

Formas bacterianas atípicas en meningoencefalitis purulenta

ONOFRE MUÑOZ,*
SILVIA GONZÁLEZ-ARROYO,*
MARIO H. ECHAVARRÍA-LOYA‡ Y
RAFAEL HERNÁNDEZ-VELARDE*

En cien pacientes con meningoencefalitis purulenta, se investigó la frecuencia de formas bacterianas atípicas en el líquido cefalorraquídeo. Todos los pacientes habían recibido tratamiento antimicrobiano. Se aislaron formas bacterianas atípicas en 17 por ciento de los pacientes con meningoencefalitis purulenta, identificándose con mayor frecuencia Klebsiella sp, S. aureus, S. epidermidis y S. viridans, en tanto que el cultivo ordinario dio lugar a aislamiento bacteriano en 39 por ciento de los casos. Los resultados obtenidos llevan a recomendar que en casos de meningoencefalitis purulenta, la muestra de líquido cefalorraquídeo sea cultivada tanto en el medio habitual como en medios hipertónicos, ya que esto permitirá identificar al agente etiológico en un mayor número de pacientes.

Desde hace 40 años ha existido un gran interés por las bacterias que muestran alteraciones en su morfología y fisiología, como consecuencia de la ausencia o la pérdida parcial de su pared celular. Estas bacterias han sido clasificadas en cuatro grupos: protoplastos, esferoplastos, variantes transicionales y formas L. Todas ellas poseen las siguientes características: pérdida total o parcial de la pared celular, pleomorfismo, morfología colonial característica, filtrabilidad, fragilidad osmótica, no crecen en los medios de cultivo ordinarios y sí lo hacen en medios

hipertónicos, tienen división celular desorganizada, todo esto sin que existan modificaciones en su genoma.¹⁻¹⁵ El último grupo, llamado formas L, se diferencia de los otros porque conserva la facultad de reproducirse.

Se ha comprobado que las formas L pueden producirse tanto por la acción de enzimas (lizozima) como de antimicrobianos y la acción lítica del complemento.^{3, 6-8} Se ha documentado, *in vitro* como en estudios clínicos, la persistencia de estas formas bacterianas atípicas en medios hipertónicos, como son la médula renal y los abscesos, o en el líquido cefalorraquídeo (LCR).⁹⁻¹⁵ Algunas observaciones orientan hacia su posible patogenicidad: se han aislado de pacientes con infección crónica de las vías urinarias, osteomielitis y otitis crónicas con recaídas y con cultivos negativos, en ausencia de tratamientos antimicrobianos, con datos clínicos de enfermedad y

* División de Investigación de Enfermedades Infecciosas y Parasitarias del Aparato Digestivo. Subjefatura de los Servicios de Investigación. Jefatura de los Servicios de Enseñanza e Investigación. Instituto Mexicano del Seguro Social.

‡ Hospital de Pediatría. Centro Médico Nacional. Instituto Mexicano del Seguro Social.

Cuadro 1. Germen identificado en 17 pacientes con aislamiento de bacterias atípicas.

| Germen | Núm. casos | Por ciento |
|------------------------|------------|------------|
| <i>Klebsiella sp.</i> | 6 | 35.6 |
| <i>S. aureus</i> | 3 | 17.6 |
| <i>S. epidermidis</i> | 3 | 17.6 |
| <i>Pseudomonas sp.</i> | 2 | 11.7 |
| <i>St. viridans</i> | 2 | 11.7 |
| <i>Proteus sp.</i> | 1 | 5.8 |
| Total | 17 | |

persistencia del microorganismo, capaz posteriormente de ocasionar recaídas.⁹⁻²⁰

En el Hospital de Pediatría, el porcentaje de aislamientos bacterianos en el líquido cefalorraquídeo de pacientes con meningococcalitis purulenta es de 40 por ciento. Una elevada proporción de éstos ha sido tratado con antimicrobianos del grupo de las penicilinas; son estos los antimicrobianos que más frecuentemente favorecen la aparición de formas L, puesto que su mecanismo de acción consiste precisamente en bloqueo de la síntesis de la pared celular. Por tal razón, se investigó la frecuencia de bacterias atípicas en niños con meningococcalitis purulenta.

Material y métodos

Se estudió un grupo de 100 pacientes con meningococcalitis purulenta, todos los cuales exhibían un cuadro clínico compatible (síndrome infeccioso, meníngeo o signos de daño neuronal). Todos ellos habían sido tratados con antimicrobianos del grupo de las penicilinas. El líquido cefalorraquídeo tenía las siguientes características: aspecto turbio, pleocitosis por arriba de 500 células/mm.³, con predominio de polimorfonucleares, disminución en las cifras de glucosa y elevación de las proteínas. Se cultivó el líquido cefalorraquídeo al ingreso de los pacientes al hospital, empleándose medios ordinarios y uno especial para formas bacterianas atípicas que consistió en: caldo PPLO, agar PPLO, suero de caballo, levadura y sacarosa.²¹ Se practicó la reversión,²² habiéndose desechado como negativos a los 21 días de tomada la muestra. Los resultados se analizaron con la prueba de X².

Resultados

Se aislaron formas bacterianas atípicas en 17 por ciento de los pacientes con meningococcalitis purulenta. El microorganismo aislado con mayor frecuencia fue *Klebsiella sp.* y en segundo lugar, gérmenes grampositivos: *S. aureus*, *S. epidermidis* y *S. viridans* (cuadro 1). Hubo predominancia de bacterias gramnegativas en los niños menores de seis

Cuadro 2. Distribución de las formas bacterianas atípicas en los diferentes grupos de edad.

| Germen | Núm. de casos con la edad señalada (meses) | | | |
|------------------------|--|----------|----------|----------|
| | Núm. | R. N.-6 | 7-24 | >24 |
| <i>Klebsiella sp.</i> | 6 | 2 | 2 | 1 |
| <i>Pseudomonas sp.</i> | 1 | 1 | | 1 |
| <i>Proteus sp.</i> | 1 | 1 | | |
| <i>S. aureus</i> | 4 | 2 | 2 | |
| <i>S. epidermidis</i> | 3 | 1 | 1 | 1 |
| <i>St. viridans</i> | 2 | | 1 | 1 |
| Total | 17 | 7 | 6 | 4 |

meses (cuadro 2). Los tres pacientes en quienes se aisló *S. epidermidis*, habían sido sometidos a derivación ventriculoperitoneal de líquido cefalorraquídeo. El periodo comprendido entre la toma de la muestra y el aislamiento fue muy variable (48 horas a 14 días). Mediante cultivo ordinario, se aislaron bacterias en 39 por ciento de los casos, con predominio de *Haemophilus influenzae* y *Klebsiella sp.* (cuadro 3).

Con ambos tipos de cultivo, el porcentaje de aislamiento aumentó de 39 a 56 por ciento ($P < 0.02$) (cuadro 4).

Cuadro 3. Distribución de los gérmenes identificados en cultivo ordinario de LCR en los diferentes grupos de edad.

| Germen | Núm. de casos con la edad señalada (meses) | | | |
|-------------------------------|--|---------|------|-----|
| | Núm. | R. N.-6 | 7-20 | >24 |
| <i>Haemophilus influenzae</i> | 9 | | 7 | 2 |
| <i>Klebsiella sp.*</i> | 9 | 8 | 1 | |
| <i>S. pneumoniae</i> | 5 | 2 | | 3 |
| <i>Pseudomonas sp.*</i> | 4 | 4 | | |
| <i>S. aureus*</i> | 3 | 2 | 1 | |
| <i>S. epidermidis</i> | 3 | 3 | | |
| <i>Proteus sp.*</i> | 3 | 3 | | |
| <i>Escherichia coli</i> | 2 | 2 | | |
| <i>St. viridans</i> | 2 | | 1 | 1 |
| <i>Salmonella anatum</i> | 1 | 3 | | 1 |
| <i>Salmonella paratyphi B</i> | 1 | | 1 | |

*Dos gérmenes en tres casos.

Cuadro 4. Frecuencia de aislamiento bacteriano, según grupos de edad.

| Grupos etarios (meses) | Núm. casos | Cultivo ordinario | | Formas bacterianas atípicas | | Total de aislamientos | |
|------------------------|------------|-------------------|----|-----------------------------|----|-----------------------|----|
| | | Núm. | % | Núm. | % | Núm. | % |
| R.N. - 6 | 60 | 23 | 38 | 7 | 12 | 30 | 50 |
| 7 -24 | 24 | 8 | 33 | 66 | 25 | 14 | 58 |
| >24 | 16 | 8 | 50 | 4 | 25 | 12 | 75 |
| Total | 100 | | 39 | | 17 | | 56 |

Comentarios

Cuando una bacteria queda privada de su pared celular, adopta formas atípicas, que crecen como colonias sumergidas en agar; cuando se depositan sobre un medio de cultivo sólido, sus corpúsculos elementales penetran entre los orificios que dejan entre sí las micelas del coloide, se reproducen en el interior del agar y posteriormente crecen en la superficie, formando un halo de crecimiento superficial que es menos denso. Así, la colonia completa tiene la morfología de un "huevo estrellado" (fig. 1).

Todos los pacientes de esta serie habían recibido tratamiento antibiótico, principalmente con beta-lactámicos, antes de que se hubiese establecido el diagnóstico. Probablemente, ello haya obedecido a la gravedad de la infección. Este proceder constituye uno de los factores más importantes de la baja tasa de identificación del agente causal, que en nuestro medio no excede de 40 por ciento.²³ Los citados antibióticos actúan inhibiendo la síntesis de la pared celular de los microorganismos y así favorecen la formación de variantes bacterianas atípicas.³

Se planteó pues la hipótesis de que la investigación de la presencia, en el líquido cefalorraquídeo, de estas formas bacterianas atípicas, incrementaría el porcentaje de identificación del agente causal. En efecto, la identificación del agente causal con los medios tradicionales de cultivo fue de 39 por ciento, pero aumentó a 56 por ciento mediante la identificación de formas bacterianas atípicas.

La distribución de los gérmenes identificados en el cultivo ordinario de LCR y que corresponden a la epidemiología conocida para nuestro medio,²³ en el que predominan los gérmenes gramnegativos en los menores de seis meses y *H. influenzae* y *S. pneumoniae* en los mayores de esta edad, puede verse en el cuadro 3. Las formas bacterianas atípicas identificadas con mayor frecuencia, fueron las de *Klebsiella sp* (cuadro 1); nuevamente las variantes de los gramnegativos predominaron en los menores de seis meses y las de grampositivos (*S. aureus*, *S. epidermidis* y *S. viridans*), en los de edad mayor (cuadro 2).

Si bien la morfología colonial de estas variantes bacterianas es característica, no es posible determinar a qué forma bacteriana original corresponde, hasta que no se ha realizado la reversión, lo que requirió desde 4 días hasta 14 en uno de los casos. Este hecho limita parcialmente la utilidad de este tipo de identificación.

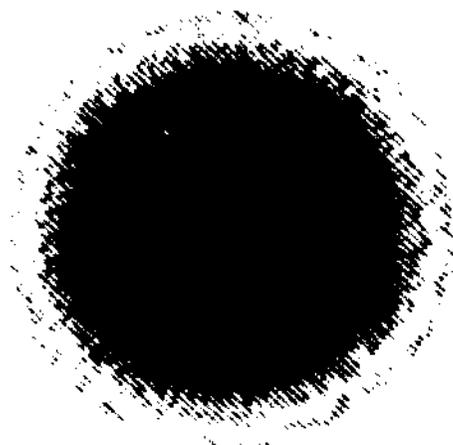


Fig. 1. Colonia de formas bacterianas atípicas, con su morfología característica, que semeja un huevo estrellado.

Con los resultados de este trabajo, cabe recomendar que el estudio bacteriológico de LCR inicial de un paciente con meningoencefalitis purulenta que ha recibido antibióticos previamente, sea efectuado tanto en los medios habituales como en medios hipertónicos, con lo que se obtendrá una mayor frecuencia de identificación del germen causal.

REFERENCIAS

1. McGee, Z. y Wittler, R. G.: *Wall-defective microbial variants. Terminology and experimental design.* J. Infect. Dis. 123: 433, 1971.
2. McQuillen, K.: *Bacterial protoplasts.* En: *the bacteria.* Nueva York, Academic Press. 1960, vol. 1, p. 244.
3. Feingold, D.: *Biology and pathogenicity of microbial spheroplasts and L forms.* New Engl. J. Med. 281: 1159, 1969.
4. Montgomery, J. Z.; Kalmanson, G. M. y Guze, L. M.: *Fatty acid composition of L-forms of Streptococcus faecalis cultured at different osmolalities.* J. Bacteriol. 115: 73, 1973.
5. Calderón, J.: *Formas "L", un nuevo concepto sobre la etiología de algunas infecciones.* Bol. Méd. Hosp. infant. (Méx.) 26: 483, 1969.
6. Watanakunakorn, C. y Backie, C.: *Coagulase production, mannitol fermentation, penicillinase elaboration, and phage typability of Staphylococcus aureus reverted from L-phase variants.* J. Infect. Dis. 127: 571, 1973.
7. Brorson, J.; Lundhola, M. y Seeberg, S.: *L-colony production by different strains of Staphylococcus aureus in the absence of antibiotics.* J. Infect. Dis. 127: 335, 1973.
8. McGee, Z.; Ratner, H. R. y Bryant, R.: *An antibody complement system in human serum lethal to L-phase variants of bacteria.* J. Infect. Dis. 125: 231, 1972.
9. Domingue, G. y Schelgel, J.: *The possible role of microbial L-forms in pyelonephritis.* J. Urol. 104: 790, 1970.
10. Gutman, L.; Turck, M. y Petersdorf, G.: *Bacterial variants in urinary tract infections.* J. Pediat. 66: 908, 1965.
11. Hughes, B.; Schwarz, H. y Gomolka, D.: *Evaluation of a rat model for induction of pyelonephritis with cell wall deficient variants of Proteus mirabilis.* Inv. Urol. 10: 10, 1972.
12. Gutman, L.; Schaller, J. y Wedgwood, R.: *Bacterial L forms in relapsing urinary tract infection.* Lancet I: 464, 1967.
13. Ponig, B.; Domingue, G. y Schelgel, J.: *The role of in vitro induced microbial L-forms in experimental hematogenous pyelonephritis.* Inv. Urol. 9: 282, 1972.
14. Guze, L. y Kalmanson, G.: *Action of erythromycin on protoplast in vivo.* Science 146: 1299, 1964.
15. Kalmanson, G. y Guze, L.: *Role of protoplasts in pathogenesis of pyelonephritis.* J.A.M.A. 190: 8, 1964.
16. Gordon, G. y Craig, C.: *Recurrent osteomyelitis.* J. Bone Joint Surg. 53-A: 1150, 1971.
17. Carreño, M. E.: *Formas bacterianas atípicas en osteomielitis.* Tesis recepcional. U.N.A.M. 1971.
18. Calderon, E.; Albuerno, A. y González, S.: *Presencia de formas bacterianas atípicas "L" en infecciones humanas.* Bol. Méd. Hosp. infant. (Méx.) 27: 839, 1970.
19. González-Arroyo, S.: *Microbiología de otitis media supurada.* Tesis recepcional. U.N.A.M. 1970.
20. Nau, H. y Goldreyer, B.: *Isolation in a case of enterococcal endocarditis.* Amer. J. Med. 45: 784, 1968.
21. Bailey, L. y Scott, E. G.: *Diagnostic microbiology.* 5a. ed. St. Louis, The C. V. Mosby, Co. 1978, p. 75.
22. Freimer, E. E.: En: *Microbial protoplast, spheroplast and L-forms.* Guze, L. B. (Ed.). Baltimore, Williams and Wilkins, Co. 1968.
23. Cutiérrez, G. y Sánchez-Rebolledo, J. M.: *Meningoencefalitis purulenta.* En: Kumate, J. y Cutiérrez, G. (Eds.). *Manual de infectología.* 3a. ed. México, Edic. Médicas del Hospital Infantil de México. 1975, p. 106.