cerebral de grado variable, que aumenta durante -- las primeras horas del tratamiento antibiótico, ya que el efecto de éste no es inmediato.

El status epilepticus es la segunda complicación en frecuencia y también es causa frecuente de muerte.

La dificultad que ocasionalmente se encuentra en el diagnóstico de la meningoencefalitis es cuando los pacientes no tienen definidos los signos clínicos de irritación meníngea.

En el cuadro No. 16 puede apreciarse que de los 547 sobrevivientes, el 33.8% quedó con secuelas permanentes.

Aproximadamente del 50% de los niños que no presentan secuelas la mitad de este porcentaje tiene disminuido su -- coeficiente intelectual.

El pronóstico de esta enfermedad es aún muy sombrío teóricamente, de un grupo de 100 lactantes con meningoencefalitis, fallecerán de 10 a 12, 30 a 34 quedarán con secuelas neurológicas incapacitantes y de los 54 a 60 restantes, probablemente la mitad tendrá un coeficiente intelectual inferior del normal.

Siendo H. influenzae tipo b la causa frecuente de enfermedades generalmente graves, sobre todo a nivel del Sistema Nervioso Central y considerando el porcentaje que se encuen-

tra de resistencia a la ampicilina (14-18%) y ninguna cepa resistente al cloramfenicol, se justifica substituir a la ampicilina por el cloramfenicol en el tratamiento de las enfermedades causadas por esta bacteria. Aunque se utiliza el esquema de combinación cloramfenicol-ampicilina y se obtienen buenos resultados, después de haber revisado toda la información, seríamos de la opinión de no utilizar la combinación ampicilina-cloramfenicol para el manejo de este problema infeccioso, ya que el resultado presuntivo del laboratorio y la experiencia clínica son suficientes para decidir el uso de uno u otro como antibiótico de primera elección, además del riesgo grave que implica el utilizar dos antimicrobianos de amplio espectro. La existencia en otros países de cepas resistentes al cloramfenicol, obliga a establecer un programa permanente de vigilancia periódica sobre los cambios en el patrón de sensibilidad de este microorganismo a los antibióticos, para detectarlos oportunamente y mantener definido el antibiótico de primera elección. Se recomienda incluir en las pruebas de sensibilidad para este bacilo, además de la ampicilina y el cloramfenicol, al trimetropín-sulfametoxazol, ya que por sus características de difusibilidad adecuada al Sistema Nervioso Central, pudiera ser una posibilidad terapéutica en caso de aparecer cepas resistentes al cloramfenicol.

La resistencia frente a los antibióticos que ha presentado H. influenzae tipo b, es una de las grandes razones para mantener la vigilancia en la producción de una vacuna. Con la administración de ésta, la presencia de anticuerpos se presenta más en el grupo de 18 a 23 meses de edad, pero es menor en los bebés menores de 12 meses de edad y en el grupo intermedio de 12 a 17 meses de edad, por lo que requieren de más atención estos grupos.

Por todo lo explicado en el capítulo de diagnóstico

del laboratorio, se piensa que las dificultades técnicas para la obtención de H. influenzae tipo b son numerosas debido a los siguientes hechos:

1.- La muestra de LCR enviada al laboratorio no puede proporcionar los cultivos positivos debido a que, en presencia de síntomas neurológicos, si al paciente se le han administrado previamente antibióticos por espacio de 3 a 5 días, al efectuar el estudio del LCR, éste puede reportarse tanto bacteriológica, como citológica y químicamente normal. Al suspender el tratamiento y existiendo una mínima cantidad de H. influenzae tipo b viables, el paciente recae irremediabilmente ante la multiplicación de estas bacterias (meningoencefalitis mal tratada).

2.- El uso en el laboratorio de Bacteriología de medios de cultivos inadecuados, de factores de crecimiento proporcionados inadecuadamente, de medios de cultivo no esterilizados o deshidratados y con contaminación con el agua de condensación.

3.- El retraso de la siembra de la muestra enviada, ya que H. influenzae tipo b es un microorganismo susceptible a la autólisis.

4.- El escaso número de bacterias vivas enviadas en la muestra, ya que por error la muestra pudo haber sido guardada en el refrigerador.

5.- Por otro lado, no todos los cultivos positivos indican meningoencefalitis, debido a que estos microorganismos pueden ser contaminación de la muestra enviada al laboratorio o errores en la toma de la misma.

Es necesario comentar que en México no se conoce con exactitud la frecuencia de enfermedades por H. influenzae tipo b y que esta enfermedad tiende a aumentar en los meses de invierno.

CAPITULO V.
CONCLUSIONES.

- 1.- H. influenzae tipo b es un microorganismo patógeno debido a la presencia de sus antígenos superficiales los cuales son: el polisacárido capsular tipo b, el lipopolisacárido y las proteínas de la membrana superficial.
- 2.- Esta enfermedad se presenta principalmente en niños de dos meses a cinco años de edad, debido a que es un grupo en el cual su inmunidad pasiva ya se encuentra muy baja o es nula.
- 3.- El cuadro clínico está constituido por un síndrome infeccioso, uno de hipertensión intracraneana y uno de irritación meníngea.
- 4.- Es muy importante la realización del examen microscópico directo del LCR para poder obtener un diagnóstico presuntivo.
- 5.- Los medios de cultivo más adecuados para el aislamiento de H. influenzae son: agar gelosa chocolate con isovitalax y hemoglobina, agar sangre de caballo y agar de Levinthal con enriquecimiento de Fildes.
- 6.- Las pruebas inmunoserológicas más adecuadas para identificar H. influenzae tipo b son: reacción de hinchamiento capsular por ser más rápida para el diagnóstico, contrainmunoelectroforesis, aglutinación en látex y ELISA.
- 7.- Entre las pruebas bioquímicas más importantes tenemos: prueba de conversión del ácido d-aminolevulínico a porfirinas, fermentación de la glucosa, la prueba de descarboxilación de ornitina, producción de indol y la prueba de la ureasa.
- 8.- Al ser la meningoencefalitis un cuadro muy grave y la causa da por H. influenzae tipo b de suma importancia en niños entre 2 meses a 5 años de edad, se ve la necesidad de la rapidez en la realización de las pruebas de laboratorio, así como la de te

ner nuevos métodos que permitan lograrlo.

CAPITULO VI.
BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Anderson P., Insel R. A.
A Polysaccharide-Protein Complex from Haemophilus influenzae Type b. I. Activity in Weanling Rabbits and Human T Lymphocytes. J. Infect. Dis. 144(6):509-520, 1981.
- 2.- Anderson P., Insel R. A., Smith D. H., Cate T. R., Couch R. B., Glezen W. P..
A Polysaccharide-Protein Complex from Haemophilus influenzae Type b. III. Vaccine Trial in Human Adults. J. Infect. Dis. 144(6):530-538, 1981.
- 3.- Anderson P., Smith D. H.
Immunogenicity in Weanling Rabbits of a Polyribophosphate Complex from Haemophilus influenzae Type b. J. Infect. Dis. 136(Suppl.):S63-S70, 1977.
- 4.- Anderson P., Smith D. H., Ingram D. L., Wilkins J., Wehrle P. P., Howie V. M.
Antibody to Polyribophosphate of Haemophilus influenzae Type b in Infants and Children: Effect of Immunization with Polyribophosphate. J. Infect. Dis. 136(Suppl.):S57-S62, 1977.
- 5.- Arenas V. M., Espinosa A., Pijoan C., Calderón E.
Frontera de Investigación.
Primera Edición.
Universidad Autonoma Metropolitana. pags.18-31, 58-92. 1981.
- 6.- Ayyagari A., Kumar L., Agarwal K. C., Sharma M., Pande D.
Counter current immunoelectrophoresis in the diagnosis of Haemophilus influenzae meningitis in children. Indian. J. Med. Res. 70:168-172, 1979.
- 7.- Ayyagari A., Mahanta J., Sharma M., Chakravarti R. N., Agarwal K. C.
Experimental meningitis produced by Haemophilus influenzae Type b in infant rats. Indian. J. Med. Res. 73:161-166, 1981.

- 8.- Azini P. H., Chase P. A.
The role of cefamandole in the treatment of Haemophilus influenzae infections in infants and children. *J. Pediatr.* 98(6):995-1000, 1981.
- 9.- Balows A., Hausler W. J.
Diagnostic Procedures for: Bacterial, Mycotic and Parasitic Infections.
Sixth Edition.
American Public Health Association., pags. 431-441., 1981.
- 10.- Barenkamp S. J., Munson R. S., Granoff D. M.
Subtyping Isolates of Haemophilus influenzae Type b by Outer Membrane Protein Profiles. *J. Infect. Dis.* 143(5): 668-676, 1981.
- 11.- Barriga A. G., Carreón V. E., Ruiz S. D.
Meningoencefalitis Presentación de 500 casos bacteriológicamente comprobados. *Rev. Méd. del IMSS.* 18(5):517-530, 1979.
- 12.- Bell W. E.
Treatment of Bacterial Infections of the Central Nervous System. *Ann. Neurol.* 9(4):313-327, 1981.
- 13.- Blair J. E., Lennette E. H., Truant J. P.
Manual of Clinical Microbiology.
American Society for Microbiology., pags. 216-219., 1970.
- 14.- Bleich H. L., Boro E. S.
Microbial IgA proteases. *N Engl. J. Med.* 298(26):1459-1463, 1978.
- 15.- Boies E. G., Granoff D. M., Squires J. E., Barenkamp S. J.
Development of Haemophilus influenzae type b meningitis in a household contact treated with rifampin. *Pediatrics.* -- 70(1):141-142, 1982.

- 16.- Briody B. A., Gillis R. E.
Microbiology and Infections Disease.
Mc. Graw-Hill Book Company., pags.547-560.,1974.
- 17.- Broene G. R.
Type Haemophilus influenzae infections. Pediatrics. 64(5):
699-700,1979.
- 18.- Bryan A. H., Bryan C. A., Bryan C. G.
Bacteriología. Principios y Prácticas.
Sexta Edición.
Compañía Editorial Continental, S. A., pags.333-334.,1981
- 19.- Burdon K. L., Williams R. P.
Microbiología.
Primera Edición.
Publicaciones Cultural, S. A., pags.560-561,567-568.,1974.
- 20.- Calderón E., Prado V. A.
Padecimientos infecciosos del Sistema Nervioso Central. ---
Bol. Méd. Hosp. Infant. 25:313-322,1968.
- 21.- Carvalho F. E., Costa E., Silva I. C., Silva C. P., Costa Y. A.,
Korzeniowski O., Sande M., Rocha H.
Tratamento da meningite bacteriana con cefamandole. Rev. --
Inst. Med. Trop. Sao. Paulo. 20(6):342-346,1978.
- 22.- Collee J. G.
Microbiología Médica Aplicada. Microbiología Básica Vol. 3.
H. Blume Ediciones., pags.72-73.,1978.
- 23.- Conn H. F., Rakel R. E., Johnson T. W.
Medicina Familiar. Teoría y Práctica.
Ed. Interamericana., pags.666,974-975.,1974.
- 24.- Correa P., Arias S. J., Pérez T. R., Carbonell L. M.
Texto de Patología.
Segunda Edición.
La Prensa Médica Mexicana., pags.747-784.,1975.

- 25.- Cowan S. T., Steel K. J.
Manual para la Identificación de Bacterias de Importancia -
Médica.
Segunda Edición.
Compañía Editorial Continental, S. A., pags.167-169.,1979.
- 26.- Chad Z. H., Lee P. E., Reece E. R., Powell K. R.
Haemophilus influenzae type b meningitis: Occurrence in three
siblings over a two-year period. Pediatrics. 66(1):9-13,1980.
- 27.- Chartrand S. A., Marks M. I., Roberts R., Jubelirer D. P., ---
Plunket D. C.
Development of Haemophilus influenzae meningitis in patients
treated with cefamandole. J. Pediatr. 98(6):1003-1005,1981.
- 28.- Check W. A.
Oral chloramphenicol for bacterial meningitis: effective and
safe. JAMA. 244(17):1883-1884,1980.
- 29.- Chusid J. G.
Neuroanatomía Correlativa y Neurología Funcional.
Tercera Edición.
El Manual Moderno, S. A., pags.236-240,330-331,345-351.,1974.
- 30.- Dajani A. S., Asmar B. I., Thirumoorthi M. C.
Systemic Haemophilus influenzae disease: An overview. J. ---
Pediatr. 94:355,1979.
- 31.- Davis B. D., Dulbecco R., Eisen H. N., Ginsberg H. S., Wood W.B.
Tratado de Microbiología.
Segunda Edición.
Ed. Salvat, S. A., pags.818-822.,1978.
- 32.- De Graff J., Elwell L. P., Falkow S.
Molecular nature of two beta-lactamase-specifying plasmids
isolated from Haemophilus influenzae type b. J. Bacteriol.
126:439-446,1976.

- 33.- Denis F. A., Chiron J. P.
Meningitis caused by Haemophilus influenzae type c. J. Pediatr. 93:1064, 1978.
- 34.- Denis F., Saulnier M., Roger-Dalbert Y., Chiron J. P., Boup -- S. M., Cadoz M., David-Prince M., Mar I. D.
Le test d'agglutination au latex dans le diagnostic des méningites purulentes á N. meningitidis A et C, H. influenzae b et S. pneumoniae. Nouv. Presse. Med. 10(29):2427---2430, 1981.
- 35.- Dubos R. J.
Bacterial and Mycotic Infections of Man.
Third Edition.
J.B. Lippincott Company., pags. 470-483., 1958.
- 36.- Eavey R. D., Malekzakeh M., Wright H. T.
Bacterial meningitis secondary to abscess of the nasal septum. Pediatrics. 60(1):102-105, 1977.
- 37.- Elwell L. P., De Graff J., Seibert D., Falkow S.
Plasmid-linked ampicill resistance in Haemophilus influenzae type b. Infect. Immun. 12:404-410, 1975.
- 38.- Fainstein V., Musher D. M., Cate T. R.
Bacterial adherence to pharyngeal cells during viral infection. J. Infect. Dis. 141:172, 1980.
- 39.- Flesher A. R., Insel R. A.
Characterization of lipopolysaccharide of Haemophilus influenzae. J. Infect. Dis. 138(6):719-730, 1978.
- 40.- Frobisher M., Sommermeyer L., Goodale R. H.
Microbiología y Patología para Enfermeras.
Quinta Edición.
Ed. Interamericana., pags. 269-270, 577-580., 1962.
- 41.- Geiseler P. J., Nelson K. E.
Bacterial meningitis without clinical signs of meningeal irritation. South. Med. J. 75(4):448-450, 1982.

- 42.- Gigliotti F., Insel R. A.
Protection from infection with Haemophilus influenzae type b by monoclonal antibody to the capsule. J. Infect. Dis. - 146(2):249-253, 1982.
- 43.- Gillies R. R., Dodds T. C.
Bacteriology Illustrated.
Second Edition.
I. J. Livin, Gstone LTD., pags. 112-115, 144-145., 1968.
- 44.- Ginsburg C. M.
Epiglottitis, meningitis and arthritis due to Haemophilus influenzae type b presenting almost simultaneously in siblings. J. Pediatr. 87(3):492-493, 1975.
- 45.- Ginsburg C. M., McCracken G. H., Rae S. y col.
Haemophilus influenzae type b: disease and immunity in humans. Ann. Inter. Med. 78:259, 1973.
- 46.- González S. N., Gómez B. J., Calderón J. E.
Meningitis bacterianas. Rev. Fac. Med. Mex. año 18, 18(11): 36-50, 1975.
- 47.- Granoff D. M. y Nankervis G. A.
Circulating Capsulated Antigen in infants rats infected -- with Haemophilus influenzae type b. J. Infect. Dis. 136(2): 292-296, 1977.
- 48.- Granoff D. M., Sargent E., Jolivet D.
Haemophilus influenzae type b osteomyelitis. Am. J. Dis. - Child. 132:488, 1978.
- 49.- Guerina N. G., Langermann S., Clegg H. W., Kessler T. W., ----
Goldmann D.
Adherence of piliated Haemophilus influenzae type b to --- human oropharyngeal cells. J. Infect. Dis. 146(4):564, 1982.

- 50.- Guiscafre H., García M. M., Jaime M., Trejo J. A., García M., Hernández R., Muñoz O.
Frecuencia de Haemophilus influenzae resistente a ampicilina y de S. pneumoniae resistente a penicilina en portadores sanos. Arch. Invest. Méd. 12(1):141-151, 1981.
- 51.- Guiscafre H., Martínez M. C., Benitez L., Muñoz O.
Hipoacusia postmeningoencefalitis por Haemophilus influenzae. ¿Es el germen o la ampicilina?. Arch. Invest. Méd. -- 11(4):12, 1980. V Reunión Interna de Investigación.
- 52.- Gunsalus I. C., Stanier R. Y.
The bacteria.
Structure. Vol.1
Academic Press., pag.109., 1960.
- 53.- Hassink S. G., Boucek R. J., Graham T. P., Karzon D. T., Sell S. H.
Transposition of the great arteries: Possible risk factor for Haemophilus influenzae type b meningitis. J. Pediatr. 94(5):755-757, 1979.
- 54.- Herrera P., Cuellar A., Vildósola C., Samith S., Pronzel I.
Meningitis purulenta y neumopatía aguda por Haemophilus influenzae. Rev. Chil. Pediat. 51(2):104-106, 1980.
- 55.- Hyslop N. E., Swartz M. N.
Bacterial meningitis. Postgr. Med. 58(3):120-128, 1975.
- 56.- Insel R. A., Anderson P., Loeb M. R., Smith D. H.
A polysaccharide-protein complex from Haemophilus influenzae type b. 11. Human antibodies to its somatic components. J. Infect. Dis. 144(6):521-529, 1981.
- 57.- Instituto Mexicano del Seguro Social.
Guías. Diagnóstico Terapéuticas.
pags.477-483., 1981.

- 58.- Jacobs R. F., Wilson C. B., Laxton J. G., Haas J. E., Smith A. L.
Cellular uptake and intracellular activity of antibiotics against Haemophilus influenzae type b. J. Infect. Dis. --- 145(2):152-159, 1982.
- 59.- Jawetz E., Melnick J. L., Adelberg E. A.
Manual de Microbiología Médica.
Septima Edición.
El Manual Moderno., pags. 259-261., 1977.
- 60.- Junqueira L. C., Carneiro J.
Histología Básica.
Salvat Editores., pags. 169-172., 1973.
- 61.- Kaplan K. M., Oski F. A.
Anemia with Haemophilus influenzae meningitis. Pediatrics. 65(6):1101-1104, 1980
- 62.- Kayhty H., Jousimies S. H., Peltola H., Maketa P. H.
Antibody response to capsular polysaccharides of groups A and C Neisseria meningitidis and Haemophilus influenzae - type b during bacteremic disease. J. Infect. Dis. 143(1): 32-41, 1981.
- 63.- Kempe C. H., Silver H. K., O'Brien D.
Diagnóstico y Tratamiento Pediátricos.
Cuarta Edición
El Manual Moderno, S.A., pags. 542-609, 1028-1029., 1981.
- 64.- Kenny J. F., Isburg Carroll., Michaels R. H.
Meningitis due to Haemophilus influenzae type b resistant to both ampicillin and chloramphenicol. Pediatrics. 66(1): 14-16, 1980.
- 65.- Kilian M.
A Taxonomic study of the genus Haemophilus, with the proposal of a new species. J. Gral. Microbiol. 93:9-62, 1976.

66.- Kilian M., Heine J. J., Bulow P.

Haemophilus in the upper respiratory tract of children. A bacteriological, serological and clinical investigation. - Acta. Pathol. Microbiol. Scand. Sect. B. 80:571, 1972.

67.- Krause R. M.

Symposium on the current status and prospects for improved and new bacterial vaccines: Welcome and introduction. J. - Infect. Dis. 136(Supl.):S8-S12, 1977.

68.- Krupp M. A., Chatton M. J.

Diagnóstico Clínico y Tratamiento.

El Manual Moderno., pags. 895-897, 936-939., 1979.

69.- Kumate J., Gutierrez G.

Manual de Infectología.

Septima Edición.

Ediciones Médicas del Hospital Infantil de México, "Federico Gomez"., pags. 164-172., 1980.

70.- Lam J. S., Granoff D. M., Gilsdorf J. R., Costerton J. W.

Immunogenicity of outer membrane derivatives of Haemophilus influenzae type b. Curr. Microbiol. 3:359-364, 1980.

71.- Lennette E. H., Balows A., Hausler W. J. y col.

Manual of Clinical Microbiology.

Third Edition.

American Society for Microbiology., pags. 330-336., 1980.

72.- Leonberg S. C.

Fulminating Haemophilus influenzae meningitis in childhood.

Dis. Nerv. Syst. 30(4):254-256, 1969.

73.- Loeb M. R., Smith D. H.

Outer membrane protein composition in disease isolates of H. influenzae: Pathogenic and epidemiological implications. Infect. Immun. 30(3):709-717, 1980.

- 74.- Loeb M. R., Zachary A. L., Smith D. H.
Isolation and partial characterization of outer and inner membranes from encapsulated H. influenzae type b. *J. Bacteriol.* 45:596-604,1981.
- 75.- Lorber J.
Antibiotic treatment of Haemophilus influenzae type b meningitis: The problem of bacterial resistance. *Develop. - Med. Child. Neurol.* 23:531-533,1981.
- 76.- Lynn M., Tewari R. P., Solotorovsky M.
Immunoprotective activity of ribosomes from H. influenzae. *Infect. Immun.* 15(2):453-460,1977.
- 77.- Mac Mahon P., Rambera P.
Potential hazard of discontinuing chloramphenicol once -- sensitivity results are available in Haemophilus meningi- --
tis. *Lancet.* 1(8177):1080,1980.
- 78.- MacPherson C. F., Heidelberger M., Alexander H. E., Leidy G.
The specific polysaccharides of types A, B, C, D and F Haemophilus influenzae. *J. Immunol.* 52:207-219,1946.
- 79.- Mäkelä P. H.
Antibodies to lipopolysaccharide in the acute-phase sera -- of patients with meningitis due to Haemophilus influenzae --
type b. *J. Infect. Dis.* 146(5):714,1982.
- 80.- Mäkelä P. H., Peltola H., Käyhty H., Jousimies H. and col.
Polysaccharide vaccines of group A Neisseria meningitidis and Haemophilus influenzae type b: A field trial in Finland. *J. Infect. Dis.* 136(Suppl.):S43-S50,1977.
- 81.- Marks M. I.
Antibiotic therapy of serious Haemophilus infections a -- continuing problem. *J. Pediatr.* 98(6):910-912,1981.

- 82.- Marshall R., Toele D. W., Klein J. O.
Unsuspected bacteremia due to Haemophilus influenzae: Outcome in children not initially admitted to hospital. J. --
Pediatr. 95(5):690-695, 1979.
- 83.- Martinez R., Novoa J.
La Salud del Niño y del Adolescente. Tomo 1 y 11.
Salvat Mexicana de Ediciones, S.A., pags. 752-758, 773-784, -
794-809, 1331-1336, 1398-1404, 1796-1797., 1981.
- 84.- Méndez F.
Microbiología Médica. Tomo 1.
Asociación Mexicana de Profesores de Microbiología y Parasitología en Escuelas de Medicina., pags. 583-588., 1981.
- 85.- Mendoza P., Terminel M., Ruiz L., Pereda M. A.
Meningoencefalitis. Experiencias bacteriológicas, clínicas y epidemiológicas en cinco años. Gac. Méd. Méx. 109(5):---
335-342, 1975.
- 86.- Merck E.
Manual de Microbiología.
pags. 9-10, 36, 104-106, 272-274, 374-375.
- 87.- Michaels R. H.
Increase in influenzal meningitis. N. Engl. J. Med. 285---
(12):666-667, 1971.
- 88.- Michaels S. R., Norden C. W.
Pharyngeal colonization with Haemophilus influenzae type -
b; A longitudinal study of families with a child with me---
ningitis or epiglottitis due to Haemophilus influenzae type
b. J. Infect. Dis. 146(2):222-227, 1977.
- 89.- Myrvik Q. N., Pearsall N. N., Weiser R. S.
Bacteriología y Micología Médicas.
Primera Edición.
Interamericana., pags. 309-317., 1977.

90.- Mortimer E. A.

Immunization against Haemophilus influenzae. Pediatrics. 52(5):633-635, 1973.

91.- Moxon R. E., Ostrom P. T.

Haemophilus influenzae meningitis in infants rats: Role -- of bacteremia in pathogenesis of age dependent inflammatory responses in cerebrospinal fluid. J. Infect. Dis. 135(2):- 303-307, 1977.

92.- Moxon R. E., Vaughn K. A.

The type b capsular polysaccharide as a virulence determinant of Haemophilus influenzae: Studies using clinical --- isolates and laboratory transformants. J. Infect. Dis. --- 143(4):517-524, 1981.

93.- Mulks M. H., Kornfeld S. J., Frangione B., Plaut A. G.

Relationship between the specificity of IgA Proteases and serotypes in Haemophilus influenzae. J. Infect. Dis. 146-(2):266-274, 1982.

94.- Muñoz O., Cantú J., Trejo J. A., Fierro H.

Meningoencefalitis purulenta. I Etiología y tratamiento -- antibiotico. Gac. Méd. Méx. 115(2):89-91, 1979.

95.- Muñoz O., Cantú J., Trejo J. A., Fierro H.

Meningoencefalitis purulenta. II Complicaciones de la fase aguda y su manejo. Letalidad, secuelas y pronósticos. Gac. Méd. Méx. 115(2):91-94, 1979.

96.- Murphy T. V., Mc Cracken G. H., Zweighaft T. C., Hansen E. J.

Emergence of rifampin-resistant Haemophilus influenzae --- after prophylaxis. J. Pediatr. 99(3):406-409, 1981.

97.- Norden C. W., Michaels R. H., Melish M.

Effect of previous infection on antibody response of children to vaccination with capsular polysaccharide of Haemophilus influenzae type b. J. Infect. Dis. 132(1):69-74, --- 1975.

- 98.- O'Brien R. T., Santos J. I., Glasgow L., Landaw S. A.
Pathophysiologic basis for anemia associated with Haemophilus influenzae meningitis: Preliminary observations. -
J. Pediatr. 98(6):928-930, 1981.
- 99.- Olarte J.
Etiología de la meningitis purulenta en niños de la ciudad de México. Bol. Méd. Hosp. Infant. 18:621-629, 1960.
- 100.- O'Reilly R. J., Anderson P., Ingram D. L., Peter G., Smith D.
Circulating polyribophosphate in Haemophilus influenzae type b meningitis. J. Clin. Invest. 56:1012-1022, 1975.
- 101.- Parke J. C., Schneerson R., Robbins J. B., Schlesselman J. J.
Interim report of a controlled field trial of immunization with capsular polysaccharides of Haemophilus influenzae type b and group c N. meningitidis in Mecklenburg County, North Carolina. (March 1974-March 1976). J. Infect. Dis. 136(Suppl.):S51-S56, 1977.
- 102.- Pepple J., Moxon E. R., Yolken R. H.
Indirect enzyme-linked immunosorbent assay for the quantitation of the type-specific antigen of Haemophilus influenzae b: A preliminary report. J. Pediatr. 97(2):233-237, 1980.
- 103.- Pichichero M. E., Insel R. A.
Relationship between naturally occurring human mucosal and serum antibody to the capsular polysaccharide of Haemophilus influenzae type b. J. Infect. Dis. 146(2):243-248, 1982.
- 104.- Pittman M.
Variation and type specificity in the bacterial species Haemophilus influenzae. J. Exper. Med. 53:471-492, 1931.

105.- Plouffe J. F., Powell.

Serious infections in adults exposed to children with ---
Haemophilus influenzae type b meningitis. Ann. Intern. ---
Med. 94(6):785-786, 1981.

106.- Pohle H. D.

La meningite purulenta nel bambino e nell'adulto. Min. --
Med. 71:2909-2913, 1980.

107.- Prober C. G., Moshe M., Bannatyne R. M.

Haemophilus influenzae type b in a Nursery School: The --
value of biotyping. Pediatrics. 69(2):215-218, 1982.

108.- Quiroz G. F. y Col.

Tratado de Anatomía Humana. Tomo 11.

Décima Edición.

Porrúa, S.A., pags. 370-380., 1972.

109.- Raucher H. S., Murphy R. J., Barzilai A.

Meningitis occurring during therapy for otitis media with
cephalexin and cefaclor. Am. J. Dis. Child. 136:745-746,-
1982.

110.- Rennels M. B., Wald E. R.

Treatment of Haemophilus influenzae type b meningitis in
children with cerebrospinal fluid shunts. J. Pediatr. ---
97(3):424-426, 1980.

111.- Rohde P. A. y Col.

BBL.

Quinta Edición.

Editores Asociados, S.A., pags. 19-21, 23-24, 35-38, 72-74, 75,
80, 111, 126, 128, 145, 153, 154 y 164., 1971.

112.- Sabiston D. C.

Tratado de Patología Quirúrgica de Davis-Christopher. ---
Tomo 11.

Ed. Interamericana., pags. 1224-1243., 1974.

- 113.- Sanders D. Y., Wesley H., Winston N. C.
Failure of response to ampicillin in Haemophilus influenzae meningitis. Amer. J. Dis. Child. 117:331-333, 1969.
- 114.- Sell S. H.
The clinical importance of Haemophilus influenzae infections in children. Pediatr. Clin. North. Am. 17:415, 1970.
- 115.- Senez J. C., Sanz P., Pérez J.
Microbiología General.
Primera Edición.
Alhambra, S.A., pags. 167, 213-216., 1976.
- 116.- Schaad U. B., Nelson J. D., McCracken G. H.
Recrudescence and relapse in bacterial meningitis of childhood. Pediatrics. 67(2):188-195, 1981.
- 117.- Scheifele D. W., Ward J. I., Siber G. R.
Advantage of latex agglutination over countercurrent immunoelectrophoresis in the detection of Haemophilus influenzae type b antigen in serum. Pediatrics. 68(6):888-891, 1981.
- 118.- Schiffer M. S., Schneerson R. and col.
Clinical, bacteriological and immunological characterization of ampicillin-resistant Haemophilus influenzae type b. Lancet. August:257-259, 1974.
- 119.- Schneerson R., Barrera O., Sutton A., Robbins J. B.
Preparation, characterization and immunogenicity of H. influenzae type b polysaccharide-protein conjugates. J. Exp. Med. 152:361-376, 1980.
- 120.- Shenep J. L., Munson R. S., Granoff D. M.
Human antibody responses to lipopolysaccharide after meningitis due to Haemophilus influenzae type b. J. Infect. Dis. 145(2):181-190, 1982.

- 121.- Smith A. L.
Is Haemophilus influenzae meningitis contagious?. N. Engl. J. Med. 301(3):155-156,1979.
- 122.- Smith D. T., Conant N. F., Willett H. P. y col.
Microbiología de Zinsser.
Cuarta Edición.
Unión Tipográfica Editorial Hispano-Americana., pags. 596--606, 1971.
- 123.- Smith D. H., Ingram D. L., Smith A. L., Gilles F., Bresnan M.
Diagnosis and Treatment bacterial meningitis. A symposium. Pediatrics. 52(4):586-600, 1973.
- 124.- Smith D. D., Peter G., Ingram D. L., Harding A. L., Anderson P.
Responses of children immunized with the capsular polysaccharide of Haemophilus influenzae type b. Pediatrics. -- 52(5):637-644, 1973.
- 125.- Takeda A. K., Umekita L. F., Boscardin N. B., Melles C. E., Taunay A.
Imunoelctroforese cruzada no diagnostico da meningite por Haemophilus influenzae tipo b. Rev. Inst. Adolfo Lutz. -- 39(2):165-169, 1979.
- 126.- Teele D. W., Dashefsky B., Rakusan T., Klein J. O.
Meningitis after lumbar puncture in children with bacteremia. N. Engl. J. Med. 305:1079-1081, 1981.
- 127.- Tewari R. P., Lynn M., Birnbaum A. J., Solotorovsky M.
Characterization of the immunoprotective antigen of ribosomal preparation from H. influenzae. Infect. Immun. ---- 19(1):58-65, 1978.
- 128.- Thorn G. W., Adams R. D., Braunwald E., Isselbacher K. J., Petersdorf R. G.
Medicina Interna Harrison. Tomo 1 y 11.
Quinta Edición.
La Prensa Médica Mexicana., pags. 469-477, 996-1001., 1981.

- 129.- Tortora G. J., Anagnostakos N. P.
Principios de Anatomía y Fisiología.
Harla, S.A., pags. 260-264, 373-382., 1977.
- 130.- Trejo J. A., Guiscafré H., García M., Jaime M., González S., -
Muñoz O.
Sensibilidad de Haemophilus influenzae a la ampicilina y
al cloramfenicol en niños de la ciudad de México. Bol. --
Méd. Hosp. Infant. Méx. 38(1):79-86, 1981.
- 131.- Uchiyama N., Greene G. R., Kitts D. B., Thrupp L. D.
Meningitis due to Haemophilus influenzae type b resistant
to ampicillin and chloramphenicol. J. Pediatr. 97(3):421-
424, 1980.
- 132.- Valenzuela R. H., Luengas J., Marquet L.
Manual de Pediatría.
Novena Edición.
Rogelio H. Valenzuela., pags. 370-381, 471-484, 584-586, 607--
617, 655-662., 1975.
- 133.- Walker S., Feder H. M., Faber M. M., Ginsburg C. M., Dunkle L.
M., Teele D. W., Dashefsky B., Klein J. O.
Meningitis after lumbar puncture in children with bacteria
mia. N. Engl. J. Med. 306(10):608-610, 1982.
- 134.- Ward J. I., Tsai T. F., Filice G. A., Fraser D. W.
From the center for disease control. Prevalence of ampici
llin and chloramphenicol-resistant strains of Haemophilus
influenzae causing meningitis and bacteremia: national --
survey of hospital laboratories. J. Infect. Dis. 138(3):-
421-424, 1978.
- 135.- Weller P. F., Smith A. L., Anderson P., Smith D. H.
The role of encapsulation and host age in the clearance -
of Haemophilus influenzae bacteremia. J. Infect. Dis. ---
135(1): 34-40, 1977.

- 136.- Wetherall B. L., Hallsworth P. G., McDonald P. J.
Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of Haemophilus influenzae type b antigen. J. Clin. Microbiol. ---
11(6):573-580, 1980.
- 137.- Witton.
Microbiología.
Primera Edición.
Compañía Editorial Continental, S.A., pags. 427-428., 1977.
- 138.- Wood P. R., McKee K. T., Lohr J. A., Owen J.
Haemophilus influenzae meningitis in school-aged children.
JAMA. 247(8):1162-1163, 1982.
- 139.- Zamenhof S., Leidy G., Fitzgerald P. L., Alexander H. E., --
Chargaff E.
Polyribophosphate, the type-specific substance of Haemo--
philus influenzae type b. J. Biol. Chem. 203:695-704, 1953.
- 140.- Zapatero E.
Microbiología Médica. Bacteriología, Virología, Micología
y Protozoología.
Séptima Edición.
Sever-Cuesta., pags. 35-39, 329-331., 1974.