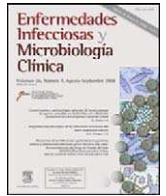


# Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Revisión

## Diagnóstico microbiológico de las infecciones del sistema nervioso central

María Gema Codina<sup>a,\*</sup>, Marina de Cueto<sup>b</sup>, Diego Vicente<sup>c,e</sup>, Juan Emilio Echevarría<sup>d,f</sup> y Guillem Prats<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Servei de Microbiologia, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona, España

<sup>b</sup> Unidad de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas, Hospital Virgen Macarena, Sevilla, España

<sup>c</sup> Servicio de Microbiología, Hospital Donostia, San Sebastián, España

<sup>d</sup> Servicio de Microbiología Diagnóstica, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España

<sup>e</sup> CIBER Enfermedad Respiratoria (CIBERES)

<sup>f</sup> CIBER de Epidemiología y Salud Pública (CIBERSP)

### INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

#### Historia del artículo:

Recibido el 7 de octubre de 2010

Aceptado el 11 de octubre de 2010

#### Palabras clave:

Absceso cerebral

Derivaciones de líquido cefalorraquídeo

Encefalitis

Meningitis

Procedimientos diagnósticos

#### Keywords:

Cerebral abscess

Cerebrospinal fluid shunt

Encephalitis

Meningitis

Diagnostic procedures

### R E S U M E N

Las infecciones del sistema nervioso central presentan una elevada mortalidad y morbilidad. A pesar de los avances en el diagnóstico y tratamiento, estos valores continúan siendo altos. Pueden ser causadas por diferentes microorganismos, incluyendo bacterias, virus, hongos y protozoos. Su presentación clínica puede ser en forma de meningitis, encefalitis, abscesos cerebral o epidural, o infecciones de las derivaciones de líquido cefalorraquídeo. El curso clínico puede ser agudo, subagudo o crónico dependiendo del organismo causal y de la localización de la infección. Los viajes suponen un riesgo de infección por agentes no autóctonos como robovirus y arbovirus, y se necesitan nuevos métodos diagnósticos y terapéuticos. Para mejorar el pronóstico de estos pacientes se necesitan métodos de diagnóstico rápido, así como tratamiento antimicrobiano temprano y dirigido. Las técnicas de detección de antígeno y particularmente el diagnóstico genético mediante amplificación de ácidos nucleicos (PCR y otros) han supuesto un notable avance y mejora. En este trabajo se presentan las consideraciones clínicas y los procedimientos diagnósticos de infecciones en el sistema nervioso central.

© 2010 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

### Microbiological diagnosis of central nervous system infections

#### A B S T R A C T

The infections of the central nervous system are associated with high morbidity and mortality. Several agents including bacteria, viruses, fungi and protozoa can invade the CNS. They are different clinical presentations of these infections: meningitis, encephalitis, brain and epidural abscesses and cerebrospinal fluid shunt infections. The clinical course could be acute, subacute or chronic depending on the infecting agent and the location of the infection. The travelling entails a risk of infection by exotic agents of meningo-encephalitis such as robovirus and arbovirus, which require new diagnostic and therapeutic methods. Despite some progress in the treatment of the CNS infections, the mortality is usually high. Rapid diagnosis and emergent interventions are necessary to improve the outcome of those patients, and early and targeted antimicrobial treatment and support measures are of paramount importance for a favourable clinical patient outcome. The antigen detection techniques and particularly those of genetic diagnosis by amplification (PCR and others) have advanced, and improved the diagnostic of those diseases. In this paper the clinical signs and symptoms and diagnostic procedures of CNS infections are presented.

© 2010 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: mgcodina@vhebron.net (M.G. Codina).

## Introducción

El sistema nervioso central (SNC) puede infectarse por múltiples microorganismos incluyendo bacterias, virus, hongos y protozoos; causando meningitis, encefalitis, abscesos de diversas localizaciones o infecciones como ventriculitis a través de sistemas de drenaje. Los microorganismos pueden invadir los territorios afectados por contigüidad, por vía hematogena, siguiendo trayectos nerviosos o bien a través de sistemas de derivación del líquido cefalorraquídeo (LCR). El curso clínico de estas infecciones puede ser agudo, subagudo o crónico, dependiendo del microorganismo y de la localización del proceso infeccioso

## Recogida, transporte y conservación de las muestras

La muestra clínica y el procedimiento de su recogida, así como su transporte al laboratorio varía según el tipo de infección; existen excelentes revisiones generales sobre este aspecto<sup>1-5</sup>.

El LCR de un paciente con sospecha de meningitis es una muestra clínica prioritaria en un laboratorio de microbiología y debe procesarse de manera inmediata.

Siempre que sea posible, el LCR debe obtenerse antes de la instauración del tratamiento antibiótico, si bien los procedimientos diagnósticos no deben retrasar jamás su comienzo. La toma debe realizarse con las máximas condiciones de asepsia para evitar su contaminación, y no debe ponerse nunca en contacto con antisépticos o desinfectantes. Siempre que sea posible, la muestra se repartirá en dos tubos estériles, uno para el análisis bioquímico y otro para el estudio microbiológico, seleccionando siempre el más turbio para microbiología. Las muestras obtenidas por punciones traumáticas o las procedentes de pacientes con hemorragia subaracnoidea pueden coagularse debido al alto contenido hemático, dificultando el recuento celular. En ningún caso deben emplearse tubos con heparina para los análisis microbiológicos.

En las derivaciones externas, el LCR se obtiene a través del catéter ventricular o lumbar. En las derivaciones internas, por punción directa del reservorio o de la válvula, o en ocasiones, a través del catéter distal externalizado. Si hay signos de infección, se debe tomar una muestra de la herida quirúrgica o decúbitos cutáneos del trayecto del catéter.

Otras muestras para el diagnóstico de infecciones del SNC son el pus obtenido de abscesos cerebrales y más infrecuentemente el tejido obtenido por biopsia de lesiones nodulares o granulomatosas. Las punciones para alcanzar el territorio lesionado se guían por TAC.

Es muy importante especificar claramente las determinaciones que se solicitan: bacterias convencionales, micobacterias, hongos, virus o parásitos. Debe tenerse en cuenta que cada una de ellas precisa de técnicas específicas y consume una parte de la muestra. Para el estudio de bacterias o virus se necesita 1 ml en cada caso, y si además se quiere investigar hongos o micobacterias es necesario disponer de 2 ml adicionales para cada uno de estos estudios, e idealmente llegar a los 10 ml en total. Sin embargo, dada la dificultad y riesgo que comporta la obtención del LCR, cualquier cantidad debe ser aceptada.

En caso de que no sea posible procesar las muestras de forma inmediata, se conservarán a temperatura ambiente o en estufa a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  un máximo de 24 horas, o refrigeradas a  $2-8^\circ\text{C}$  si se desea realizar investigación de virus, pruebas de detección de antígeno o de biología molecular.

Para el diagnóstico de las meningoencefalitis víricas es aconsejable realizar una extracción de sangre en un tubo sin anticoagulante en el mismo momento en que se obtiene el LCR, con el fin de disponer de suero para estudios serológicos. En el caso de sospecha de rabia se tomará una muestra de líquido cefalorraquídeo, de saliva,

de suero y una biopsia de la piel de la nuca conteniendo folículos pilosos y se procederá a su envío a un laboratorio de referencia.

## Meningitis bacterianas agudas

*Neisseria meningitidis* y *Streptococcus pneumoniae* son responsables de más del 80% de los episodios de meningitis bacteriana aguda que se producen en personas de cualquier edad, excluyendo las edades extremas de la vida. *Haemophilus influenzae* tipo b, apenas causa episodios desde la introducción sistemática de la vacuna conjugada. *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*), además de causar infecciones neonatales, también es un agente de meningitis en adultos y ancianos, en particular afectos de cirrosis u otras enfermedades de base. A pesar de los progresos diagnósticos y terapéuticos, la mortalidad sigue siendo muy elevada, superando frecuentemente el 10%.

El estado de portador tras una infección y la posibilidad de transmisión de algunos de estos microorganismos –en particular el meningococo– tienen implicaciones en salud pública.

## Manifestaciones clínicas

La mayoría de los pacientes presentan alguno de los síntomas típicos de la meningitis, incluyendo fiebre, cefalea y rigidez de nuca<sup>6</sup>. Además, pueden aparecer vómitos, fotofobia, disfunción mental que varía desde la somnolencia hasta el coma y convulsiones. Otros signos y síntomas neurológicos como los de focalidad neurológica, la afectación de pares craneales o el edema de papila son menos frecuentes. La presentación aguda es la más habitual, pero en ocasiones, puede ser subaguda, con un inicio más paulatino. En los lactantes, ancianos y pacientes con inmunosupresión los signos y síntomas suelen ser más sutiles, siendo frecuente que la meningitis se manifieste como un cuadro febril aislado o acompañado de síntomas inespecíficos como irritabilidad, rechazo del alimento, confusión o apatía. Aunque no es posible diferenciar clínicamente las meningitis causadas por los distintos microorganismos implicados, algunos signos y síntomas pueden ser orientadores, como las petequias en la infección meningocócica, o el antecedente de otitis o fístula de LCR en caso de etiología neumocócica.

En la meningitis meningocócica la bacteriemia puede ser un proceso transitorio o establecerse, dando lugar a una sepsis muy grave con *shock*, coagulación intravascular diseminada (CID) y fracaso multiorgánico.

## Diagnóstico

El LCR de pacientes con meningitis bacteriana tiene habitualmente un aspecto opalino o turbio por la presencia de leucocitos ( $1.000-5.000/\text{mm}^3$ ) y bacterias y la presión de salida es alta. Hay predominio de leucocitos polimorfonucleares, el recuento de proteínas está elevado y la concentración de glucosa disminuida. La meningitis por *L. monocytogenes* constituye una excepción ya que el número de células puede ser inferior a  $10^3/\text{mm}^3$ , con predominio de linfocitos.

En las meningitis bacterianas agudas hay leucocitosis con desviación izquierda, niveles elevados de proteína C reactiva y procalcitonina. En la enfermedad meningocócica se observa disminución del número de plaquetas y presencia de dímeros D cuando se acompaña de CID.

El diagnóstico microbiológico se realiza por examen microscópico, cultivo, detección de antígenos específicos o reacción en cadena de la polimerasa en el LCR. Siempre debe realizarse paralelamente hemocultivos.

La observación de microorganismos mediante la tinción de Gram del LCR posee un valor inestimable para orientar el diagnóstico. Esta tinción debe realizarse siempre del sedimento obtenido tras centrifugación. Se recomienda el empleo de una citocentrífuga que aumenta hasta 100 veces su sensibilidad comparada con la centrifugación convencional o la tinción de muestras no centrifugadas.

El cultivo es el método diagnóstico de referencia, y permite realizar posteriormente estudios de sensibilidad y de tipificación<sup>2</sup>. Su principal inconveniente es la baja rentabilidad cuando el paciente ha recibido tratamiento antibiótico previo. La inoculación del LCR en los medios de cultivo seleccionados puede realizarse tanto directamente de la muestra como del sedimento del líquido centrifugado. Debido al tipo de bacterias implicadas, deben emplearse medios enriquecidos como el agar sangre y el agar chocolate. Las placas se incubarán a 35-37°C en atmósfera aerobia enriquecida con 5% de CO<sub>2</sub>. En aquellos líquidos con recuentos celulares muy elevados puede ser útil su inoculación en un medio líquido de lectura automatizada como el empleado para hemocultivo.

Las pruebas de detección de antígenos bacterianos en el LCR (neumococo, estreptococo B, hemófilos, meningococo) se pueden realizar en pocos minutos y su simplicidad hace de ellas unas técnicas al alcance de cualquier laboratorio, aunque la baja sensibilidad es su principal desventaja. La inmunocromatografía para la detección de antígeno de neumococo en la orina puede aportar buenos resultados cuando se aplica al LCR. Su principal indicación se centra en el diagnóstico de los casos tratados cuando no se dispone de técnicas de PCR.

La introducción de las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos mediante PCR en tiempo real ha supuesto un gran avance. Las mayores ventajas son la simplificación máxima del procedimiento, la rapidez con que se obtienen los resultados, y su buena sensibilidad, que no disminuye significativamente con la administración previa de antibióticos. Los principales inconvenientes son la necesidad de personal específicamente entrenado, la falta de estandarización de los protocolos y el coste elevado. Por ello, las técnicas genómicas aun no pueden sustituir al cultivo como método de referencia.

### Meningitis neonatal

Algunos de los procesos infecciosos que afectan al recién nacido son la manifestación postnatal de una patología iniciada antes del parto, como la meningitis bacteriana. Esta enfermedad ocurre en un 0,3 por 1.000 nacidos vivos y está estrechamente relacionada con sepsis, que es hasta cinco veces más común. Este hecho ha conducido a los obstetras a administrar a la gestante antibióticos de amplio espectro ante algunas situaciones perinatales frecuentes como fiebre intraparto o sospecha de corioamnionitis<sup>7</sup>.

La clínica de la sepsis y meningitis neonatal es inespecífica y superponible a la de otras muchas patologías graves, sobre todo en la población de prematuros. El análisis de la respuesta biológica (reactantes de fase aguda, cifra de leucocitos, recuento diferencial, cifra de plaquetas, etc.) no es suficientemente sensible ni específico para identificar de manera segura al recién nacido infectado. Ello conduce a menudo a una utilización innecesaria de antibióticos durante los dos o tres primeros días de vida del neonato. De ahí la importancia de disponer de procedimientos diagnósticos rápidos y fiables.

El microorganismo más frecuentemente aislado es *Streptococcus agalactiae*. En España se ha generalizado el estudio de la colonización vagino-rectal en las gestantes (semanas 35-37 del embarazo)<sup>8,9</sup> y la administración de antibióticos intraparto a las colonizadas, y profilaxis antibiótica a los recién nacidos pretérmino cuya colonización materna no había sido estudiada por ser de una edad gestacional < 35 semanas. Actualmente están comercializadas técnicas de PCR en tiempo real que permiten detectar a portadoras

de forma muy sencilla y rápida. Una posible indicación sería aquellas gestantes no controladas durante su embarazo y en las que se tiene que hacer un diagnóstico durante el parto.

*Escherichia coli* es otro agente causal frecuente de meningitis neonatal. Su presencia se relaciona con prematuridad, bajo peso, prolongación del embarazo tras la rotura prematura de membranas, tratamientos antibióticos previos e infecciones urinarias maternas durante el embarazo.

En tercer lugar, tenemos a *L. monocytogenes*. A diferencia de los dos anteriores, que suelen transmitirse al feto durante el parto, su paso también puede ser transplacentar. Aunque esto último es muy poco frecuente, las consecuencias son muy graves, frecuentemente con muerte fetal.

El aislamiento del microorganismo en neonatos a partir de una muestra clínica significativa como el LCR o la sangre en caso de que haya también bacteriemia, es el método de referencia. Sin embargo, la utilización de antibióticos a la madre no siempre es capaz de evitar el proceso infeccioso del recién nacido, aunque con frecuencia sí que es suficiente para inhibir el crecimiento del microorganismo y por tanto ser causa de cultivos negativos. En estos casos, la PCR facilita la detección de microorganismos. No existen métodos comercializados diseñados específicamente que cubran el diagnóstico de los tres principales agentes bacterianos. Una aproximación atractiva es la que escoge como diana para la amplificación el gen que codifica para el 16S rRNA, común en bacterias. Cualquier bacteria presente en el LCR dará un resultado positivo, y la identificación de la especie se puede hacer mediante PCR en tiempo real, hibridación o secuenciación. Obviamente, esta estrategia de amplificar una región bacteriana común solo puede realizarse en muestras habitualmente estériles, y su principal inconveniente es que presenta menor sensibilidad que las amplificaciones dirigidas con iniciadores específicos.

### Meningitis tuberculosa

En la enfermedad tuberculosa la meningitis es poco habitual, aunque muy grave. Puede representar alrededor del 1% de todas las formas de presentación clínica y es más frecuente en las poblaciones de los países subdesarrollados, en los niños y en los pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). La localización meníngea puede producirse por vía hematogena durante la primoinfección o una reactivación, o bien por ruptura al espacio subaracnoideo de un foco parameningeo ya existente.

La detección de los bacilos en el LCR mediante tinción y cultivo continua siendo de referencia para hacer el diagnóstico etiológico<sup>10</sup>.

La escasa cantidad de bacterias que suele encontrarse condiciona la sensibilidad de los diferentes métodos. Para aumentar la sensibilidad se recomienda, en la medida de lo posible, trabajar con gran cantidad de muestra (6 ml) y utilizar alguna técnica de concentración. Debido a la capacidad de flotación de las micobacterias, la centrifugación directa de la muestra es poco eficaz, por lo que es recomendable, a pesar de tratarse de un líquido estéril, realizar algún tipo de pretratamiento para su concentración<sup>11</sup>. En caso de disponer de un volumen escaso que implique la utilización en su totalidad, no es necesario realizar este pretratamiento, puesto que la posibilidad de contaminación de los cultivos es despreciable. El método más recomendado para la mayoría de sistemas de cultivo en medios líquidos y técnicas de PCR es el NALC-NaOH (técnica de Kubica).

La tinción con carbolfucsina (Ziehl-Neelsen) o fluorocromos (auramina-rodamina) permite demostrar la presencia de micobacterias de forma rápida y sencilla. Estos métodos capaces de detectar 10<sup>4</sup> bacilos/ml, y su sensibilidad en el diagnóstico de la meningitis tuberculosa es del 10%.

El cultivo permite detectar cantidades menores de microorganismos, del orden de  $10^2$  bacilos/ml, así como realizar la identificación de especie, las pruebas fenotípicas de sensibilidad y los estudios epidemiológicos. Los cultivos tradicionales en Lowenstein-Jensen se positivizan entre las tres y seis semanas. Los actuales sistemas que utilizan medios líquidos con lectura automatizada pueden acortar hasta 15 días el tiempo necesario para detectar un cultivo positivo; pero cuando la muestra tiene un inóculo bajo se produce un retardo en el crecimiento. La sensibilidad del cultivo en el diagnóstico de la meningitis tuberculosa es muy variable, oscilando entre un 25 y un 79%.

Se han descrito numerosas técnicas de PCR en las que se amplifican diferentes regiones genéticas de *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*) complex como la secuencia de inserción *IS6110*, la *hsp65*, regiones de la subunidad ribosómica 16S, 23S y otras.

En la actualidad existen varios equipos comercializados, que son los más recomendables puesto que están estandarizados; los resultados pueden compararse con los de otros laboratorios y cuentan con la aprobación de diferentes organismos internacionales (CE, FDA). La mayoría de ellos están validados únicamente para muestras de origen respiratorio, algunos para muestras extrapulmonares como la orina, pero ninguno para LCR. Aunque diferentes autores han realizado estudios con estas técnicas para el diagnóstico de la meningitis tuberculosa y se usan en varios laboratorios, en ningún caso deben sustituir a los métodos convencionales<sup>12,13</sup>.

Muchas técnicas comerciales incluyen en el equipo un sistema de extracción de ácidos nucleicos, específico para dicho procedimiento. No conviene modificar el proceso en este punto puesto que las micobacterias son organismos que ofrecen dificultades especiales para ser lisadas y una técnica no adaptada específicamente a un determinado procedimiento puede condicionar un mal rendimiento de la amplificación.

Otras ventajas que ofrecen los métodos comerciales son la inclusión de controles internos; la automatización del procedimiento en todo o en parte, lo que permite ahorrar tiempo y trabajo, y algunos además ofrecen información interesante como detección de mutaciones que codifican resistencia a algunos antibióticos.

Aunque los métodos en tiempo real son idóneos para cuantificar los resultados, el valor que pueda tener esta cuantificación en diagnóstico de enfermedad tuberculosa o en el control de la eficacia de tratamiento está por establecer.

### Meningitis por criptococo

Las infecciones del SNC por *Cryptococcus neoformans* (*C. neoformans*) se dan en personas inmunodeprimidas (leucemia mieloide aguda, trasplantados y pacientes tratados con altas dosis de corticoides) y en particular en pacientes con sida<sup>14</sup>. Sin embargo, desde la introducción del tratamiento de alta eficacia, su incidencia en esta población ha disminuido drásticamente.

Su forma de aparición y evolución es subaguda con fiebre y signos de meningitis en un 30% de los afectados. Después aparece deterioro del nivel de conciencia hidrocefalia e hipertensión endocraneal.

En los pacientes con sida son frecuentes las lesiones parenquimatosas en el cerebro que pueden corresponder a criptococomas, linfomas o lesiones causadas por toxoplasma o nocardias.

Otra especie de criptococo, *Cryptococcus gattii*, antes considerado una subespecie de *C. neoformans*, causa meningitis en personas sanas. Se ha considerado que su hábitat natural son los eucaliptos de zonas tropicales y subtropicales, pero su distribución epidemiológica real está por precisar.

En las formas meníngeas, la hiperproteorraquia y la hipoglicorraquia son discretas y la pleocitosis discreta (20 a 400 células por  $\text{mm}^3$ ) con predominio de linfocitos.

El diagnóstico se hace por observación del LCR contrastado con tinta china, que permite observar la cápsula característica de esta levadura. El LCR debe cultivarse en agar sangre o agar Sabouraud incubado en aerobiosis a 35 °C durante un mínimo de siete días<sup>15</sup>.

La detección de antígeno en el LCR mediante una prueba de látex o ELISA es una técnica sensible y específica.

### Infecciones víricas del sistema nervioso central

Los virus son uno de los agentes causales más frecuentes de meningitis, encefalitis y meningoencefalitis<sup>16</sup>. Además pueden causar algunos síndromes neurodegenerativos lentos como la panencefalitis esclerosante subaguda, la leucoencefalopatía multifocal progresiva y la encefalopatía por VIH.

#### Etiopatogenia

Los virus que causan meningitis con mayor frecuencia son los enterovirus (EV), entre los que destacan los echovirus 30, 13, 6, 11 y 9, coxsackie B5 y coxsackie A9, según la nomenclatura tradicional. El virus de la parotiditis tiene actualmente un papel muy limitado gracias a la vacunación sistemática.

El principal agente de encefalitis vírica es el virus del herpes simple (VHS), aunque algunos estudios revelan que el virus de la varicela-zóster (VZV) podría causarla con una frecuencia similar o incluso superior. La encefalitis también puede aparecer como complicación de enfermedades víricas que usualmente cursan sin implicación neurológica, como el sarampión, el exantema súbito o la gripe. La panencefalitis esclerosante subaguda, muy rara actualmente, es producida por infección defectiva y persistente del virus del sarampión en el SNC, y es más frecuente en niños, que la contraen en los dos primeros años de vida.

En pacientes inmunodeprimidos, los herpesvirus linfotropos y muy particularmente el citomegalovirus son una causa importante de meningoencefalitis y mielitis. La leucoencefalopatía multifocal progresiva es producida por el poliomavirus JC, que presenta latencia en el riñón, y en estos pacientes puede producir viremia e invasión del SNC. Finalmente, el propio VIH se considera el causante del complejo de demencia asociado al sida.

Entre los virus zoonóticos productores de cuadros neurológicos descritos más recientemente en nuestro entorno se halla el virus Toscana y el virus de la coriomeningitis linfocitaria. Asimismo, casi todos los años se producen casos importados de rabia canina en Ceuta y Melilla, y también exposición a murciélagos portadores de la enfermedad. En pacientes con antecedentes de viajes internacionales debe tenerse en cuenta a otros virus transmitidos por artrópodos característicos de diferentes partes del mundo.

Los mecanismos patogénicos principales son cuatro; el más frecuente es la llegada de los virus al SNC por diseminación hematogena durante la primoinfección o una reactivación. En el caso de los VHS, la invasión se produce a través de las fibras nerviosas tras la reactivación de la infección latente en los ganglios nerviosos regionales. El virus de la rabia infecta las neuronas motoras en el lugar de inoculación y alcanza al SNC tras un lento proceso de transporte neuronal. Finalmente, en las encefalitis post-infecciosas (sarampión o varicela), el daño se produce por mecanismos inmunopatogénicos inducidos por la respuesta inmune al virus y no por el efecto directo de su replicación.

#### Manifestaciones clínicas

A diferencia de las meningitis de etiología bacteriana, las meningitis víricas suelen ser benignas y autolimitadas. Sin embargo, la encefalitis vírica es un proceso grave que, en ausencia de tratamiento, presenta una elevada morbi-mortalidad.

En el examen clínico, además de la valoración de los signos y síntomas neurológicos, deberán buscarse otros que pueden proporcionar información sobre la identidad del agente implicado, tales como la presencia de exantemas vesiculares (herpes labial, varicela, herpes zoster, síndrome de boca mano pie), exantemas morbiliformes (sarampión, exantema súbito), inflamación de las glándulas parótidas o presencia de lesiones producidas por picaduras de insectos o mordeduras de animales. También hay que recabar información sobre posibles cuadros infecciosos o vacunaciones en los días precedentes, la existencia de casos similares en el entorno, la picadura de insectos y el contacto con animales, así como la realización de viajes internacionales

#### Diagnóstico

Un líquido cefalorraquídeo claro, con predominio de linfocitos, sin disminución de la concentración de glucosa y con elevación discreta de las proteínas orienta hacia un proceso de etiología vírica. En los casos de encefalitis, las técnicas de imagen aportan la información necesaria para el diagnóstico presuntivo.

Para hacer el diagnóstico microbiológico, en general, y dependiendo del tiempo de evolución del cuadro clínico, debe recurrirse a técnicas de diagnóstico directo (estadios tempranos) o serológicas (cuadros más evolucionados).

#### Técnicas de detección directa. Cultivo

En las meningitis el número de viriones en el LCR suele ser bastante bajo y además, esta muestra es un medio poco adecuado para la conservación de la infectividad, especialmente para virus envueltos. Por esta razón, solo el cultivo de EV, virus de la parotiditis y Toscana ofrece un rendimiento adecuado.

Las diferentes especies de EV tienen diferentes requerimientos para su propagación en líneas celulares de diversos orígenes (MRC5, RD, BGM, A549 y vero). Para confirmar el aislamiento una vez observado el efecto citopático, se pueden usar anticuerpos monoclonales de amplio espectro, que reaccionan con casi todos los tipos de EV. La disposición de anticuerpos específicos también permiten la aplicación de métodos de cultivo rápido (*shell vial*).

#### Técnicas de detección directa, amplificación genómica

Las técnicas de biología molecular proporcionan mayor sensibilidad y rapidez que el cultivo, y son más sencillas de realizar. Existen actualmente equipos comerciales con marcado CE para los patógenos más relevantes como EV, VHS y VZV, la mayoría basados en PCR a tiempo real y algunos automatizados. Además, desde hace tiempo hay también disponibles métodos múltiples capaces de detectar en una sola prueba todos los herpesvirus de interés clínico, tanto en formato de PCR anidada con resolución mediante electroforesis en gel, como en formato de PCR simple seguido de hibridación en placa de microtitulación.

En ausencia de datos que apunten claramente hacia un determinado agente, debe hacerse cribado para EV, VHS y VZV, comenzando por los EV en las meningitis y por los VHS y VZV en las encefalitis y meningoencefalitis. En pacientes inmunodeprimidos procedería incluir el estudio del citomegalovirus y del virus de Epstein-Barr. Durante los meses cálidos, de actividad del vector del virus Toscana el estudio podría completarse con PCR para este virus. Si se sospecha una infección por el virus de la rabia, puede detectarse el virus por RT-PCR en líquido cefalorraquídeo, saliva y biopsia de la piel de la nuca.

En los casos de leucoencefalopatía multifocal progresiva, la única técnica capaz de proporcionar un diagnóstico es la PCR para virus JC en el LCR, sin embargo para la panencefalitis esclerosante

subaguda no hay trabajos que muestren un buen rendimiento de la RT-PCR en esta muestra.

#### Técnicas serológicas

El diagnóstico de las infecciones agudas mediante detección de IgM puede ser de utilidad en síndromes post-infecciosos inmunomediados como la encefalitis post-varicela o post-sarampión, o bien en casos en los que el síndrome neurológico está ligado a la infección primaria por agentes como el virus Toscana, el de la coriomeningitis linfocitaria, el del exantema súbito o el de la mononucleosis infecciosa. Este criterio también es aplicable a la meningitis por virus de la parotiditis, pero actualmente un porcentaje significativo de los casos ocurren en personas vacunadas, muchas de las cuales no responden con IgM.

La presencia de IgG en el suero en ausencia de antecedente de vacunación se considera diagnóstico de rabia.

La demostración de la producción intratecal de IgG es el método de elección para el diagnóstico de la panencefalitis esclerosante subaguda y puede ser de utilidad como complemento a las técnicas de detección directa de VHS y VZV. Para ello es necesario utilizar índices basados en la comparación de sustancias del LCR con sus homólogos del suero, tomando ambas muestras simultáneamente. El índice más utilizado es el de albúmina, con un valor de corte de 0,0075, por debajo del cual pueden considerarse como diagnósticos los hallazgos de IgG específica en LCR.

#### Infecciones relacionadas con las derivaciones del LCR

La infección de los sistemas de derivación de LCR se produce fundamentalmente durante la cirugía, conlleva alta morbilidad y mortalidad y representa el 45 al 50% de las ventriculitis/meningitis nosocomiales en adultos<sup>17</sup>.

Las derivaciones pueden ser de dos tipos: internas o *shunts* y externas para drenaje ventricular o lumbar. La incidencia de infección es de un 5-15%.

Las derivaciones internas son sistemas permanentes y hay varios tipos: derivaciones ventrículo peritoneales (DVP), ventrículo atriales (DVA) y lumboperitoneales (DLP). Las derivaciones externas son sistemas de drenaje temporales y ponen en comunicación el espacio subaracnoideo o ventricular con el exterior, con un trayecto subcutáneo tunelizado y sin sistema valvular.

#### Etiopatogenia

Los microorganismos implicados en la infección de las derivaciones internas son los propios de la flora cutánea: *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), seguidos de *Corynebacterium* spp. y *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*). La infección se produce durante el acto quirúrgico y se manifiesta a las pocas semanas. Otras posibles vías de infección son por contigüidad a partir de una infección de la herida quirúrgica o de decúbitos; por vía hematógena y por vía ascendente a partir de flora del colon. En este último caso, la infección suele ser polimicrobiana y por enterobacterias.

Los agentes causales de infección en las derivaciones externas son los estafilococos coagulasa negativa, *S. aureus* y estreptococos (25-50% de casos). El resto son enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), *Acinetobacter baumannii* y otros oportunistas nosocomiales, frecuentemente multirresistentes. La infección raramente ocurre durante la inserción del catéter, sino en los días posteriores.

#### Manifestaciones clínicas

Las manifestaciones clínicas dependen del mecanismo patogénico, del tipo de *shunt*, de la localización de la derivación y de la virulencia del microorganismo.

En las derivaciones internas, la forma de presentación más habitual es el denominado síndrome de malfuncionamiento del *shunt*, que cursa con cefalea, náuseas o vómitos, alteraciones de la conducta o disminución progresiva del nivel de conciencia, con o sin fiebre. Los signos meníngeos son infrecuentes. En las infecciones de DVP, la clínica abdominal es frecuente (40% de casos). La infección de DVA se manifiesta principalmente por fiebre y puede dar complicaciones graves como endocarditis tricuspídea o embolismo pulmonar séptico. Hay clínica de síndrome meníngeo en un tercio de casos.

La infección de las derivaciones externas origina siempre una ventriculitis que se manifiesta por fiebre y alteración del nivel de conciencia con o sin meningitis.

En cuanto a los agentes etiológicos, *S. aureus*, *Streptococcus* spp., y bacilos gramnegativos nosocomiales originan una clínica más aguda. Los estafilococos coagulasa negativa, *Corynebacterium* spp. y sobre todo, *P. acnes*, dan lugar a una clínica más larvada que puede dificultar y retrasar el diagnóstico.

### Diagnóstico

Para el procesamiento correcto de la muestra, resulta de la mayor importancia conocer su origen y el diagnóstico clínico de sospecha. La ausencia de pleocitosis o alteraciones en los parámetros bioquímicos del LCR no permiten excluir la infección por lo que, aún con parámetros normales, es imprescindible realizar el estudio microbiológico.

El diagnóstico microbiológico se basa en la tinción de Gram y el cultivo de LCR. La tinción de Gram es positiva sólo en el 30% de los casos; sin embargo en estos casos, proporciona una información diagnóstica inmediata que permite orientar el tratamiento.

Además del cultivo convencional, el procesamiento de muestras de LCR para el diagnóstico de infección de las derivaciones debe incluir siempre un caldo de enriquecimiento (tioglicolato o similar) para el desarrollo de bacterias anaerobias, manteniendo la incubación durante 7-14 días.

En pacientes con disfunción valvular y un cultivo de LCR positivo, se recomienda realizar una nueva punción para comprobar si se repite el aislamiento, a fin de diferenciar entre contaminación, colonización e infección del sistema.

El cultivo de LCR obtenido por punción lumbar suele ser negativo en pacientes con *shunt* ventriculares y no se recomienda su obtención por su baja rentabilidad y el riesgo de enclavamiento en las hidrocefalias no comunicantes; por el contrario, en pacientes con derivación lumboperitoneal el cultivo del LCR lumbar resulta positivo en el 80-90% de los casos de infección.

Si el paciente está séptico debe realizarse hemocultivos. Aunque en las DVP son positivos en menos del 20%, en el caso de las DVA alcanza hasta el 95%. Si hay signos de infección en la herida quirúrgica o en decúbitos cutáneos del trayecto del catéter se debe tomar una muestra para cultivo.

En el 5-10% de los casos sólo se obtiene el aislamiento en el cultivo del catéter una vez retirado. Sin embargo, no existen estándares de procesamiento para este tipo de muestras y tampoco se ha definido el valor umbral a partir del cual un catéter se considera colonizado.

Diferentes autores recomiendan distintos tipos de procesamiento según su propia experiencia, siendo los métodos más extendidos el cultivo del material obtenido de la irrigación intraluminal, o tras la sonicación de los dos extremos del catéter. Esta última técnica parece mejorar el resultado al desprender partículas de la biocapa con bacterias, que, de otra forma no se cultivarían.

### Absceso cerebral

El absceso cerebral es una infección focal del parénquima cerebral que se presenta inicialmente como una zona de edema (cerebritis) que evoluciona hasta convertirse en unos 10-14 días en una colección purulenta envuelta por una cápsula fibrosa. Es una entidad clínica infrecuente, con una incidencia de 1/10.000 ingresos. Alrededor del 25% de los casos se presentan en niños de 4 a 7 años y se originan, generalmente, a partir de focos óticos o en relación con cardiopatías congénitas<sup>18</sup>. La mortalidad sigue siendo elevada 5-20%, en particular cuando el diagnóstico es tardío, con secuelas neurológicas importantes en los supervivientes.

### Etiopatogenia

El absceso cerebral se puede desarrollar por diferentes mecanismos. Por contigüidad desde focos próximos de infección en oído medio, mastoides, senos paranasales y odontógenos. En estos casos localizan fundamentalmente en el lóbulo temporal o en el cerebelo. Por diseminación hematógena a partir de infecciones pulmonares, cardiopatías congénitas con *shunt* derecha-izquierda, infecciones dentales o endocarditis. Suelen ser múltiples abscesos en el territorio de la arteria cerebral media. Finalmente pueden producirse por inoculación directa tras traumatismos craneales o cirugía.

El foco de origen responsable de la formación del absceso y las características del huésped orientan, generalmente, la etiología del absceso cerebral.

Los estreptococos y peptostreptococos y fundamentalmente estreptococos del grupo milleri (*Streptococcus anginosus*, *Streptococcus constellatus* y *Staphylococcus intermedius*) son los agentes causales más frecuentes de abscesos cerebrales originados por contigüidad a partir de la arcada dentaria, otitis media y mastoiditis (70%) y pueden ser agentes únicos o formar parte de flora poli-microbiana (30-60%). Las bacterias anaerobias *Bacteroides* spp. y *Prevotella* spp., ocupan también un lugar destacado en los abscesos secuentes a otomastoiditis crónica con colesteatoma. Otros anaerobios menos frecuentes son *Fusobacterium* spp., *Actinomyces* spp. y *P. acnes*.

*S. aureus* y distintos estreptococos del grupo *viridans* se encuentran como agentes etiológicos en abscesos secundarios a traumatismos craneales, endocarditis bacteriana o cardiopatías congénitas. Distintas enterobacterias y *P. aeruginosa* pueden causar abscesos por contigüidad a partir de focos óticos o ser secundarios a bacteriemias o cirugía.

En pacientes con sida hay que tener en cuenta a patógenos oportunistas, como el toxoplasma, *M. tuberculosis* y el criptococo. En pacientes trasplantados y neutropénicos con neoplasias hematológicas, hay que tener en cuenta además a los aspergilos, las nocardias las candidas, la listeria y a los agentes de mucormicosis entre otros.

### Manifestaciones clínicas

Las manifestaciones clínicas varían según la localización, el tamaño, el número de lesiones, el estado inmunitario del paciente y el poder patógeno del agente causal. En general predominan las consecuentes a la ocupación de espacio y quedan en un lugar secundario las propias de la infección. La sintomatología suele desarrollarse en menos de dos semanas aunque, en ocasiones, la forma de presentación puede ser más progresiva, o aguda y fulminante. El síntoma más frecuente es la cefalea (70%), seguido de déficits neurológicos focales (más del 50%), crisis convulsivas (25-45%), edema de papila y rigidez de nuca (25%). Los signos y síntomas del foco primario de infección son identificables en el 80%, y la fiebre solo se observa en menos de la mitad de los casos.

La perforación del absceso a los espacios ventricular o subaracnoideo da lugar a una ventriculitis-meningitis de pronóstico infausto.

### Diagnóstico

La tomografía axial computarizada (TAC) y la resonancia magnética (RM) con contraste son las técnicas diagnósticas de elección y han reemplazado a las técnicas isotópicas. La TAC con contraste tiene una sensibilidad diagnóstica próxima al 100%, aunque puede haber resultados falsos negativos en estadios muy precoces. La RM con contraste de gadolinio es más sensible que la TAC en estadios precoces de cerebritis.

Los hemocultivos son positivos en el 10 al 20% de los casos. El LCR es sólo excepcionalmente positivo y, como se ha mencionado, la punción lumbar está en general contraindicada por el riesgo de herniación y en los casos de absceso cerebral perforado.

La tinción de Gram del material del absceso tiene una sensibilidad del 75-95%, y la del cultivo es próxima al 90%. Dada la frecuencia de la participación de bacterias anaerobias es imprescindible utilizar un medio de transporte adecuado para estas bacterias (contenedor tipo portagerm o similar), enviar la muestra al laboratorio inmediatamente e inocularla en medios ricos incubados en atmósfera aerobia enriquecida en CO<sub>2</sub> y otros incubados en anaerobiosis para permitir el crecimiento de estas bacterias.

La realización de tinciones y cultivos especiales por micobacterias, hongos, nocardias y otros, dependerá del diagnóstico(s) considerado(s), según las características del paciente y del potencial foco de origen del absceso.

### Técnicas serológicas

En los pacientes inmunodeprimidos con sospecha de infección por *Toxoplasma gondii*, las pruebas serológicas pueden ser de gran ayuda diagnóstica. En pacientes con sida la toxoplasmosis del SNC ocurre como consecuencia de la reactivación de una infección latente y más del 90% de los pacientes presentan títulos de IgG anti-toxoplasma más o menos elevados. El valor predictivo de un resultado serológico positivo en pacientes con alteraciones típicas en los estudios de imagen, se sitúa alrededor del 80% y en general, en pacientes con anomalías radiológicas y serología positiva se considera indicado el inicio de un tratamiento específico anti-toxoplasma.

### Técnicas moleculares

La PCR en tiempo real se ha aplicado a muestras de sangre o LCR para el diagnóstico de toxoplasmosis cerebral, demostrando una sensibilidad del 50% con una especificidad próxima al 100%; sin embargo, la utilidad de esta técnica, de momento, no está bien establecida. La identificación bacteriana mediante amplificación y secuenciación del gen que codifica el 16S rRNA bacteriano, se ha aplicado directamente en muestras de abscesos en las que se observan microorganismos en la tinción de Gram y presentan cultivo negativo y ha demostrado, en algunos estudios, buenos resultados. En general, se prefiere el empleo de PCR específicas, para detectar microorganismos concretos cuando hay datos que permiten sospechar el agente etiológico, al empleo de PCR universales o múltiples, que tienen menor sensibilidad. El principal problema que presentan las técnicas moleculares aplicadas al diagnóstico de los abscesos cerebrales es la frecuencia de infecciones polimicrobianas que son detectadas como una superposición de secuencias que hace muy difícil o imposible la lectura e interpretación de los resultados.

## Infecciones del SNC por amebas de vida libre

Progresivamente se va conociendo la importancia de diversos géneros y especies de amebas de vida libre, tales como *Naegleria*, *Acanthamoeba*, *Balamuthia* y *Sappinia*, como agentes causales de diferentes procesos patológicos como queratitis, meningoencefalitis, encefalitis granulomatosa y enfermedad sistémica granulomatosa.

Una de las formas más sorprendentes de estas infecciones es la meningoencefalitis causada por *Naegleria fowleri*, que se produce en niños y jóvenes sanos en los que al bañarse en aguas de balsas y charcas la ameba atraviesa la lámina cribiforme del etmoides alcanzando el SNC y produciendo una meningoencefalitis rápidamente mortal.

Afortunadamente, en nuestro medio las infecciones del SNC causadas por estos microorganismos son muy raras. Para su descripción detallada remitimos al trabajo de Koshy, Blackburn y Singh<sup>19</sup>

### Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

### Bibliografía

- Sánchez Carrillo C, Guerrero Gómez C. Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el laboratorio de microbiología. En: Cercenado E, Cantón R, editores. *Procedimientos en Microbiología Clínica*. 2003. Disponible en: <http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia>.
- García LS. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. 3th ed. Washington D.C.: ASM Press; 2010.
- Miller JM, Krisher K, Holmes H. General principles of specimen collection and handling. En: Murray PR, editor. *Manual of Clinical Microbiology*. 9th ed. Washington DC: ASM Press; 2007. p. 43-54.
- Thompson Jr RB. Specimen collection, transport and processing: bacteriology. En: Murray PR, editor. *Manual of Clinical Microbiology*. 9th ed. Washington DC: ASM Press; 2007. p. 291-333.
- Murray PR, Witebsky FG. The clinician and the microbiology laboratory. En: Mandel GL, Bennett JE, Dolin R, editors. *Principles and practice of infectious diseases*. 7th ed. Philadelphia: Elsevier Inc; 2010. p. 233-65.
- Tunkel AR, Van de Beek D, Scheld WM. Acute meningitis. En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. *Principles and practice of infectious diseases*. Seventh ed. Philadelphia: Elsevier Inc; 2010. p. 1189-230.
- Schrag SJ, Zell ER, Lynfield R, Roome A, Arnold KE, Craig AS. A population-based comparison of strategies to prevent early-onset group B streptococcal disease in neonates. *N Engl J Med*. 2002;347:223-39.
- Sociedad Española de Obstetricia y Ginecología. Sociedad Española de Neonatología. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Sociedad Española de Quimioterapia. Sociedad Española de Medicina Familiar y Comunitaria. Prevención de la infección perinatal por estreptococo del grupo B. Recomendaciones españolas revisadas. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2003;21:417-23.
- Blanco Galán MA, de la Rosa Fraile M, Andreu Domingo A, Cacho Calvo J, López Sastre J, Davi Armengol E. 13 Microbiología de la infección perinatal En: Picazo, JJ, editore. *Procedimientos en Microbiología Clínica*. 2002. Disponible en: <http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia>.
- Alcaide Fernández de Vega F, Esteban Moreno J, González Martín J, Palacios Gutiérrez JJ. Micobacterias. En: Cercenado E y Cantón R, editores. *Procedimientos en Microbiología Clínica*. 2005. Disponible en: <http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia>.
- Guerrero A, Martín-Casabona N, Moreno S, Nogales MC, Casal M. 9. Diagnóstico microbiológico de las infecciones por micobacterias. En: Picazo, JJ, editor. *Procedimientos en Microbiología Clínica*. 1999. Disponible en: <http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia>.
- Noussair L, Bert F, Leflon-Guibout V, Gahet N, Nicolas-Chanoine MH. Early diagnosis of extrapulmonary tuberculosis by a new procedure combining culture and PCR. *J Clin Microbiol*. 2009;47:1452-7.
- Rafi W, Venkataswamy MM, Ravi C, Chandramuki A. Rapid diagnosis of tuberculous meningitis: a comparative evaluation of in-house PCR assays involving three mycobacterial DNA sequences, IS6110, MPB-64 and 65 kDa antigen. *J Neurol Sci*. 1997;252:163-8.
- Jarvis JN, Harrison TS. HIV-associated cryptococcal meningitis. *AIDS*. 2007;21:2119-29.
- Hazen KC, Howell SA. *Candida*, *Cryptococcus*, and other yeast of medical importance. En: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA, editors. *Manual of clinical microbiology*. 9th ed. Washington D.C.: ASM Press; 2007. p. 1762-88.

16. Kennedy PG. Viral encephalitis: causes, differential diagnosis and management. *J Neurol neurosurg Psychiatry.* 2004;75:i10–15.
17. Jiménez-Mejías ME, García-Cabrera E. Infecciones relacionadas con los sistemas de drenaje de líquido cefalorraquídeo. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2008;26:240–51.
18. Honda H, Warren DK. Central nervous system infections: meningitis and brain abscess. *Infect Dis Clin North Am.* 2009;23:609–23.
19. Koshy AA, Blackburn BG, Singh U. Free-living Amebas. En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. *Principles and practice of infectious diseases.* 7th ed. Philadelphia: Elsevier Inc; 2010. p. 3427–36.