



BOLETIN

Instituto de Salud Pública de Chile

Vol. 4, No. 9, Septiembre 2014.

Vigilancia de laboratorio enfermedad invasora *Neisseria meningitidis* 2011-2014

Antecedentes

Neisseria meningitidis (Nm), agente causal de la enfermedad meningocócica, es una de las especies que constituyen el género *Neisseria*, que pertenece junto con los géneros *Branhamella*, *Acinetobacter* y *Kingella* a la Familia Neisseriaceae. (1)

El meningococo es una bacteria gramnegativa de pequeño tamaño (0,6-1,5 µm de diámetro), con una morfología característica, presentándose en forma de diplococos con las caras laterales adyacentes aplanadas (semejante a granos de café), no forma esporas, inmóvil y capsulado. (2)

La cápsula polisacárida permite su división en 13 serogrupos designados por las letras: A, B, C, D, X, Y, Z, 29 E, W, H, I, K y L. Los serogrupos que se relacionan con enfermedad son A, B, C, Y y W, con recientes descripciones del serogrupo X. Las proteínas de la membrana externa Por A y Por B definen los 20 serotipos/subserotipos conocidos. (3)

La enfermedad meningocócica invasora es uno de los grandes problemas de salud pública mundial. Afectando a países desarrollados como subdesarrollados de forma endémica y epidémica, a pesar de los importantes avances en la epidemiología, prevención, diagnóstico y tratamiento de la enfermedad. (4)

Asia ha tenido grandes epidemias de enfermedad meningocócica en los últimos decenios (China 1979 y 1980, Vietnam 1977, Mongolia 1973-1974 y 1994-1995, Arabia Saudita 1987, Yemen 1988). Los brotes más grandes y recurrentes han sido en la zona semi-árida del África subsahariana. Esta zona es conocida como el cinturón africano de la meningitis, desde Senegal a Etiopía, con una población total estimada de 300 millones, en que la enfermedad meningocócica se presenta en ciclos epidémicos que duran entre 8 y 15 años. (5)

La nasofaringe humana es el único reservorio natural conocido. (3) El porcentaje de colonización en individuos sanos, varía dependiendo del estudio y escenario epidemiológico. Una persona puede ser portador por meses y permanecer asintomática. En una pequeña proporción de portadores, la bacteria invade la sangre o meninges produciendo la enfermedad meningocócica. La bacteria se transmite de persona a persona a través de gotitas de secreciones respiratorias (6)

La infección meningocócica invasora más común es la meningitis aguda. La septicemia meningocócica o meningococemia es la enfermedad más peligrosa y mortal causada por Nm. En ambas patologías, los casos más graves llevan a la mortalidad en unas horas. Las secuelas en los casos no fatales son discapacidades permanentes, pérdida de audición, daño cerebral, amputación de dedos de los pies, manos, extremidades o cicatrización severa en injertos de piel. (7)

Otros cuadros clínicos menos frecuentes son neumonía, otitis media y artritis entre otras. (8) El contacto cerrado y prolongado con una persona infectada o portador, facilita la diseminación de la enfermedad. (9)

Diagnóstico de Laboratorio: Considerando que la meningitis meningocócica es una infección grave, el diagnóstico se debe realizar a la brevedad. La tinción de Gram de LCR, es la técnica de diagnóstico rápido por excelencia, al observar diplococos gramnegativos y polimorfonucleares. Para su crecimiento, Nm requiere de un ambiente aeróbico con humedad relativa del 50%, 5% de CO₂ y medio enriquecido. Las colonias en agar sangre, después de una incubación por 18-24 horas a 35°C son suaves, transparentes, no pigmentadas, no hemolíticas, tamaño mediano y convexas. (2) Para su identificación básica se utiliza las pruebas de oxidasa y catalasa (positivas) y para la identificación de serogrupo pruebas serológicas específicas. Para la confirmación de la identificación se utilizan pruebas bioquímicas de utilización de carbohidratos en medio cistina tripticasa (CTA). (10)

La determinación del serogrupo, se basa en las diferencias entre los polisacáridos capsulares. Se realiza por técnicas de seroaglutinación, coaglutinación, uso de anticuerpos monoclonales (MAbs), ELISA, dot-blot y PCR.

Para el estudio de la susceptibilidad a los antimicrobianos, la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) se determina por los métodos estandarizados de microdilución en caldo o epsilometría.

En general, Nm raramente es resistente a los agentes antimicrobianos utilizados para su tratamiento, pero se han descrito cepas resistentes a sulfonamidas, rifampicina y cloranfenicol. Adicionalmente, la presencia de cepas con una resistencia intermedia a penicilina es relativamente frecuente por lo que se debe mantener la vigilancia. (11) Las muestras que presentan cultivo negativo o que no se pueden cultivar, pueden ser analizadas por métodos moleculares para confirmar la etiología. (12)

Neisseria meningitidis, es catalogada como grupo 2 de bioseguridad, debiendo ser manipulada en un laboratorio con nivel de contención 2. El laboratorio debe contar con un gabinete de seguridad biológica de clase II diseñado para proteger al usuario y al ambiente de los riesgos asociados al manejo de este microorganismo. (13)

1. Diagnóstico de Laboratorio

El Instituto de Salud Pública es el Laboratorio Nacional y de Referencia para *Neisseria meningitidis*, y le corresponde, según Decreto Supremo de Notificación Obligatoria D.S. 158/2004, confirmar los aislamientos de *Neisseria meningitidis* realizados por los laboratorios clínicos públicos y privados del país, y realizar vigilancia de la resistencia a antimicrobianos.

Para la confirmación de las cepas, se realiza una batería bioquímica en la que se observa la producción de ácido a partir de diferentes carbohidratos. Además, se determina el serogrupo mediante la técnica de aglutinación en lámina.

Para los casos sospechosos que presenten cultivos negativos, el laboratorio de referencia dispone de un protocolo de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real cuantitativa (QPCR/qPCR), para la búsqueda de material genético de patógenos meníngeos incluida *N. meningitidis*, utilizando como blanco el gen *ctrA*. A partir del año 2013 se realiza además identificación molecular de serogrupo por PCR en tiempo real de acuerdo al protocolo estandarizado por OPS.

Además, se vigila la susceptibilidad de la bacteria a penicilina, ceftriaxona, cloranfenicol, rifampicina y ciprofloxacino, mediante el método de concentración inhibitoria mínima (CIM) por epsilometría, y microdilución en caldo, según estándares CLSI vigentes (18). El Laboratorio de Referencia del Instituto de Salud Pública participa en la Red Latinoamericana SIREVA, amparada por la OPS, que se ha encargado de la estandarización y control de calidad de estas metodologías en nuestra región.

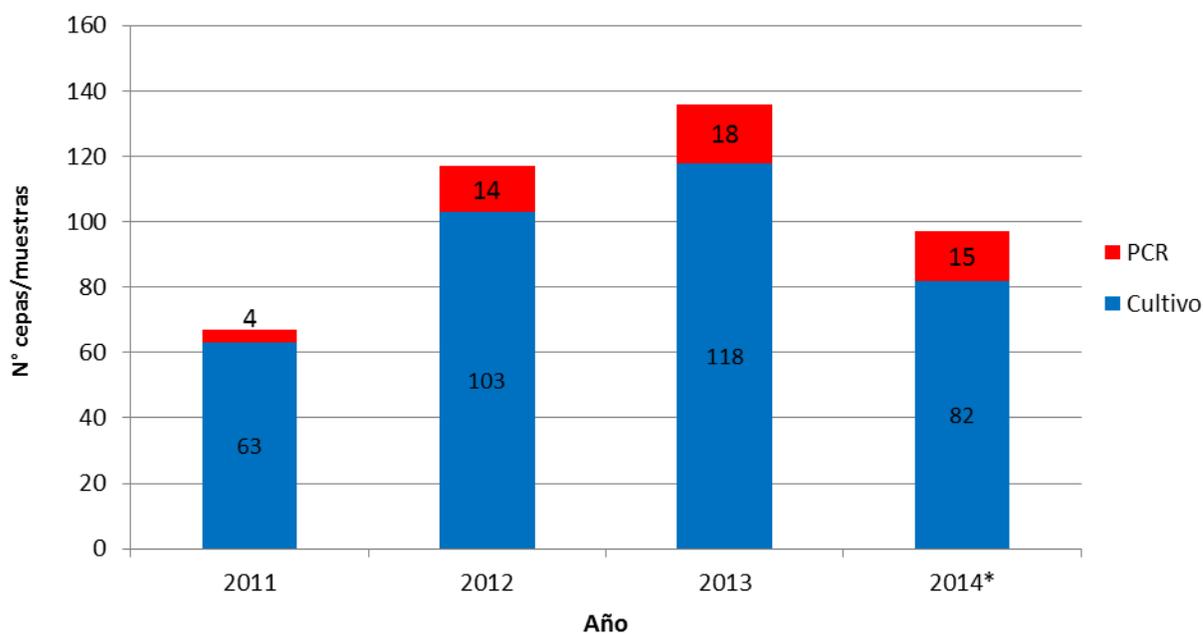
El Instituto realiza además la caracterización molecular de los aislamientos a través de técnicas moleculares de subtipificación como la Electroforesis de Campo Pulsado (PFGE), utilizando la enzima de restricción SpeI, los patrones obtenidos son analizados en el programa BioNumerics para determinar relaciones genéticas entre las cepas estudiadas. De manera complementaria, se realiza la subtipificación por Secuenciamiento de Multilocus (MLST) que consiste en el secuenciamiento de fragmentos internos de siete genes constitutivos. Los resultados obtenidos son analizados en la base de datos internacional <http://pubmlst.org/>.

2. Resultados vigilancia de *Neisseria meningitidis* 2011 – 2014.

Entre enero de 2011 y agosto de 2014, el laboratorio de referencia ha confirmado un total de 417 casos de enfermedad invasora por *N. meningitidis* (366 cepas y 51 muestras). De estos, el 87,8% (366/417) fueron confirmados mediante cultivo y el 12,2% (51/417) mediante el estudio de muestras por reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real cuantitativa (QPCR/qPCR).

La Figura 1, muestra el número de cepas y muestras confirmadas con *N. meningitidis* por año del periodo en estudio. El año con el mayor número de casos fue el 2013. Durante el año 2014 (enero a agosto) se han confirmado 97 casos, mientras que en el mismo periodo del año 2013 se confirmaron 92 casos, lo que representa un aumento del 5%.

Figura 1. Cepas y muestras de *Neisseria meningitidis* según técnica de confirmación y año. Chile 2011-2014*.



*Datos hasta agosto 2014.

Fuente: Laboratorio Meningitis Bacterianas. Instituto de Salud Pública de Chile. 2014.

Del total de casos confirmados por laboratorio en el periodo en estudio, el 58% (242/417) procedían de la Región Metropolitana y el 14,4% (60/417) de la Región de Valparaíso. De los casos confirmados procedentes de Región Metropolitana, el 72% (174/242) provenían de laboratorios pertenecientes a los servicios de salud (Tabla 1).

Tabla 1. Cepas y muestras de *Neisseria meningitidis* según técnica de confirmación y procedencia. Chile 2011 -2014*.

Región	Servicio de Salud	2011		2012		2013		2014*		Total	Total Región
		Cultivo	PCR	Cultivo	PCR	Cultivo	PCR	Cultivo	PCR		
Arica y Parinacota	Privado			1						1	1
Tarapacá	Iquique	2		1		1				4	6
	Privado					2				2	
Antofagasta	Antofagasta	1		3		3		3		10	15
	Privado					1	1	1	1	4	
	Otros**								1	1	
Atacama	Atacama				1	3		3		7	7
Coquimbo	Coquimbo	1	1			1		4		7	9
	Privado					2				2	
Valparaíso	Aconcagua	1			2	4		1		8	60
	Valparaíso-San Antonio	2		14		4	2	2		24	
	Viña del Mar-Quillota	3		5		4	3	4	2	21	
	Privado					3		2	1	6	
	Otros**			1						1	
Metropolitana	Central	5		5		3	2	6		21	242
	Norte	6		5		7	1	3		22	
	Occidente	6	1	4	1	1	2	3	1	19	
	Oriente	6		6	2	10	1	2		27	
	Sur	2		8	1	7		11	1	30	
	Sur Oriente	5		12		11	1	9	4	42	
	Privado	10		18		21	1	16	2	68	
Otros**		2	2		6	1	2		13		
L. B. O'Higgins	L. B. O'Higgins			3	2	4	1	2		12	12
Maule	Maule	3			1	2	1			7	7
Biobío	Biobío			1		2		1		4	28
	Concepción	3		1		2	1	1		8	
	Ñuble			2		3		2		7	
	Talcahuano			3	2	1			1	7	
	Privado					2				2	
Araucanía	Araucanía sur	2		2		2				6	7
	Privado			1						1	
Los Ríos	Valdivia	1		1	1			3	1	7	8
	Privado					1				1	
Los Lagos	Reloncaví			2		1				3	12
	Chiloé	1								1	
	Osorno	1		1		3		1		6	
	Privado			1		1				2	
Magallanes	Magallanes	2			1					3	3
Total		63	4	103	14	118	18	82	15	417	

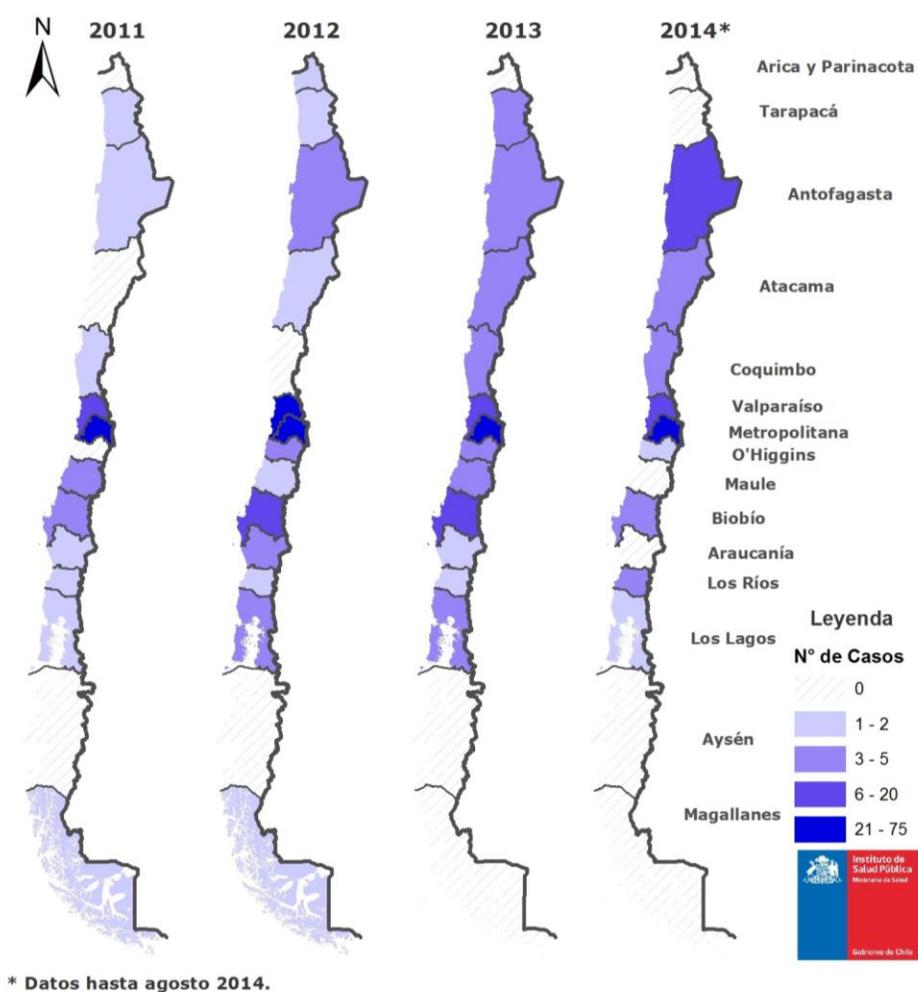
*Datos hasta agosto 2014.

**Otros: Públicos no pertenecientes al Sistema Nacional de Servicios de Salud.

Fuente: Laboratorio Meningitis Bacterianas. Instituto de Salud Pública de Chile. 2014.

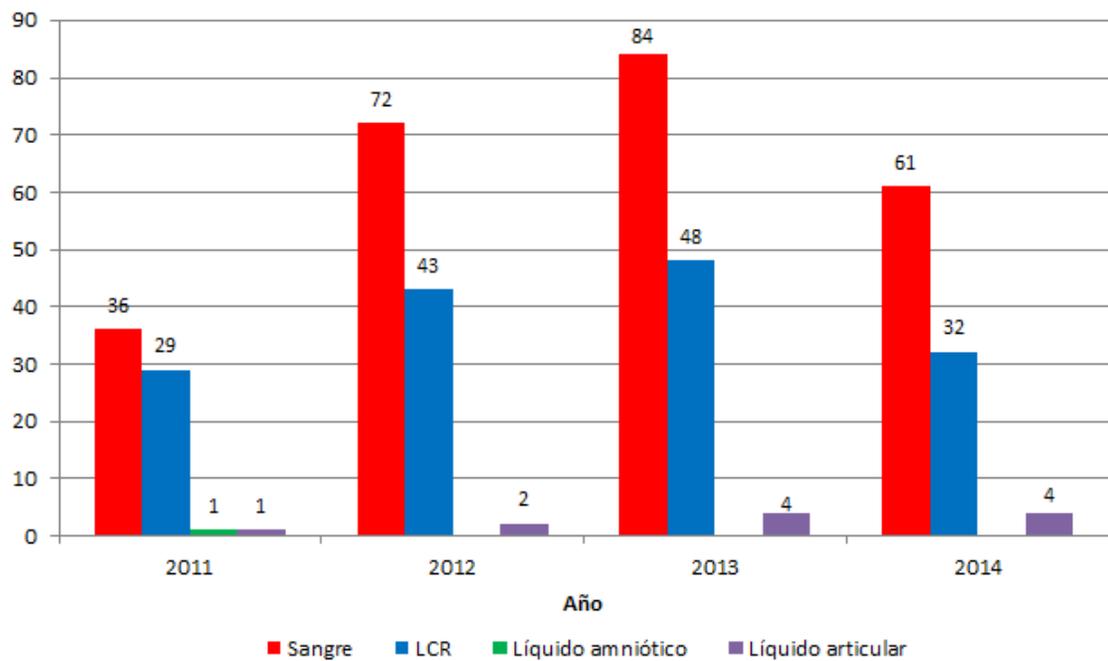
La Figura 2 presenta el número de casos confirmados por laboratorio de enfermedad invasora por Nm por región de procedencia de la muestra o cepa y año. Se observa que en todo el periodo en estudio el mayor número de casos fueron confirmados a partir de cepas o muestras derivadas de laboratorios de la Región Metropolitana.

Figura 2. Distribución de cepas y muestras de *Neisseria meningitidis* según procedencia. Chile 2011-2014.



La Figura 3 presenta el número de cepas y muestras confirmadas de Nm por tipo de muestra y año. Se observa que en todos los años predominan las cepas aisladas de sangre, seguidas por las muestras de líquido cefalorraquídeo.

Figura 3. Cepas y muestras de *Neisseria meningitidis* según tipo de muestra y año de confirmación. Chile 2011-2014*.

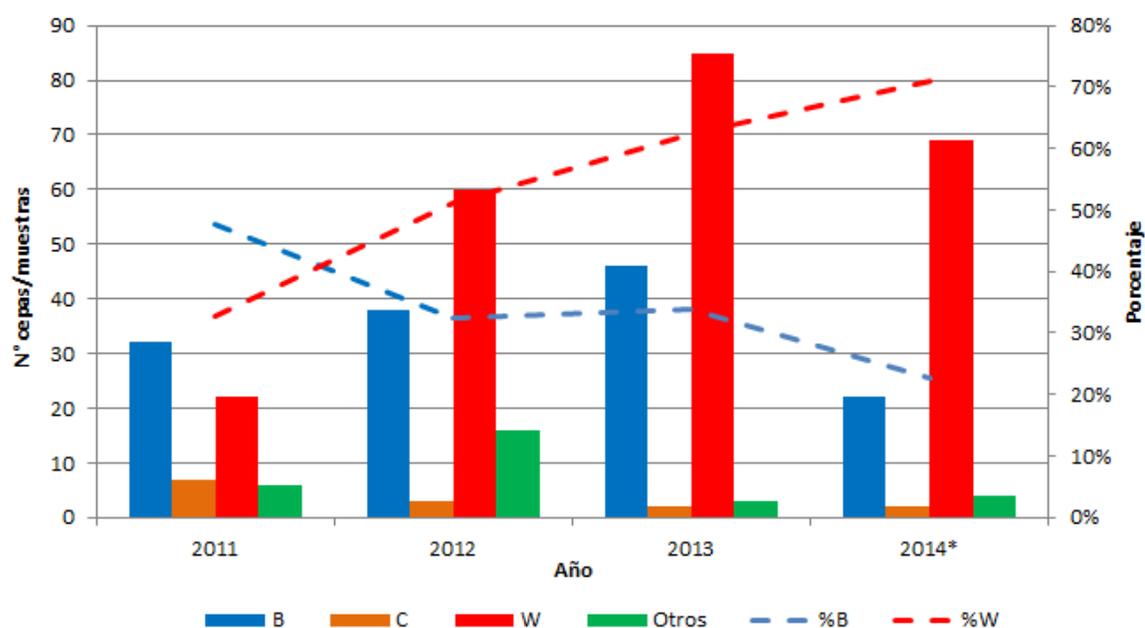


*Datos hasta agosto 2014.

Fuente: Laboratorio Meningitis Bacterianas. Instituto de Salud Pública de Chile. 2014.

La Figura 4 presenta el número de cepas y muestras confirmadas de *N. meningitidis* por serogrupo y año. Desde el año 2012, el serogrupo más frecuente fue el W en relación al total de serogrupos confirmados por año. En cuanto al serogrupo Y se han confirmado 5 casos durante el periodo, 2 casos en los años 2011 y 2012 respectivamente y un caso durante el 2014.

Figura 4. Cepas y muestras de *Neisseria meningitidis* según serogrupo y año. Chile 2011 -2014*



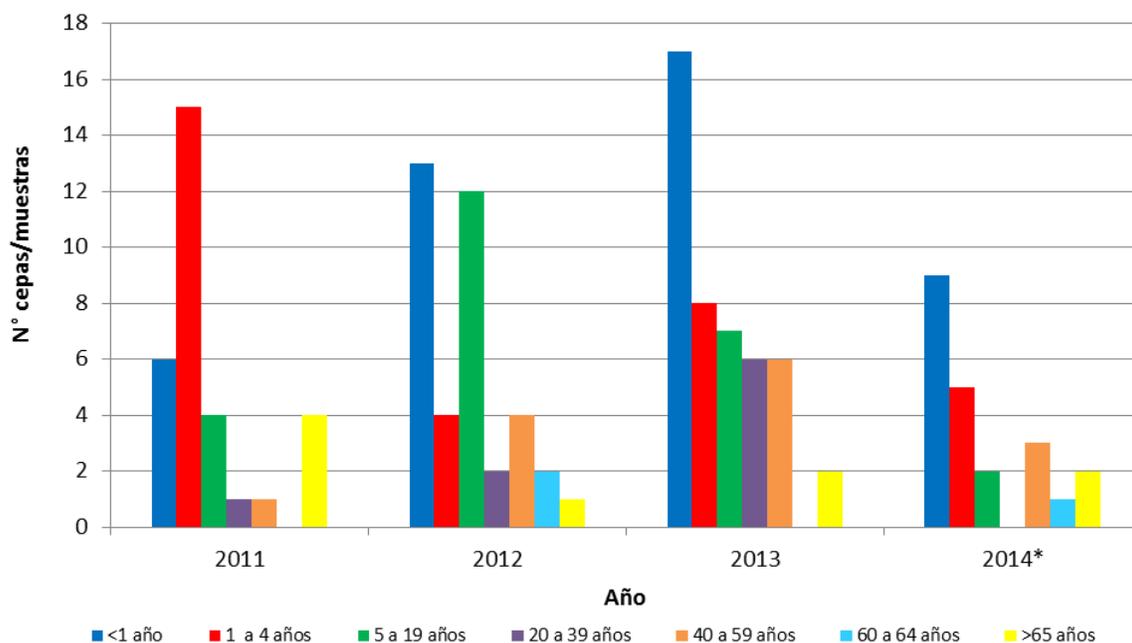
*Datos hasta agosto 2014.

Fuente: Laboratorio Meningitis Bacterianas. Instituto de Salud Pública de Chile, 2014.

N. meningitidis serogrupo B

En el año 2011 se observa predominio de *N. meningitidis* serogrupo B en el grupo etario entre 1 y 4 años, a partir del año 2012 el grupo de menores de 1 año ha presentado el mayor número de casos (Figura 5).

Figura 5. Cepas y muestras de *Neisseria meningitidis* serogrupo B según grupo de edad y año. Chile 2011-2014*

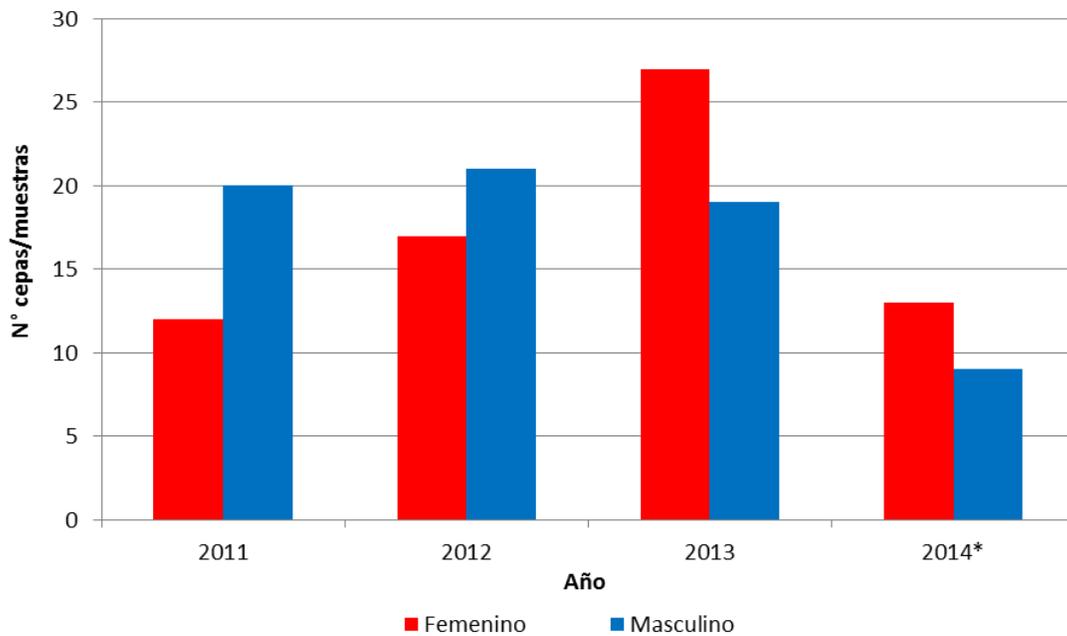


*Datos hasta agosto 2014.

Fuente: Laboratorio Meningitis Bacterianas. Instituto de Salud Pública de Chile, 2014.

En la Figura 6 se observa que durante los años 2011 y 2012 el mayor número de casos confirmados por laboratorio de *N. meningitidis* serogrupo B correspondían a sexo masculino mientras que entre 2013 y 2014 el mayor número de casos corresponde al sexo femenino. Al analizar todo el periodo no se observa diferencia por sexo.

Figura 6. Cepas y muestras de *Neisseria meningitidis* serogrupo B según sexo y año. Chile 2011 -2014*

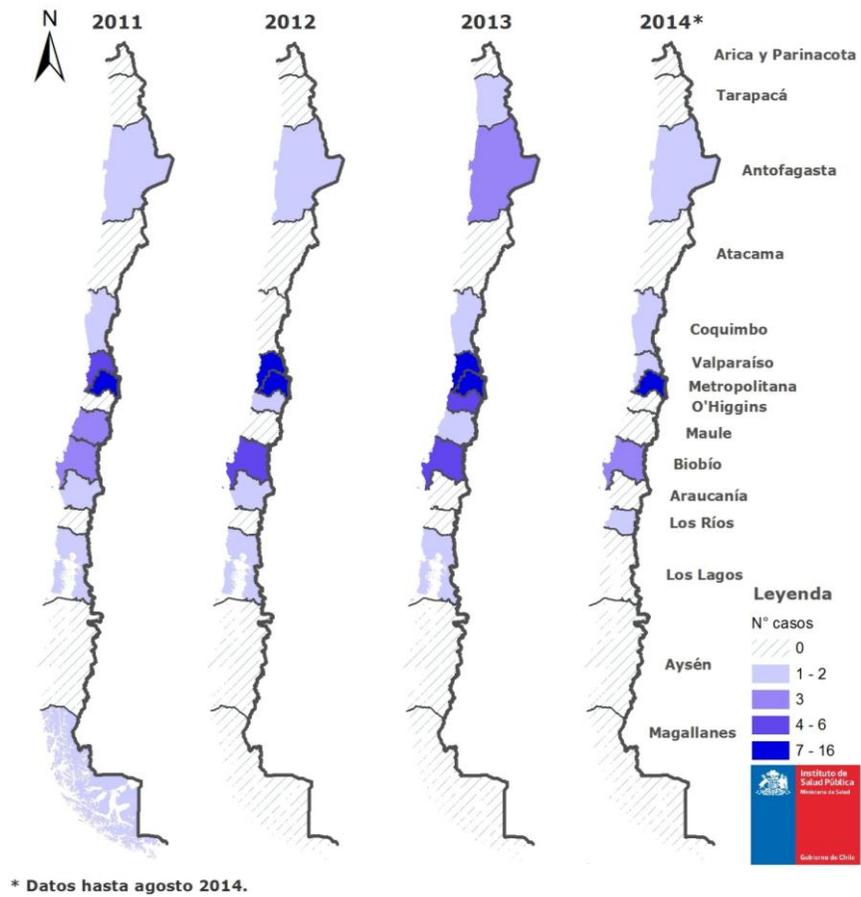


*Datos hasta Agosto 2014.

Fuente: Laboratorio Meningitis Bacterianas. Instituto de Salud Pública de Chile. 2014.

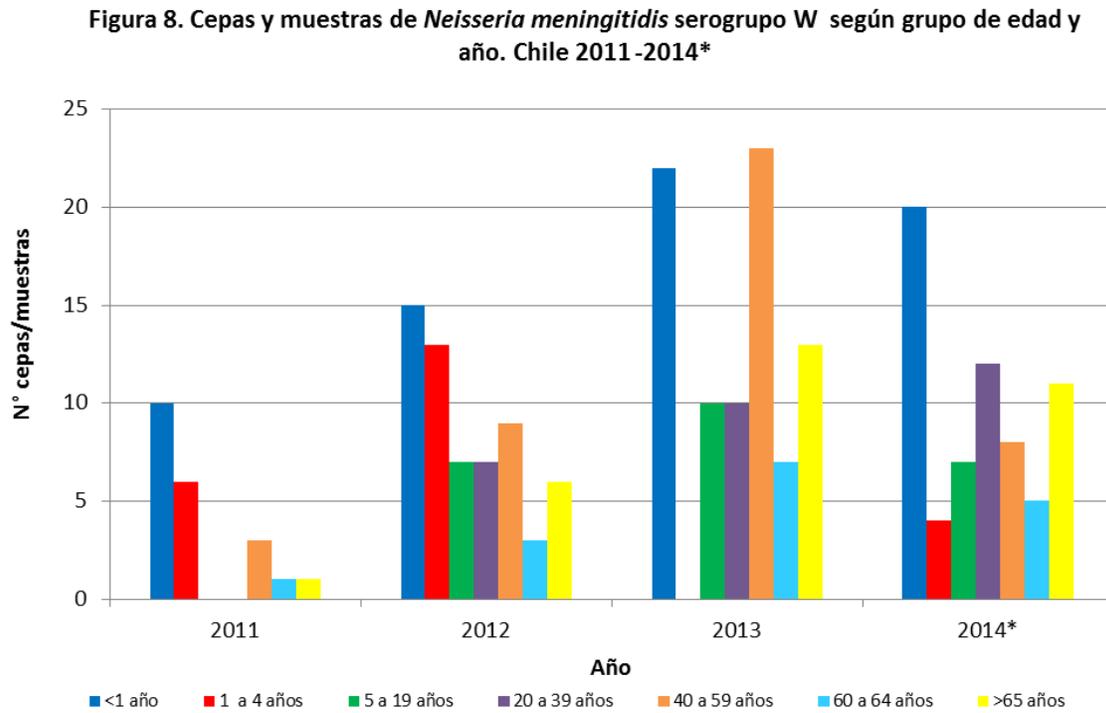
La Figura 7 presenta el número de casos confirmados por laboratorio de *N. meningitidis* serogrupo B por región y año. En el año 2014, el 68% (15/22) de las cepas y muestras confirmadas proceden de la Región Metropolitana, seguida de la Región del Biobío con el 14% (3/22).

Figura 7. Distribución de cepas y muestras de *Neisseria meningitidis* serogrupo B. Chile 2011-2014*



***N. meningitidis* serogrupo W**

En la Figura 8 se observa que durante todo el periodo el mayor número de casos confirmados por laboratorio de *N. meningitidis* serogrupo W se presentaron en el grupo de menores de 1 año, sin embargo en el año 2013 el mayor número de casos se confirmó en el grupo de 40 a 59 años.

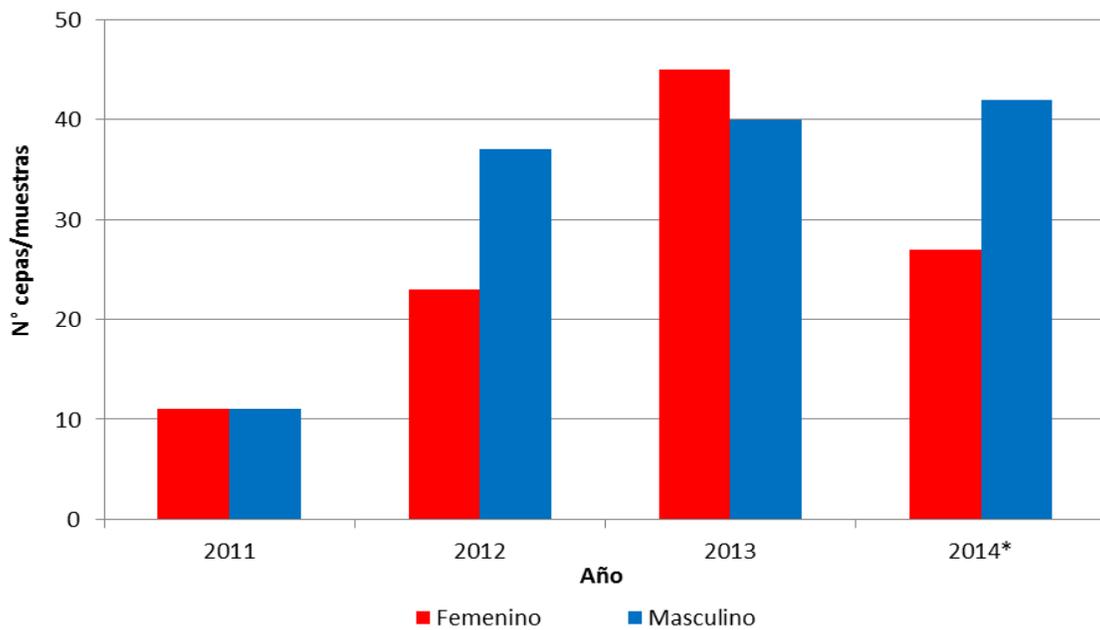


*Datos hasta agosto 2014.

Fuente: Laboratorio Meningitis Bacterianas. Instituto de Salud Pública de Chile. 2014.

La Figura 9 muestra el número de casos confirmados por laboratorio de *N. meningitidis* serogrupo W por sexo y año. El 55% (106/236) de casos confirmados del periodo corresponden al sexo masculino.

Figura 9. Cepas y muestras de *Neisseria meningitidis* serogrupo W según sexo y año. Chile 2011-2014*

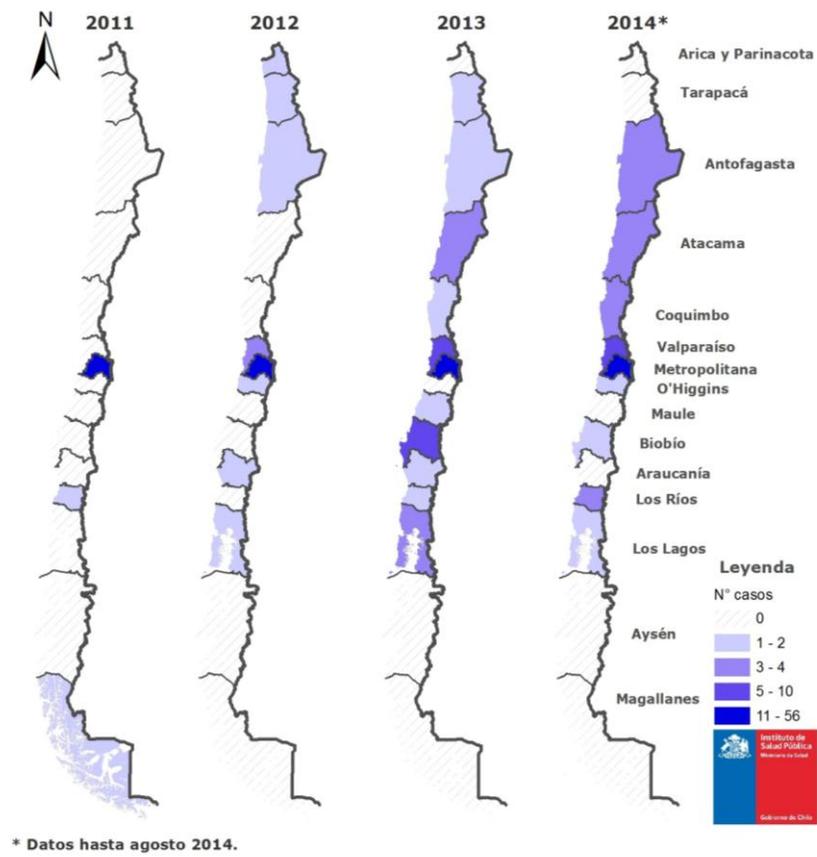


*Datos hasta agosto 2014.

Fuente: Laboratorio Meningitis Bacterianas. Instituto de Salud Pública de Chile. 2014.

La Figura 10 presenta el número de casos confirmados por laboratorio de *N. meningitidis* serogrupo W por región y año. En el año 2014, el 61% (42/69) de las cepas y muestras confirmadas proceden de la Región Metropolitana, seguida de la Región del Valparaíso con el 14% (10/69).

Figura 10. Distribución de cepas y muestras de *Neisseria meningitidis* serogrupo W.
Chile 2011-2014*



Estudio de susceptibilidad antimicrobiana

La Tabla 4 presenta el número de cepas analizadas por año y el porcentaje de cepas sensibles intermedias y resistentes, para cada uno de los antimicrobianos estudiados.

Los valores de sensibilidad a penicilina variaron entre 33% en el 2011 y 55% en el año 2012. El 100% de las cepas fueron sensibles a ceftriaxona, cloranfenicol, rifampicina y ciprofloxacino.

Tabla 4. Susceptibilidad a antimicrobianos en cepas de *Neisseria meningitidis*. Chile 2011 -2014*.

Año	n	Penicilina		Ceftriaxona	Cloranfenicol	Rifampicina	Ciprofloxacino
		S	I	S	S	S	S
2011	63	33%	67%	100%	100%	100%	100%
2012	103	55%	45%	100%	100%	100%	100%
2013	118	51%	49%	100%	100%	100%	100%
2014*	82	54%	46%	100%	100%	100%	100%

*Datos hasta agosto 2014.

S: Sensible, R: Resistente, I: Intermedio

Fuente: Laboratorio Meningitis Bacterianas. Instituto de Salud Pública de Chile. 2014.

Caracterización Molecular

El Subdepartamento de Genética Molecular del ISP, realizó la caracterización molecular de 297 cepas mediante MLST y PFGE lo que equivale al 92% (337/366) del total de cepas confirmadas en el periodo analizado (Tabla 5).

Tabla 5. Número de cepas de *Neisseria meningitidis* con estudio de genética molecular. Chile 2011-2014*

Año	Nº de cepas caracterizadas
2011	63
2012	103
2013	118
2014	53

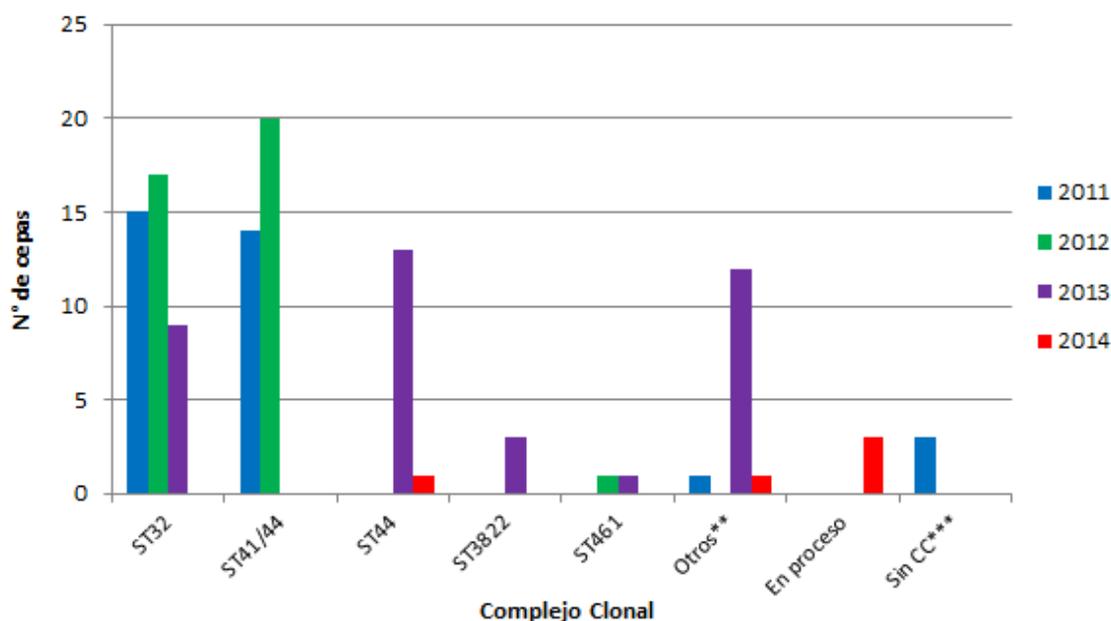
*Información hasta agosto de 2014.

Fuente: Subdepartamento de Genética Molecular. Instituto de Salud Pública de Chile.

N. meningitidis serogrupo B

Los resultados del análisis por MLST indican predominio del complejo clonal ST32 para las cepas de *N. meningitidis* serogrupo B en los años 2011 y 2012. En el 2013, predominó el complejo clonal ST44, representando el 34% (13/38) del total del año (Figura 11).

Figura 11. Distribución de complejos clonales de *Neisseria meningitidis* serogrupo B. Chile 2011-2014*



*Datos hasta agosto 2014.

**Otros: incluye 14 complejos clonales

***Sin complejo clonal

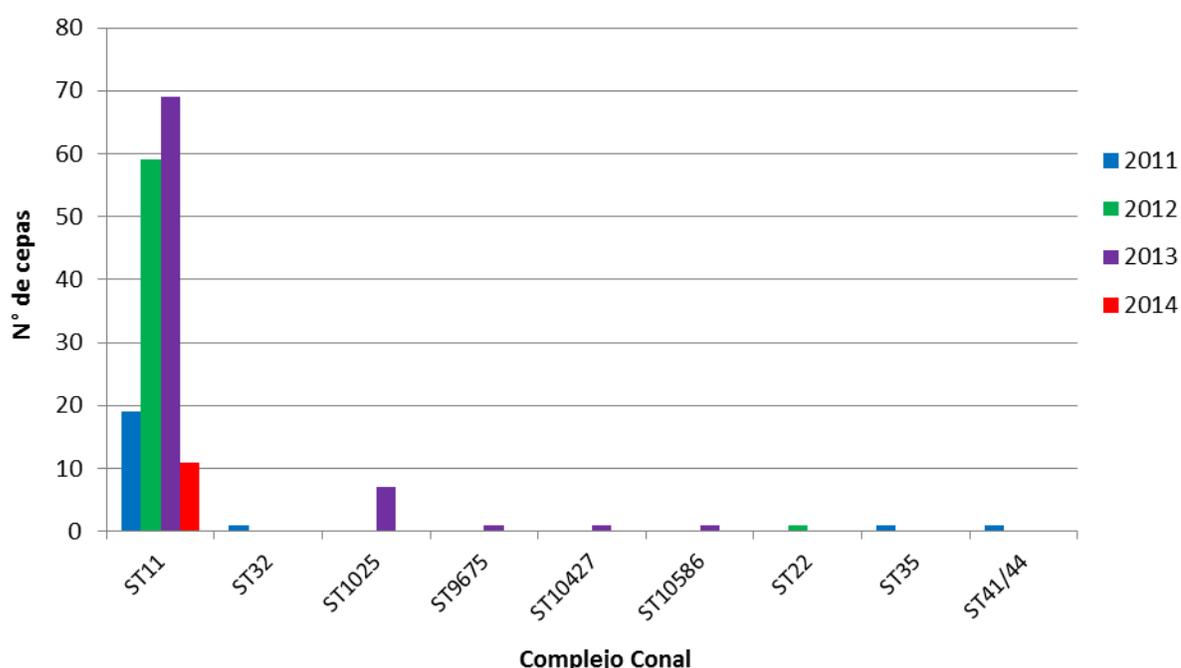
Fuente: Subdepartamento de Genética Molecular. Instituto de Salud Pública de Chile.

Mediante la caracterización molecular por PFGE se identificaron 135 subtipos diferentes de *N. meningitidis* serogrupo B, indicando de manera global un gran polimorfismo con discreta predominancia de los subtipos CI-NM-Spe-82 y CI-NM-Spe-14 durante el periodo 2011-2014.

***N. meningitidis* serogrupo W**

La caracterización del serogrupo W revela que el 82% (158/192) de las cepas del periodo de estudio corresponden al complejo clonal ST11. (Figura 12).

Figura 12. Distribución de complejos clonales de *Neisseria meningitidis* serogrupo W. Chile 2011-2014*



*Datos hasta agosto 2014.

Fuente: Subdepartamento de Genética Molecular. Instituto de Salud Pública de Chile.

Las cepas del serogrupo W, desde el 2011 presentaron 33 subtipos genéticos distintos mediante el estudio de PFGE, siendo los predominantes CI-Nm-Spe-031 y CI-Nm-Spe-046, lo que representa el 41% (78/192) y 16% (30/192) respectivamente del total de las cepas W estudiadas.

3. Conclusiones:

El Laboratorio de Referencia de Meningitis Bacteriana ISP, en el periodo enero de 2011 a agosto de 2014, ha confirmado 417 casos de enfermedad invasora por *N. meningitidis*. De estos, el 87,8% (366/417) fueron confirmados mediante cultivo y el 12,2% (51/417) mediante reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real cuantitativa (QPCR/qPCR).

El 58% (242/417) de las cepas y muestras confirmadas proceden de la Región Metropolitana, de estos el 72% (174/242) de laboratorios privados.

Desde enero de 2011 a agosto de 2014 se observa un aumento del serogrupo W, el que representa el 71% (69/97) de los casos confirmados en el año 2014, mientras que el serogrupo B representa el 23% (22/97) de los mismos.

Los casos confirmados del serogrupo B fueron más prevalentes en los menores de 1 año desde el año 2012 a agosto del 2014. Los casos del serogrupo W se concentraron en el mismo grupo etario, salvo en el año 2013, en que se confirmó este serogrupo con más frecuencia en el grupo de 40 a 59 años.

El 100% de las cepas estudiadas fueron sensibles para ceftiaxona, cloranfenicol, rifampicina y ciprofloxacino.

La caracterización genética para el serogrupo B indica predominio del complejo clonal ST32 en los años 2011 y 2012 y ST 44 para el año 2013. Para el serogrupo W predomina ampliamente el complejo clonal ST11 en el periodo estudiado.

Referencias

1. Vásquez J. Situación actual de la epidemiología de la enfermedad meningocócica [Internet]. Laboratorio de Referencia de Neisserias, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda (Madrid); [consulta 2014 Sep 9] p. 1–8. Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/epimening.pdf>
2. Public Health Agency of Canada. *Neisseria meningitidis* [Internet]. 2011 [consulta 5 de Septiembre 2014]. Disponible en: <http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/neisseria-men-eng.php>
3. Wilhelm J. y Villena R. Historia y epidemiología del meningococo. Rev Chil Pediatr [Internet]. 2012 [consulta 8 de Septiembre 2014];83(6):533–9. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0370-41062012000600002
4. Almeida-González L., Franco-Paredes C., Pérez L. y Santos-Preciado J. Enfermedad por meningococo, *Neisseria meningitidis*: perspectiva epidemiológica, clínica y preventiva. Salud Pública de México [Internet]. 2004 [consulta 8 de Septiembre 2014];46(5):438–50. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/spm/v46n5/a09v46n5.pdf>
5. Organización Mundial de la Salud . Meningococcal disease [Internet]. Global Alert and Response (GAR); [consulta 5 de Septiembre 2014]. Disponible en: <http://www.who.int/csr/disease/meningococcal/en/>
6. Public Health Agency of Canada. Invasive Meningococcal Disease For Health Professionals [Internet]. 2014 [consulta 1 de Septiembre 2014]. Disponible en: <http://www.phac-aspc.gc.ca/im/vpd-mev/meningococcal/professionals-professionnels-eng.php>
7. Centers for Disease Control and Prevention. Meningococcal disease [Internet]. 2014 [consulta 6 de Septiembre 2014]. Disponible en: <http://www.cdc.gov/meningococcal/>
8. The College of Physicians of Philadelphia. Enfermedad meningocócica [Internet]. History of Vaccines. 2014 [consulta 9 de Septiembre 2014]. Disponible en: <http://www.historyofvaccines.org/es/contenido/articulos/enfermedad-meningoc%C3%B3cica>
9. Organización Panamericana de la Salud / Organización Mundial de la Salud. Meningitis meningocócica [Internet]. 2012 [consulta 6 de Septiembre 2014]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs141/en/>
10. Centers for Disease Control and Prevention. Identification and Characterization of *Neisseria meningitidis* [Internet]. 2014 [consulta 1 de Septiembre 2014]. Disponible en: <http://www.cdc.gov/meningitis/lab-manual/chpt07-id-characterization-nm.pdf>
11. Organización Panamericana de la Salud. Diagnóstico de laboratorio de las Meningitis Bacterianas causadas por *Neisseria meningitidis* [Internet]. 2011 [consulta 1 de Septiembre 2014]. Disponible en :

file:///C:/Users/AMaldonado.ISP/Downloads/PAHO-Manual-Meningo-Esp-2011.pdf

12. Centers for Disease Control and Prevention. Laboratory Manual for the Diagnosis of Meningitis Caused by *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, and *Haemophilus influenzae* [Internet]. 2011 [consulta 9 de Septiembre 2014]. Disponible en: <http://www.cdc.gov/meningitis/lab-manual/full-manual.pdf>

13. Organización Panamericana de la Salud. "Manual de bioseguridad para el procesamiento de muestras y cepas relacionadas con el diagnóstico de laboratorio de las neumonías y meningitis por *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*. Una iniciativa de SIREVA II." [Internet]. Documentos Técnicos. Tecnología, Atención en Salud e Investigación. Washington, D.C.: OPS; 2008 [consulta 8 de Septiembre 2014]. Disponible en: http://new.paho.org/hq/dmdocuments/2009/TH_manualBioseguridad.pdf