



Curso Regional

“Actualización sobre las Meningitis Bacterianas: Diagnóstico, Vigilancia y Tratamiento”.

Métodos de laboratorio para el diagnóstico de las meningitis bacterianas y rol de los laboratorios nacionales de referencia en su vigilancia

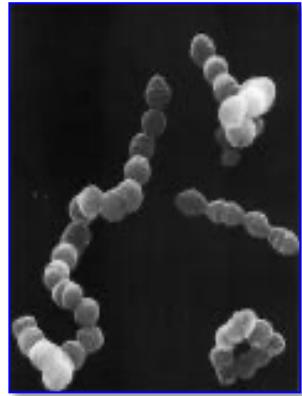
Dra. Grettel Chanto

qchanto@inciensa.sa.cr

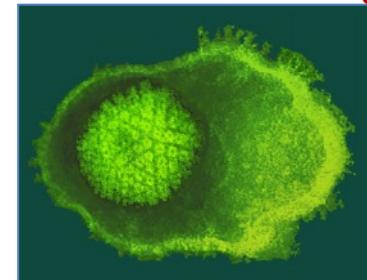
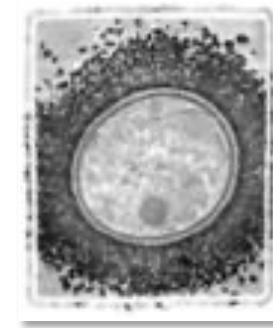
Centro Nacional de Referencia de Bacteriología - Inciensa

5 de agosto 2021

Agentes etiológicos de meningitis aguda



- Recién nacidos:
 - *Streptococcus agalactiae*
 - *Escherichia coli*
 - *Listeria monocytogenes*
 - *Enterococcus* spp.
 - *Elizabethkingia meningoseptica*
 - *Enterobacter sakasakii*
 - *Citrobacter koseri*
 - *Ureaplasma urealyticum*
- Niños y adultos:
 - *Streptococcus pneumoniae*
 - *Haemophilus influenzae*
 - *Neisseria meningitidis*
- Mayores 50 años:
 - *L. monocytogenes*, *N. meningitidis*, *S. pneumoniae*, bacilos gram neg



- Bacterias
 - *Mycobacterium tuberculosis*
 - *Treponema pallidum*
 - *Brucella*
 - *Salmonella*
- Hongos
 - *Cryptococcus neoformans*
 - *Coccidioides immitis*
 - *Histoplasma capsulatum*
 - *Blastomyces dermatitidis*
 - *Candida*
 - *Actinomyces*
- Parásitos
 - *Toxoplasma gondii*
 - *Cisticercos (T. solium)*
 - *Trichinella spiralis*
 - Amebas: *Naegleria*, *Acanthamoeba*
- Virus
 - Enterovirus
 - Coxsackie, Echo
 - HIV
 - Arbovirus
 - Sarampión, Herpes simple, Varicela, Adenovirus, CMV



Diagnóstico de Laboratorio Hospital

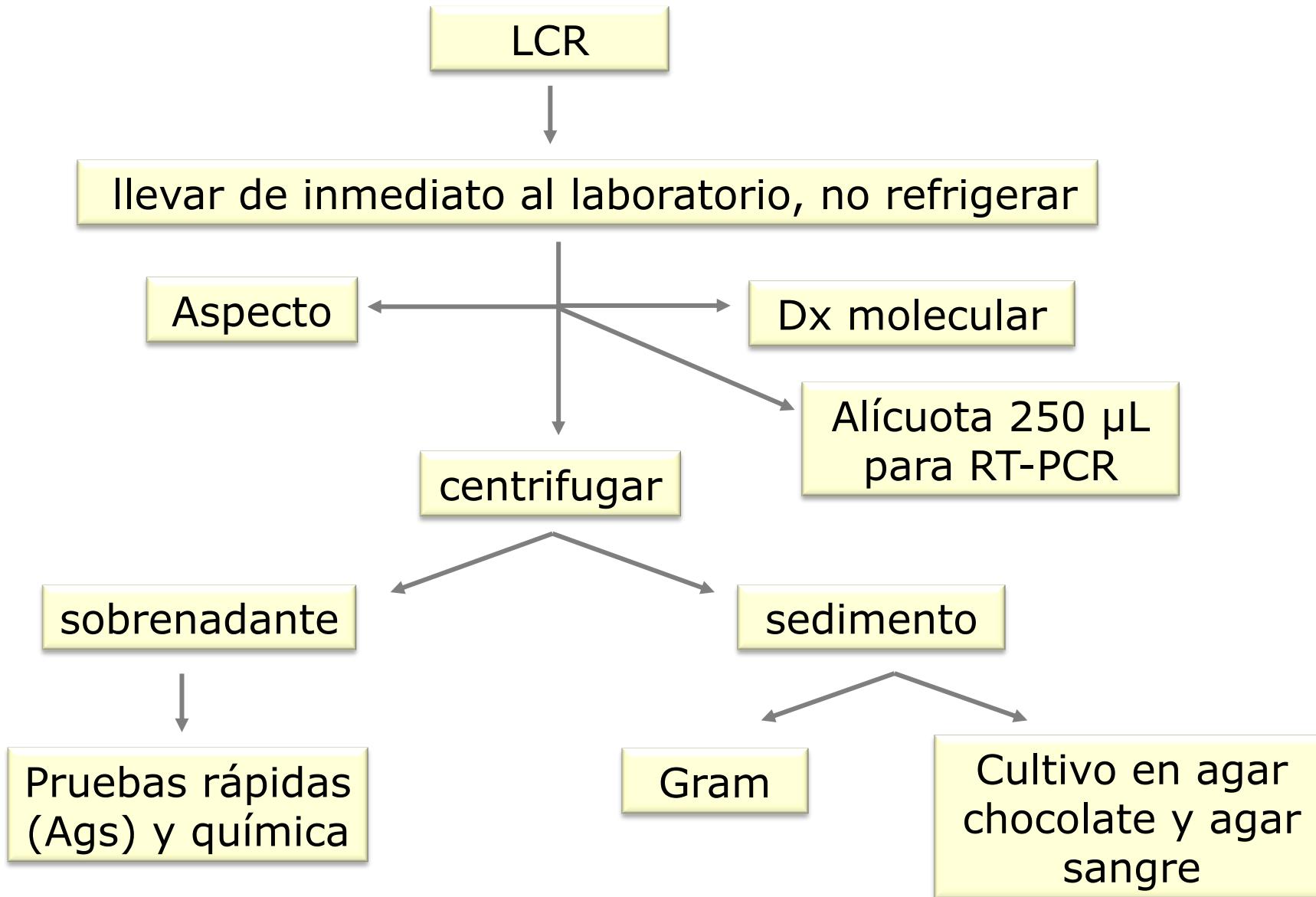
Exámenes de rutina: Hemograma, BQ como glicemia, función renal, electrolitos, gasometría arterial, coagulación, PCR, VIH



Análisis: Microbiológicos, Citológicos, Químicos



Procesamiento de LCR





Resultados hematológicos y químicos del LCR

Cuadro clínico	Leucocitos mm ³	Tipo de célula predominante	Proteínas mg / dl	Glucosa mg / dl
Normal	0 – 5	Ninguna	15 – 50	45 - 100
Meningitis purulenta	5 – 20.000 (800)	PMN	> 100	< 45 o normal al inicio
Meningitis por TB y hongos	5 – 2.000 (100)	Mononucleares	> 50	Normal o baja
Meningitis viral (aséptica)	2 – 2.000 (80)	Mononucleares	50 – 100 o normales	Normal



Negative reaction

Positive reaction

Immunocromatografía

Aglutinación de antígenos
bacterianos solubles (PS capsular)





Identificación molecular a partir de LCR o sangre



PCR multiplex comerciales
! No determina serotipos ni serogrupos
! No reemplaza cultivo

FilmArray Blood Culture Identification Panel

1 Test. 27 Targets. All in about an hour.



Gram-Positive
Bacteria

<i>Enterococcus</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>macA</i> - methicillin resistant
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Candida glabrata</i>	<i>vanA/B</i> - vancomycin resistant
<i>Staphylococcus</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Candida krusei</i>	<i>KPC</i> - carbapenem resistant
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	
<i>Streptococcus</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Candida tropicalis</i>	
<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Enterobacter cloacae complex</i>		
<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Escherichia coli</i>		
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>		
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>		
	<i>Proteus</i>		



Gram-Negative
Bacteria



Yeast



Antibiotic
Resistance
Genes



FilmArray Meningitis/Encephalitis Panel

1 Test. 14 Targets. All in about an hour.



Bacteria

<i>Escherichia coli</i> K1	<i>Cytomegalovirus</i> (CMV)	<i>Cryptococcus neoformans/gattii</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Enterovirus</i>	
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Herpes simplex virus 1</i> (HSV-1)	
<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Herpes simplex virus 2</i> (HSV-2)	
<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Human herpesvirus 6</i> (HHV-6)	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Human parechovirus</i>	
	<i>Varicella zoster virus</i> (VZV)	



Viruses



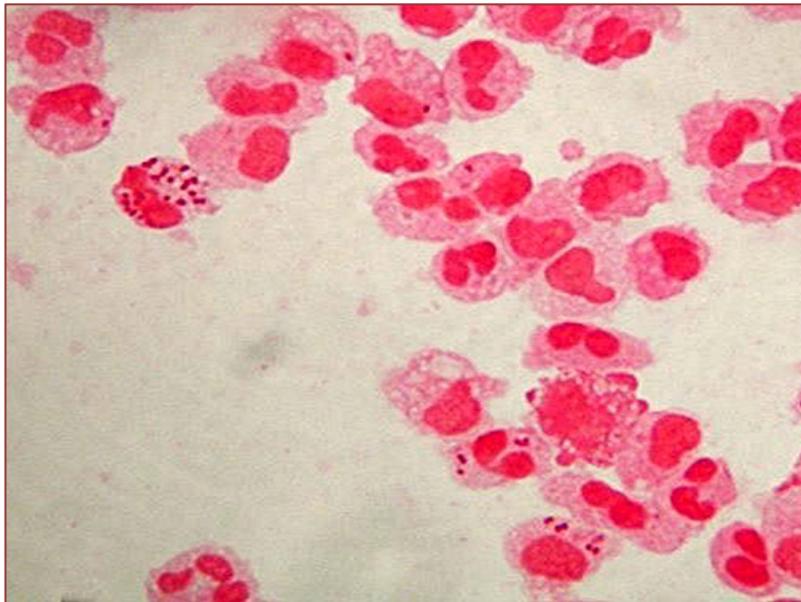
Fungi



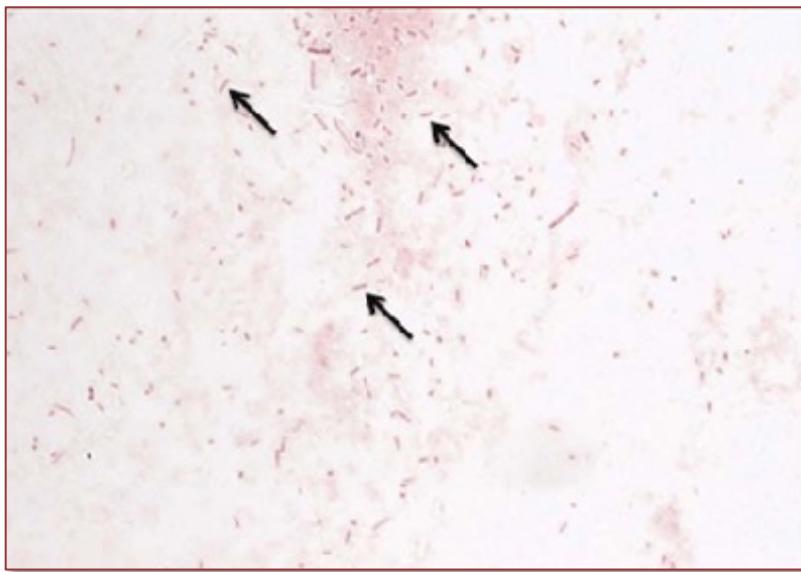
Gram



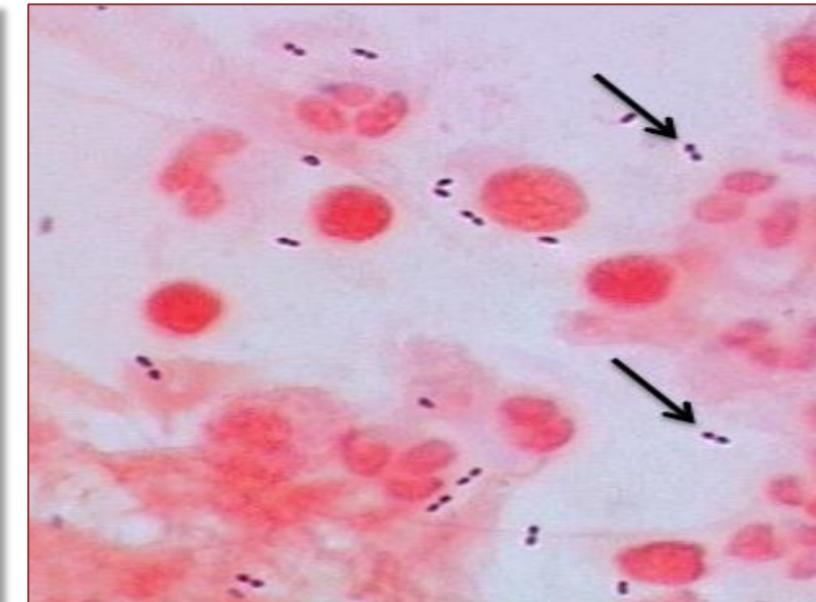
Neisseria meningitidis



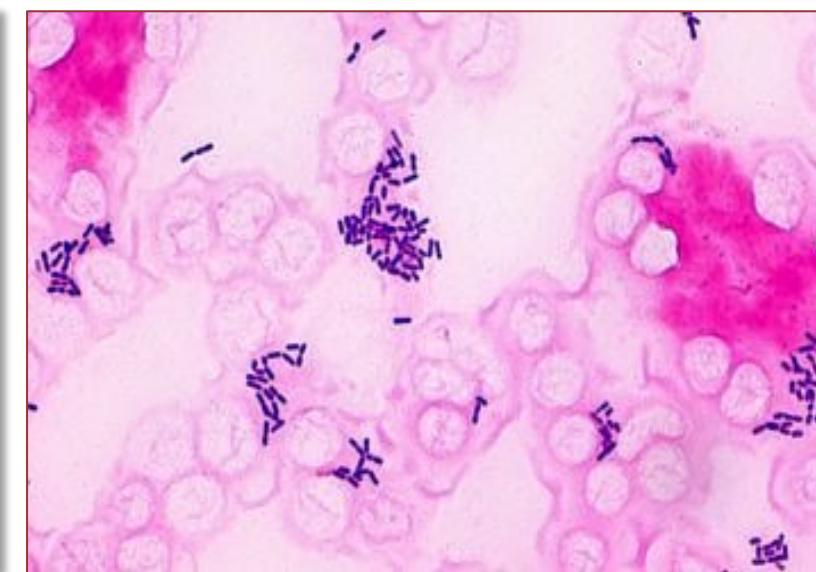
Haemophilus influenzae



Streptococcus pneumoniae



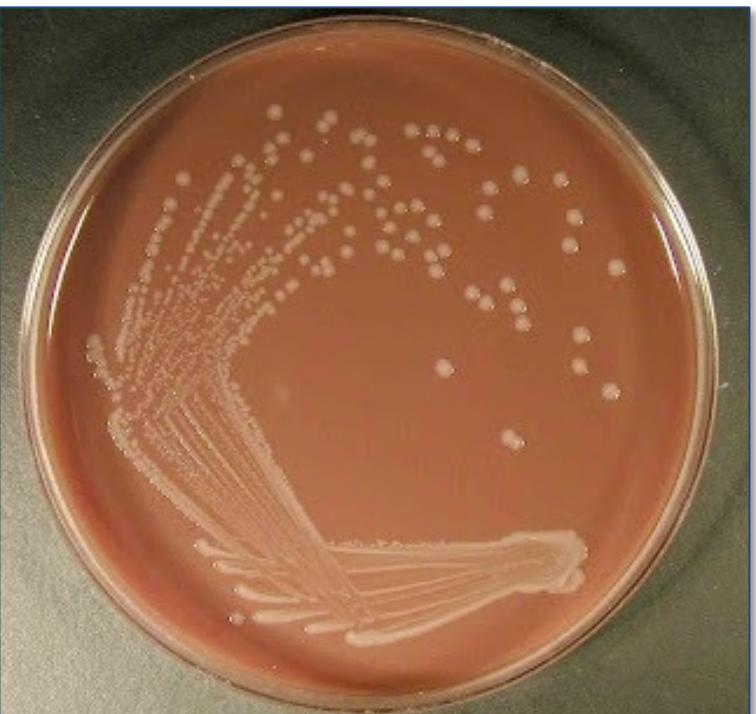
Listeria monocytogenes



Cultivo en agar chocolate y agar sangre



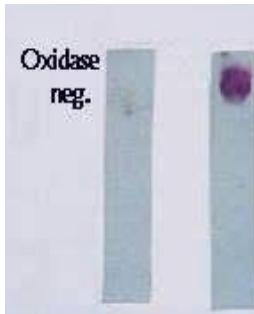
Medios adecuados de calidad controlada y en atmósfera de CO₂



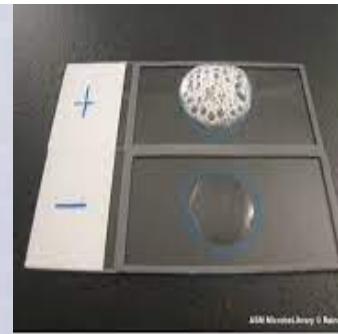
Métodos automatizados para hemocultivos



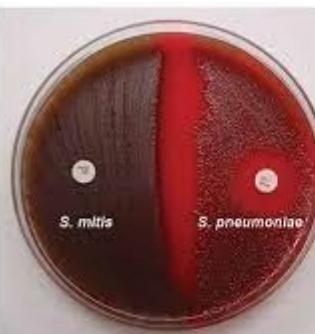
Identificación del aislamiento bacteriano y PSA



Oxidasa



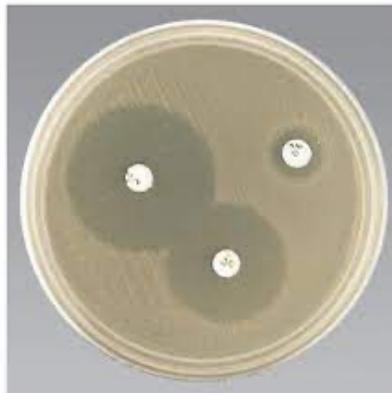
Catalasa



Optoquina



Solubilidad en bilis



Pruebas bioquímicas



MALDI-TOF



PCR



Prueba de Sensibilidad
a los Antibióticos

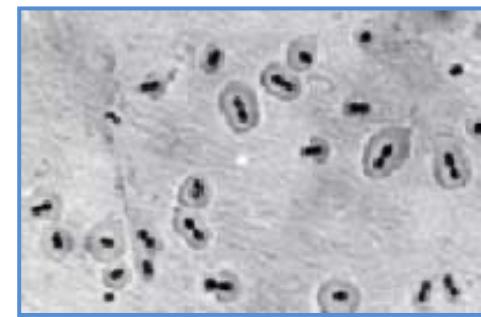
Laboratorio Nacional de Referencia



1- Diagnóstico de laboratorio y caracterización con metodologías actualizadas



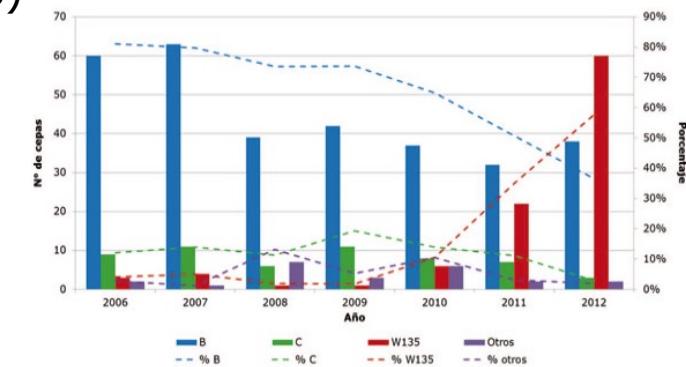
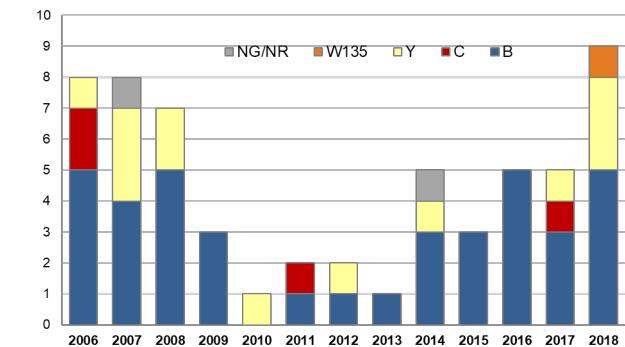
- Pruebas para la confirmación de la especie bacteriana
- Determinación de serogrupos y serotipos por aglutinación o hinchamiento capsular con antisueros específicos
- Determinación de serotipos por PCR punto final
- Diagnóstico por RT-PCR
- Tipificación por RT-PCR (serogrupos, serotipos)
- Susceptibilidad antimicrobiana por métodos y normas de interpretación de referencia (CIM, CLSI)
- Conservación de cepas congeladas o liofilizadas





2- Referencia y vigilancia de los eventos de importancia en salud pública

- Caracterización fenotípica y molecular
- Generación de datos de importancia para la vigilancia de enfermedades infecciosas
- Vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos
- Vigilancia aumentada ("enhanced surveillance"):
 - ✓ permite obtener información epidemiológica en tiempo real, recolectando datos completos de las variables que determinan la epidemiología de las meningitis (número de casos, incidencia, serogrupos, edad, fallecidos)
 - ✓ permite dar recomendaciones para políticas de vacunación
 - ✓ establece estrategias de control: tendencias de la enfermedad, caracterizar factores de riesgo, monitorear impacto de vacunas





3- Control y prevención

- Epidemiología del país, manejo de la información
- Clave en la diseminación de patógenos mediante la caracterización molecular de brotes por clones de microorganismos
- Detección de fenotipos de resistencia de importancia

4- Investigación

- De calidad, en colaboración con los hospitales mediante el uso de nuevas tecnologías
- Vigilancia basada en WGS y su aplicación en salud pública





5- Asesoramiento y formación

- Asesoramiento científico a profesionales de salud acerca de patógenos emergentes y mecanismos de RAM
- Implementación de nuevos protocolos o técnicas de laboratorio
- Bioseguridad

6- Calidad

- SIGC para la recepción de muestras biológicas, así como sistema estructurado para técnicas y servicios acreditados
- LNR con sistema de control y aseguramiento de la calidad
- Organización y supervisión del laboratorio
- Personal capacitado y entrenado
- Equipamiento y procedimientos estandarizados
- Programas de Evaluación del Desempeño
- Visita de inspección de sitios para certificación o acreditación



Gracias !!!

gchanto@inciensa.sa.cr