

11230



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO E INVESTIGACION
SERVICIO DE NEFROLOGIA DEL HOSPITAL DE
ESPECIALIDADES DEL CENTRO MEDICO NACIONAL
"LA RAZA"

1

RAPIDA IDENTIFICACION DE CEPAS DE ESTA
FILOCOCO DE PACIENTES EN DIALISIS
PERITONEAL CON PERITONITIS.

282810

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
ESPECIALISTA EN NEFROLOGIA
P R E S E N T A :
DR. JOSE GABRIEL ORTEGA ORTIZ

TUTOR ACADEMICO: DR. J. DANIEL SALAZAR EXAIRE NEFRÓLOGO



MSS

MEXICO, D. F.

NOVIEMBRE 2000



Universidad Nacional
Autónoma de México

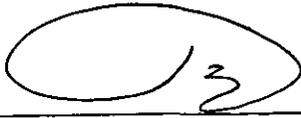


UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



Dr. Arturo Robles Páramo

Jefe de Educación e Investigación Médica



Dr. Alfonso Luis González Sánchez

Jefe del Departamento de Nefrología



Dr. José Gabriel Ortega Ortiz

Residente de Nefrología



Nº de PROTOCOLO: 980681

98-690-0082



RAPIDA IDENTIFICACION DE CEPAS DE ESTAFILOCOCO DE PACIENTES EN DIALISIS PERITONEAL CON PERITONITIS.

Objetivo : Proponer una prueba rápida y sensible para el diagnóstico de peritonitis por *staphylococcus*.

Material y Métodos: Se estudiaron 21 pacientes sometidos a diálisis peritoneal ambulatoria continua, con peritonitis. Se utilizó tinción de gram, cultivos del líquido peritoneal en forma convencional, medio de Ruiz Castañeda y el kit RAPIDEC. Se midieron los tiempos de las tres técnicas y se observó el tiempo del diagnóstico del germen causal de la peritonitis.

Resultados: Los cultivos en forma convencional y el de Ruiz Castañeda tuvieron tiempos similares, en la positividad. Las cepas aisladas fueron: 12 *S. aureus*, 4 *S. epidermidis*, 1 *K. pneumoniae*, 1 *St fecalis*, 1 *C. Albicans* y 2 cultivos negativos. Los resultados de la prueba rápida confirmaron las mismas cepas de estafilococos, excepto dos falsas positivas. El cultivo también resultó negativo mediante la prueba rápida. El tiempo en los cultivos convencionales y en el de Ruiz Castañeda fue en ambos 84 ± 12.64 h, mientras que la prueba rápida dio $2.36 \pm .075$ h, $p < 0.0001$. La prueba rápida acortó el tiempo de diagnóstico del germen causante de la peritonitis; en promedio 91.1 h.

Conclusiones: La detección de cepas de estafilococo en pacientes en diálisis peritoneal mediante RAPIDEC, puede dar un diagnóstico del germen causal en corto tiempo, lo que permitiría iniciar un manejo antibiótico más específico y evitar el cambio frecuente de esquemas antimicrobianos, así como disminuir morbilidad y costos del manejo del paciente con peritonitis.

Palabras claves: RAPIDEC, peritonitis, diálisis peritoneal.

RAPID IDENTIFICATION OF STRAINS OF STAPHYLOCOCCUS OF PATIENT IN PERITONEAL DIALYSIS WITH PERITONITIS.

Objective: To propose a rapid and sensitive test for the peritonitis diagnosis for staphylococcus.

Material and Methods: 21 patients were studied in continuous ambulatory peritoneal dialysis, with peritonitis. Gram tintion was used, cultives of the peritoneal liquid in conventional form, Ruiz Castañeda and the kit RAPIDEC. Times of the three techniques were measured and the time causal germ diagnosis of the peritonitis was observed.

Results: The cultivate in conventional form and Ruiz Castañeda positivity had similar times. The isolated strains were: 12 *S. aureus*, 4 *S. epidermidis*, 1 *K. pneumoniae*, 1 *St fecalis*, 1 *C. Albicans* and 2 negative cultives. The results of the rapid test confirmed the same staphylococcus strains, except two false positive. The cultivate was also negative by means of the rapid test. Conventional cultivate time and Ruiz Castañeda were in both 84 ± 12.64 h, while the fast test gaves $2.36 \pm .075$ h, $p < 0.0001$. The fast test shortened diagnosis time of the etiology of the peritonitis, on the rate 91.1 h.

Conclusions: The detection of staphylococcus strains in patient in peritoneal dialysis by means of RAPIDEC, can give a diagnosis of the causal germ in short time, which would allow have a more specific antibiotic therapy to avoid frequently change antimicrobians, as well as to diminish morbidity and costs of the patient's handling with peritonitis.

Key words: RAPIDEC, peritonitis, peritoneal dialysis.

1.- INTRODUCCIÓN

Con la evolución de la medicina y los avances tecnológicos, las enfermedades crónico-degenerativas han desplazado a las enfermedades infecciosas como principal causa de morbi-mortalidad, lo que se constata tanto en los países desarrollados como en aquellos en vías de desarrollo.

Entre las enfermedades crónico-degenerativas, la insuficiencia renal crónica se ha caracterizado en los últimos diez años por adquirir cada vez una mayor importancia médica y económica, ya que actualmente se gastan en U.S.A. alrededor de 2 billones de dólares en el manejo del paciente mediante tratamiento sustitutivo de la función renal (1). En nuestro país, por su parte, el I.M.S.S. destina un tercio de su presupuesto general al manejo del paciente con IRC, en tratamiento sustitutivo (2).

Actualmente, en el IMSS un porcentaje entre el 80% y el 85% de los pacientes con IRC se encuentra bajo tratamiento con diálisis peritoneal, en sus dos modalidades, esto es, diálisis peritoneal intermitente (DPI) y diálisis peritoneal continua ambulatoria (DPCA), mientras el resto se encuentra en manejo con hemodiálisis. Considerando el costo que implica el manejo de estos pacientes, es de importancia considerar que la diálisis peritoneal implica un menor gasto que el tratamiento con hemodiálisis (2 y 3).

En el paciente bajo tratamiento de diálisis peritoneal, el principal problema de morbi-mortalidad es el relativo a la presentación de peritonitis, lo que representa mayor estancia hospitalaria y su principal impacto incide sobre el estado nutricional del paciente, afectando la pérdida de la cavidad peritoneal (4). La peritonitis por diálisis peritoneal es un cuadro caracterizado por elevación de las cuentas leucocitarias del líquido peritoneal y está asociado a dolor abdominal, fiebre y, en algunos casos, a evacuaciones diarreicas. El diagnóstico habitual se lleva a cabo mediante recuentos celulares del líquido peritoneal, lo que en condiciones normales debe ser menor a 100 células por ml., a través de la realización de un cultivo del líquido peritoneal (5). El resultado definitivo se obtiene de 3 a 5 días después de iniciar el cuadro peritoneal respectivo, lo que ocasiona que la información del resultado de dicho cultivo peritoneal no se refiere muchas veces al germen que estamos combatiendo mediante los antibióticos, produciendo por ello pérdidas de tiempo muy valioso, ya que, al iniciar otro esquema antibiótico 5 días después, se favorece una mayor estancia de agentes infecciosos y la posible pérdida de la cavidad peritoneal, disminuyendo con ello la esperanza de vida y llevando al paciente al cambio de modalidad en la diálisis, como la hemodiálisis, siendo esta última más costosa y con mayor riesgo de mortalidad.

En los pacientes con IRC, el germen más frecuente que produce peritonitis es el *staphylococcus epidermidis* y, en segundo lugar de frecuencia, el *staphylococcus aureus* (5 y 6). La forma de entrada se debe, ya sea por medio de contaminación debida a un mal manejo en el cambio de la bolsa de

diálisis, ya por infección del túnel de salida, o bien, por infecciones sistémicas (5 y 6).

El estafilococo es una bacteria gram positiva, con abundancia de proteína A en su pared celular. La proteína A tiene la propiedad de unir al Fc (fracción cristalizante) de los anticuerpos, lo que hace muy útil esta propiedad al ser detectada rápidamente, mediante una metodología del tipo de la coagulación (7). La ventaja de esta metodología es que es sumamente específica, sensible, rápida y de bajo costo (8). Además existen otras pruebas, por biología molecular y con PCR, que detectan cepas de *staphylococcus epidermidis* en forma rápida (9). Otro método rápido, para detectar cepas de estafilococos *aureus* y *epidermidis*, es el basado en sus características enzimáticas por el método del RAPIDEC (10 y 11).

Los estafilococos son responsables de más del 80% de las enfermedades supurativas que se encuentran en la práctica médica. Actualmente, la mayoría de las infecciones estafilocócicas serias se observan en pacientes cuyas defensas normales están severamente alteradas. De la familia de las *micrococcaceae*, los estafilococos son el único género de importancia médica, considerados gram positivos, que son anaerobios facultativos y crecen en racimos irregulares. Habitualmente, las cepas no patológicas producen cepas blancas; sin embargo, la producción de pigmento es un rasgo variable de los estafilococos y su correlación con la patogenicidad no es confiable (12).

La producción de coagulasa es el criterio más útil para el reconocimiento de *staphylococcus aureus* y, aunque este *staphylococcus aureus* es el patógeno más significativo para el hombre, cada vez se acepta con mayor certeza que, estafilococos coagulasa negativa, pueden causar infecciones. El *staphylococcus epidermidis*, por su parte, aunque relativamente avirulento, se ha asociado a un número cada vez mayor de infecciones adquiridas en hospitales, especialmente en pacientes cuya susceptibilidad está aumentada y, también, en aquellos pacientes que exhiben un nido de material extraño, como prótesis o sondas (10)

La pared celular del estafilococo *aureus* consiste de tres componentes principales: peptidoglicano, ácidos teicoicos y proteína A. El peptidoglicano comprende del 40% al 60% del peso molecular de la pared celular, en tanto la cantidad de los otros componentes es variable (13). Además, el estafilococo *aureus* tiene una enzima denominada aureasa, con capacidades proteolíticas sobre la coagulación, que es específica para el estafilococo *aureus* (10).

La proteína A consiste de una sola cadena polipeptídica, con un peso molecular de 42,000 daltones. Cuatro residuos de tirosina, totalmente expuestos en la superficie, son responsables de la actividad biológica. La calidad singular de la proteína A se centra en su capacidad para interactuar con la IgG normal de muchos mamíferos. En una especie, la interacción puede limitarse a ciertos subgrupos de IgG y, aunque similar a una reacción antígeno-anticuerpo común, la unión de la porción Fc se limita únicamente a la

inmunoglobulina. A su vez, la proteína A consta de 5 regiones: cuatro dominios, altamente homólogos, se unen a Fc, mientras que el quinto dominio, C-terminal, está unido a la pared celular y no se une a Fc (14).

La proteína A provoca una variedad de efectos biológicos: quimiotáctica, antifagocítica, inhibe la función del complemento y promueve reacciones de hipersensibilidad y lesión plaquetaria. Además, es mitogénica y potencia la actividad NK de los linfocitos humanos (14).

Aunque hay una buena correlación entre la producción de proteína A y la actividad de coagulasa, no hay correlación entre la ausencia o presencia de proteína A y algunas propiedades patógenas. Su capacidad para unirse con la región Fc y la IgG ha llevado a numerosas aplicaciones, derivadas de estudios inmunoquímicos y estructurales de la superficie celular (13 y 14).

Consideramos que la propiedad que tienen los estafilocos de contar con la proteína A, los hace muy detectables ante pruebas rápidas y sensibles, como la coagulación y el RAPIDEC. Además, esta metodología no requiere de gran infraestructura de laboratorio, por lo que la utilidad de una detección temprana del germen causal de las peritonitis permite ganar tiempo en el diagnóstico y prontitud en el tratamiento, lo que resulta en un mejor pronóstico y menor riesgo de pérdida de la cavidad peritoneal, así como en una disminución de la estancia hospitalaria y de la morbi-mortalidad (15 y 16).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El diagnóstico etiológico de infección peritoneal, en pacientes sometidos a diálisis peritoneal, es muy tardado (de 3 a 5 días), lo que provoca tratamientos inespecíficos, en muchas ocasiones ineficaces, con consecuencias fatales por cambio de esquemas de antibióticos (hasta tres esquemas por evento peritoneal, ocasionalmente), condicionando pérdida de cavidad peritoneal, mayor estancia intrahospitalaria y cambio de programa, más costoso y menos factible en nuestro medio.

OBJETIVOS

Objetivo general

Proponer, como prueba rápida (menos de tres horas) y sensible para el diagnóstico de peritonitis por *staphylococcus*, la prueba de RAPIDEC. Esta prueba está destinada a la detección de *staphylococcus aureus*, de *staphylococcus epidermidis* y a determinar si los *staphylococcus* son β -lactamasa positivos, en líquido peritoneal de pacientes sometidos a diálisis peritoneal con peritonitis,

Objetivos específicos

- Diagnosticar peritonitis en pacientes sometidos a diálisis peritoneal, mediante las técnicas habituales de recuentos celulares diarios, método de gram y cultivo tradicional;
- Determinar si las cepas obtenidas son β -lactamasa positivos, de los pacientes con peritonitis en diálisis peritoneal;
- Realizar comparaciones con los resultados obtenidos de las pruebas rápidas y tradicionales, a fin de valorar la utilidad de las pruebas rápidas.

HIPOTESIS

- Los métodos de identificación de *staphylococcus aureus* y *staphylococcus epidermidis*, forma habitual en las infecciones peritoneales de pacientes sometidos a diálisis peritoneal, son tardados para efectos del diagnóstico;
- Los métodos de identificación por RAPIDEC, para la identificación de *staphylococcus aureus* y *staphylococcus epidermidis*, disminuyen la morbilidad y mejoran el pronóstico de los pacientes con infecciones peritoneales, en pacientes sometidos a diálisis peritoneal;

- La detección de gérmenes β -lactamasa positivos, permite seleccionar más adecuadamente el esquema antibiótico de aquellos pacientes con infección peritoneal sometidos a diálisis peritoneal.

2.- MATERIAL Y MÉTODOS

Sujetos: Se estudiaron 21 pacientes tratados en DPCA y DPI (diálisis peritoneal ambulatoria y diálisis peritoneal intermitente) en el Servicio de Nefrología del Hospital de especialidades de Centro Médico Nacional La Raza, con una edad promedio de 35.4 años (dentro de un rango entre 14-67 años), quienes presentaban síntomas clínicos de peritonitis, con recuentos celulares mayores de 100 células y libres de tratamiento antimicrobiano. Para los 21 pacientes, la etiología de la IRCT fue la siguiente: 4 pacientes diabéticos tipo 2; con riñones poliquisticos, 2 pacientes; 1 paciente con Lupus eritematoso sistémico y 14 con etiología no determinada. Estos pacientes ingresaron a diálisis peritoneal en el período Junio-Agosto de 1999 y se encontraban libres de tratamiento antimicrobiano al inicio de su cuadro de peritonitis.

Manejo del líquido de diálisis:

1. - Se tomó el primer líquido de diálisis drenado del paciente y se obtuvo de éste 100 ml, dividiéndose posteriormente en dos porciones de 50 ml c/u, uno para el cultivo convencional y el otro para la prueba rápida;

Tanto a los 50 ml para la prueba rápida como a los 50 ml para el método de cultivo convencional se les realizó lisis celular, la que consiste en que, una vez centrifugado el líquido, se decanta sobrenadante en un tubo estéril, dejando un volumen mínimo de 3-5 ml. Luego se hace una cuenta de leucocitos, se adiciona 1 ml de agua destilada estéril por cada 100 células/mm³ que se

cuenten, para llevar al Vórtex de 40 a 60 segundos. Enseguida se toma una gota del sedimento y se coloca en placas de Agar Sangre, Agar Gelosa Chocolate y Agar de MacConkey . Se adiciona el sobrenadante al sedimento, se toma una alícuota de 0.5 a 1 ml y se inocula en una botella para hemocultivo (Ruiz-Castañeda). Al líquido sobrante se le adiciona medio de B: H:I: (vol-vol);

3.- Se realiza tinción de Gram por la técnica convencional, considerando que la tinción de Gram parece relacionarse con el espesor de la pared celular, el tamaño de los poros y las propiedades de permeabilidad de la envoltura celular intacta y, por otra parte, no existe una estructura o composición química de la pared celular bacteriana única que pudiera explicar la tinción de Gram, dado que las células de las levaduras de paredes gruesas, que también se tiñen como gram positivas, poseen una composición química y una estructura distinta al de las bacterias gram positivas;

4.-Con la muestra centrifugada y lisada se inició la prueba de RAPIDEC, la que está basada en una reacción bioquímica que detecta la producción de una aureasa (10 y 11), enzima específica para *S. Aureus*, la cual es una enzima proteolítica de la coagulación que reacciona con la protrombina, para formar un complejo llamado estafilotrombina. La estafilotrombina transforma un péptido fluorescente, presente en la prueba, la que libera un péptido y un radical fluorescente.

La prueba RAPIDEC es fabricada por laboratorios BioMerieux S.A. y el KIT consiste en 6 cúpulas: una para suspensión, dos para controles y tres para la realización de pruebas bioquímicas. Las dos de control (c y S) se inoculan con 250 µl de solución y la cúpula C con 250µl de agua bidestilada estéril, siendo el control de referencia de turbidez. En la cúpula S se colocan 250µl de líquido peritoneal problema, con una turbidez de referencia de 4 de Mcfarland. Alcanzada la turbidez, se colocan 50 µl en cada una de las cúpulas 0,1,2,3, las que se mantienen en incubación por 2 hrs a 37° C. La cúpula 0 es el control negativo para la fluorescencia de la prueba de la coagulación y se utilizó para la reacción, a catalasa específica, para el género estafilococo, en tanto la cúpula 1 es la prueba de aureasa (AUR). Como se mencionó previamente, esta prueba detecta la producción de la enzima aureasa específica para estafilococo *aureus*. La ureasa es una enzima proteolítica de la coagulación, que reacciona con la protrombina para formar un complejo denominado estafilotrombina. La estafilotrombina transforma un péptido fluorogénico presente en la cúpula, el cual libera, al momento de la reacción, un péptido y un radical fluorescente. Este último es visible bajo luz ultravioleta, con una longitud de onda de 350 nm. La fluorescencia en la cúpula 1 y negativa en la cúpula 0, es indicativa de prueba AUR positiva, resultando, por tanto, positiva para estafilococo *aureus*, momento en que concluye la prueba (10 y 11).

La cúpula 2 es una prueba PAL basada en la hidrólisis de p-nitrofenilfosfato. Estos componentes no muestran color y son hidrolizados liberando nitrofenol, produciendo entonces un color amarillo espontáneo. La

cúpula 3 es una prueba enzimática BGAL basada en la hidrólisis de una β -galactopiranoside, como sustrato, la que libera un Naftol como producto. Este co-producto es detectado por la adición de una sal diazonium (reactivo azul-violeta), que resulta en la formación de un líquido rojo-rosa. El azul-violeta es el único reactivo requerido en el RAPIDEC. La prueba positiva para AUR identifica a un estafilococo *aureus*, la prueba únicamente positiva, para PAL, identifica a un estafilococo *epidermidis*, y la reacción positiva, únicamente para BGAL, detecta a un estafilococo *saprofiticus*. Resultados positivos para PAL y BGAL identifican a un estafilococo *xylosus*-estafilococo *intermedius*, mientras que las cepas que resultan negativas, para las tres pruebas, identifican a un estafilococo especie (sp). (10, 11 y 17).

5. - En forma paralela, se realizaron los cultivos convencionales de líquido peritoneal.

6. - A los cultivos positivos para estafilococo se les realizó reacción, para determinar presencia de β -lactamasa, a través de sensidiscos con tiempo de reacción de una hora.

En el análisis estadístico, la significancia de las variables nominales se calcularon con el método de *t student* no pareado. Para calcular la sensibilidad y la especificidad, se utilizaron tablas de 2 + 2.

3.- RESULTADOS

De los 21 pacientes estudiados durante el período junio/agosto 1999, las cepas aisladas con cultivo convencional correspondieron a 12 estafilococos *aureus*; 4 estafilococos *epidermidis*, 1 con *K. Pneumoniae*; 1 con estreptococo *fecalis*, 1 *Candida albicans* y 2 cultivos negativos (Fig. 1). Con el método de rapidez, se detectaron 14 estafilococos *aureus*, además se obtuvieron 2 falsos positivos, 1 para estafilococo *epidermidis* y otro para *K. Pneumoniae* y también se detectaron 3 cepas de estafilococo *epidermidis*.

Los cultivos negativos obtenidos por el método convencional, también lo fueron para el método de rapidez (Fig. 1). En cuanto a la especificidad y sensibilidad del cultivo convencional (estándar de oro), éstas fueron de 100%, mientras que mediante la prueba de rapidez, para el estafilococo *aureus*, la sensibilidad fue de 85%, la especificidad de 71%, teniendo un valor predictivo positivo de 85% y un valor predictivo negativo de 71% (Tabla 1). En lo referente al estafilococo *epidermidis*, con la prueba del RAPIDEC la especificidad fue de 93%, la sensibilidad de 80%, el valor predictivo positivo de 80% y el valor predictivo negativo de 93% (Tabla 2). En relación a la duración de las pruebas, ya que es muy importante ofrecer un diagnóstico temprano, en nuestros resultados obtuvimos una diferencia de 91.1 h entre el cultivo tradicional y RAPIDEC, teniendo el cultivo convencional una duración de 84 ± 12.54 h, mientras que por el método de RAPIDEC la duración fue de 2.36 ± 0.75 h, $p < 0.0001$ (Fig. 2 y Tabla 2).

En la determinación de las β -lactamasa, de las cepas aisladas de estafilococos, se encontraron 70.6% negativas y un 29.4% de cepas β -lactamasa positivas (Fig. 3). Con estos resultados, pudo administrarse a los pacientes un antibiótico más específico, impidiéndose así el uso de antibióticos. El costo del cultivo convencional fue de \$ 170.00 por paciente, mientras que la prueba de RAPIDEC demandó un costo de \$ 42.26, lo que disminuyó el costo/paciente/prueba.

PRUEBA DIAGNOSTICA	SENSIBILIDAD %	ESPECIFICIDAD %	VALOR PREDICTIVO POSITIVO(%)	VALOR PREDICTIVO NEGATIVO(%)	DURACION DE LA PRUEBA	COSTOS / PRUEBA(\$)
CULTIVO CONVENCIONAL	100%	100%	100%	100%	84 ± 12.54 h	\$ 170.00
RAPIDEC	71%	85%	85%	71%	2.36 ± 0.75 h	\$ 42.26

TABLA 1. RESULTADOS, COSTOS Y DURACIÓN DE LA PRUEBA CONVENCIONAL Y EL RAPIDEC, PARA CULTIVOS DE S. AUREUS EN PACIENTES CON PERITONITIS EN DIÁLISIS PERITONEAL.

PRUEBA DIAGNOSTICA	SENSIBILIDAD %	ESPECIFICIDAD %	VALOR PREDICTIVO POSITIVO (%)	VALOR PREDICTIVO NEGATIVO (%)	DURACION DE LA PRUEBA	COSTOS / PRUEBA (\$)
CULTIVO CONVENCIONAL	100%	100%	100%	100 %	84 ± 12.54 h	\$ 170.00
RAPIDEC	80 %	93 %	80 %	93 %	2.36 ± 0.75 h	\$ 42.26

TABLA 2. RESULTADOS, COSTOS Y DURACIÓN DE LA PRUEBA CONVENCIONAL Y EL RAPIDEC, PARA CULTIVOS DE S. EPIDERMIDIS EN PACIENTES CON PERITONITIS EN DIÁLISIS PERITONEAL.

IDENTIFICACIÓN DE DIFERENTES CEPAS ENTRE CULTIVO CONVENCIONAL Y DETECCIÓN RÁPIDA

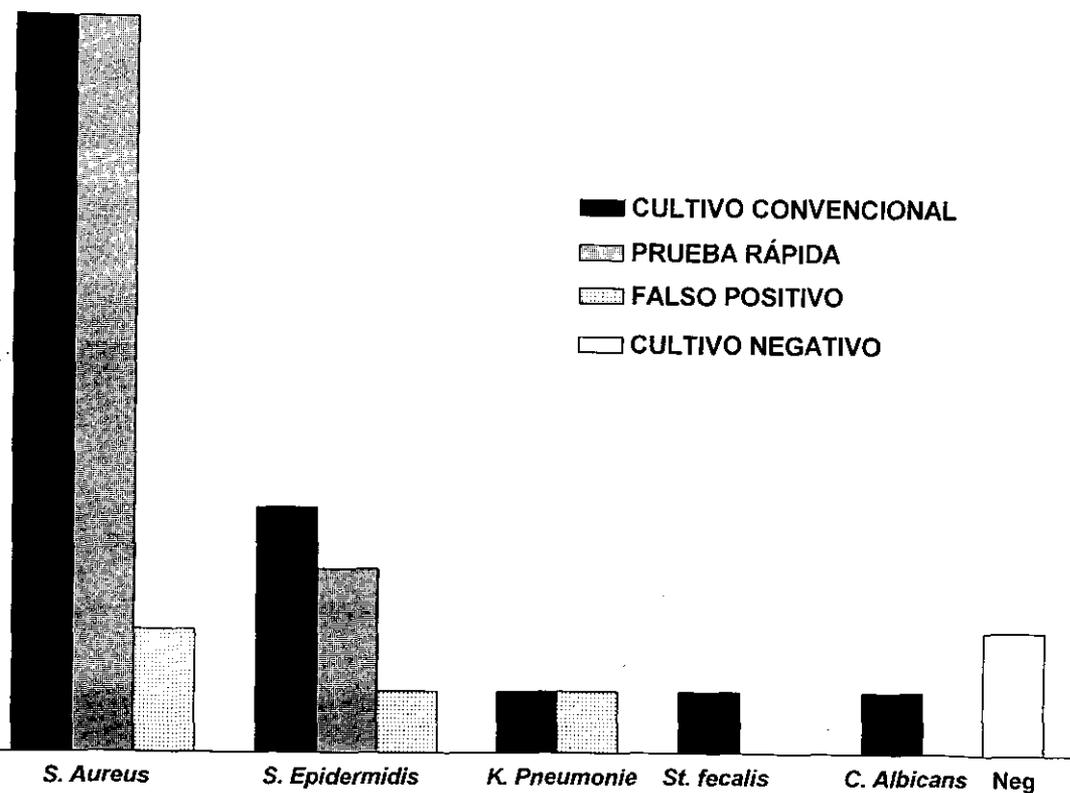


FIG 1

DIFERENCIAS ENTRE EL TIEMPO DE CULTIVO CONVENCIONAL Y LA IDENTIFICACIÓN RÁPIDA DE CEPAS de *Staphilococcus*

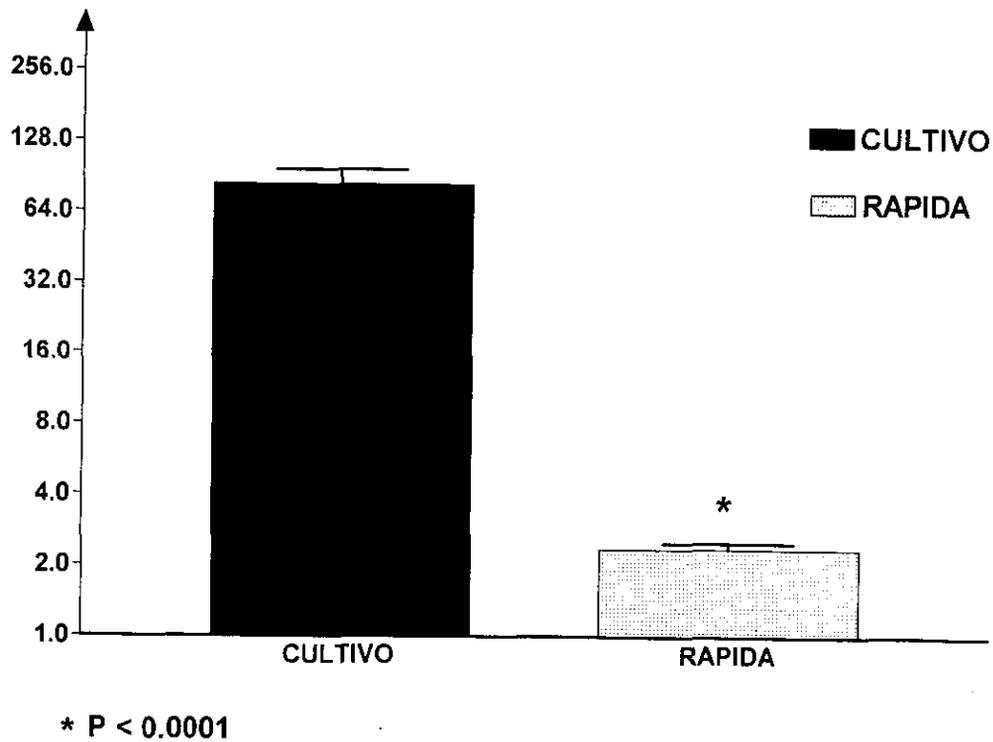


FIG. 2

Presencia de β -Lactamasa en cepas aisladas de *staphylococcus*

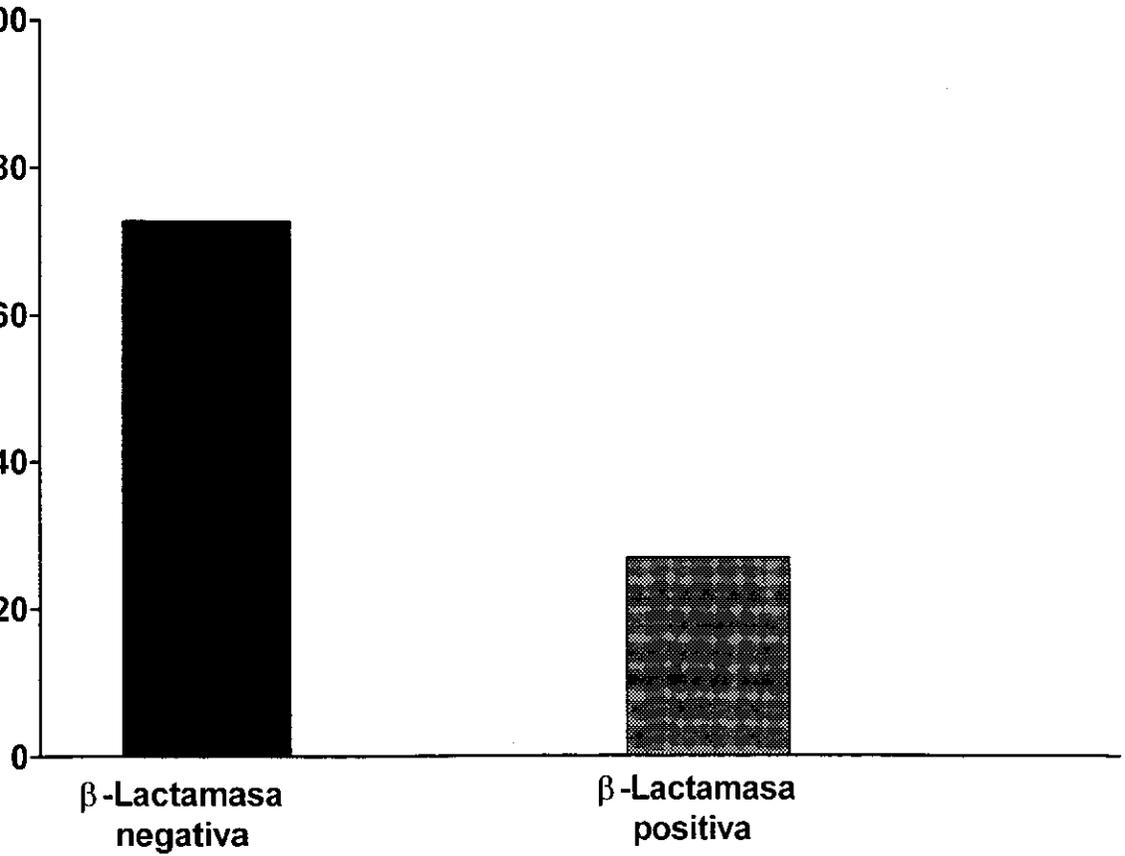


FIG 3

4.- DISCUSIÓN

Los datos obtenidos en este estudio mostraron que el uso de la prueba RAPIDEC, utilizando líquido peritoneal de pacientes en diálisis peritoneal, puede identificar cepas de estafilococo *aureus* y *epidermidis* en forma mucho más rápida que la prueba convencional, lo cual es clínicamente relevante, ya que el inicio del manejo antimicrobiano o el cambio del mismo, puede ser realizado en forma mucho más apropiada y oportuna. Esto permite un margen de seguridad para las decisiones clínicas, en los pacientes.

Existen estudios previos donde se ha podido demostrar la rapidez en la detección de cepas de estafilococos, en comparación con sistemas de cultivos sanguíneos con alta sensibilidad y especificidad (17), aunque no directamente con muestras de pacientes. A este respecto, nosotros hemos podido emplear el método RAPIDEC con muestras directas de pacientes con infección peritoneal y, aun cuando con este método la sensibilidad y especificidad para estafilococo *aureus* no es del todo alta para una prueba diagnóstica, ya que obtuvimos dos falsos positivos en comparación con el cultivo convencional, con esta prueba sí pudimos realizar un diagnóstico más certero y rápido, para indicar un tratamiento temprano y mejor dirigido.

Como es bien sabido, un retardo en el diagnóstico y, por consiguiente, en el tratamiento del germen causal de una peritonitis, lleva a un incremento en la estancia hospitalaria y eleva el riesgo de secuelas, como desnutrición y

fibrosis peritoneal, al tiempo que puede significar pérdida de la cavidad peritoneal, lo que implica el cambio de modalidad de diálisis, por una menos accesible y más costosa en nuestro medio, como es la hemodiálisis (5).

Por otra parte, la detección rápida de cepas β -lactamasa positivas permitió, en primer lugar, clasificar las cepas positivas y, con esto, dirigir el tratamiento antimicrobiano en forma más específica.

Aunque nuestro estudio no fue diseñado para ver complicaciones de las peritonitis de pacientes en diálisis peritoneal, nosotros sí podemos inferir que este método de diagnóstico rápido, de cepas de estafilococos, puede significar un efecto benéfico para evitar dichas complicaciones. Sin embargo, consideramos que para llegar a esta conclusión se requiere otro tipo de estudios clínicos.

Otro aspecto a resaltar, del RAPIDEC, es su capacidad para identificar, en forma exclusiva, estafilococos. Sin embargo, no detecta peritonitis micóticas, aunque existen en el mercado pruebas para su identificación rápida (RAPIDEC, *Albicans*) (18).

En relación al costo/beneficio de esta prueba, el método del RAPIDEC resultó ser cuatro veces más barato que el método de cultivo convencional, lo que se traduce, junto con la prontitud en el diagnóstico, en otra ventaja adicional del empleo de esta técnica.

Por lo anterior, y además de la técnica de Gram, nosotros podemos sugerir que la prueba de RAPIDEC es un método accesible, que incluso puede ser realizado en la cama del paciente, contando así con un diagnóstico rápido del germen causal de la peritonitis.

5.- CONCLUSIONES

La detección rápida del germen causal de la peritonitis, en pacientes sometidos a diálisis peritoneal, puede ofrecernos un diagnóstico temprano, que nos puede guiar hacia un tratamiento antimicrobiano más oportuno y mejor dirigido, para evitar complicaciones tempranas y tardías en la diálisis peritoneal.

Los métodos convencionales de detección del germen causal de la peritonitis, son tardados y costosos. Con la prueba de RAPIDEC, en cambio, contamos con una herramienta de detección del germen en forma mucho más rápida, capaz de incidir de manera significativa en la morbi-mortalidad de este padecimiento.

La prueba de RAPIDEC, además de ofrecer un margen de seguridad al paciente, es un método accesible para su uso hospitalario, mientras que el método de cultivo convencional exige la infraestructura propia de un laboratorio clínico.

6.- BIBLIOGRAFÍA

1. Bloembergen WE, Port FK, Mauger EA, Wolfe RA. A comparison of mortality between patients treated with hemodialysis and peritoneal dialysis. *J Am Soc Nephrol.*, 1995, Aug.; 6(2): 177-183.
2. Popovich RP, Moncrief JW, Nolph KD, Ghods AJ, Twardowski ZJ, Pyle WK. Continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Ann Intern Med.*, 1978, April 88 (4) :449-456.
3. Fenton SS, Schaubel DE, desmeules M, Morrison HI, Mao Y, Copleston P, Jeffery JR, Kjellstrand CM. Hemodialysis versus peritoneal dialysis : a comparison of adjusted mortality rate. *Am J Kidney Dis.*, 1997, Sep; 30(3): 334-342.
4. Jones MR. Etiology of severe malnutrition : results of a international cross-sectional study in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *Am J Kidney Dis.*, 1994, Mar; 23(3): 412-420.
5. J. Stewart Cameron. Host defences in continuous ambulatory peritoneal dialysis and the genesis of peritonitis. *Pediatr Nephrol.*, 1995; 9: 647-662.
6. Beth M. Piraino. Infections in Peritoneal dialysis. *Appleton-Century-Crofts*; 1995.

7. Su HL, Abascal MA, mendez BFJ, paniagua R, Amato D. Epidemiologic and demographic aspects of peritoneal dialysis in México. *Perit Dial Int.*, 1996; 14: 362-365.
8. Doern G. and I. Robbie. Direct identification in blood culture fluid with a commercial latex agglutination test. *J. Clin Microbiol.* 1982; 16: 1048-1051.
9. Francis Martineau, François J. Picard. Species-Specific and Ubiquitous DNA-Based assays for rapid identification of *Staphylococcus epidermidis*. *J. Clin microbiol.* Dec. 1996; 34(12): 2888-93.
10. van Griethuysen, et al. Multicenter evaluation of a modified protocol for the RAPIDEC staph system for direct identification of *Staphylococcus aureus* in blood cultures. *J Clin Microbiol*, 1998 Dec; 36(12):3707-9.
11. Speerss DJ, et al. Evaluation of four methods for rapid identification of *Staphylococcus aureus* from blood cultures. *J Clin Microbiol.* 1998 Apr; 36(4):1032-4. PMID: 9542931; UI: 98201930.
12. Sabath, L. D. F.F barret, C. Wilcox, D.A. gerstein, and M. Finland. Methicillin resistance of *staphylococcus aureus* and *staphylococcus epidermidis*. *Antimicrobial agents and chemother*, 1968. Edit. Hobby. Pp . 302- 306.

13. Doran JE, Raynor RH. Fibronectin binding to protein A-containing staphylococci. *Infect Immun*. 1981; 33: 683-87.
14. Christensen GD, Bisno AL, Parisi JT. Nosocomial septicemia due to multiply antibiotic-resistant *Staphylococcus epidermidis*. *Ann Intern Med*. 1982;96:12-18.
15. Chambers HF. Meticillin-resistant staphylococci. *Clin Microbiol Rev.*, 1988; 1:173
16. Rupp ME, Archer GL: Coagulase-negative staphylococci: Pathogens of medical progress. *Clin Infect Dis*. 1994; 9: 231.
17. Janda, W. M. K. Ristow, and D. Novak. Evaluation of RapiDEC Staph for identification of *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus saprophyticus*. *J. Clin. Microbiol*. 1994; 32: 2056-2059.
18. Fricker H, et al. Rapid identification of *Candida albicans*: evaluation of "Rapidec albicans" Study of 444 yeast strains. *Ann Biol Clin (Paris)*. 1992;50(2):103-6. French. PMID: 1789900; UI: 92162147.