

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

**“Comparación de dos métodos para el diagnóstico de
infección Peritoneal en pacientes con DPCA del HR No. 25 del
IMSS”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A:

MARÍA INÉS GONZÁLEZ CHÁVEZ

Director de Tesis: M en C. Carmen Melchor Díaz

Asesor: QFB. Manuel Orduña Sánchez

MEXICO, D.F.

Mayo 2006



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.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

Carrera: Química Farmacéutico Biológica

**“Comparación de dos métodos para el diagnóstico de
infección Peritoneal en pacientes con DPCA del HR
No. 25 del IMSS”**

Alumno: María Inés González Chávez

No. De Cuenta: 99574592

Año de Término de carrera: 2003

Orientación: Bioquímica Clínico

Director: M en C. Carmen Melchor Díaz

Asesor: QFB. Manuel Orduña Sánchez

Opción de Titulación: Tesis Experimental

Laboratorio de Microbiología del H.R. No. 25 IMSS

A mis papás:

Juan González Aguilar y Reyna Chávez Castro; a quien dedico esta Tesis por ser mi apoyo constante y ejemplo de responsabilidad durante toda mi vida y en esta etapa tan importante. Por ellos estoy culminando y se que será el inicio de mi vida profesional y ellos estarán ahí siempre conmigo. Muchas gracias por todo.

AGRADECIMIENTOS.

M en C. Carmen Melchor Díaz y QFB. Isaías Sánchez González por el apoyo incondicional que siempre me han brindado y por ser parte esencial en la realización de este trabajo.

QFB. Manuel Orduña Sánchez, por su asesoría y apoyo.

A todo el personal del HR. No. 25 del IMSS que participó en la realización de este trabajo: Dra. Raquel Gómez, Dr. Méndez, Dra. Villanueva, Dra. Lozano, Enfermeras del área de DPCA, M en C. Consuelo Guzmán Álvarez, QFB. Sofía Melgarejo, Bety, Paty, la señora Tere y a todos los que de alguna manera me brindaron su apoyo durante mi estancia.

Al apoyo recibido por la empresa **Biomeriux de México S.A** por proporcionar el equipo Vitek , medios de cultivo y tarjetas de identificación y sensibilidad, así como la capacitación para el uso del equipo.

DEDICATORIAS.

A mis hermanos; Abigail, Ricardo, Cecilia, Santos que al igual que mis papás me han apoyado en todo momento y durante la carrera y han sido los mejores hermanos que Dios pudo darme.

A mis mejores amigas: Michel Ek. González Franco y Leticia Romero Ponce por todos los momentos que hemos compartido.

A mis amigos: Enrique, Laura, Carmelo, Marcos, Saúl, Adrián, Lupe, Clara, Marisol, Nubel, Ángel, Roger, Lorena, Jesús Tiscareño , Rodrigo López, Nadia Arce y todos los que conocí durante la carrera.

A mi madrina Candelaria Vidal por su amor y su apoyo de siempre.

A mis maestros por sus conocimientos, pero en especial a mi maestra que también es mi amiga: Silvia Moreno Bravo.

A Edu : por ser el Amor de mi vida.

Si se puede soñar, se puede lograr...

INDICE.

1. INTRODUCCION	4
2. FUNDAMENTACION DEL TEMA	6
2.1 Estructura Renal.	6
2.2 Función renal.	8
2.3 Insuficiencia Renal Crónica (IRC).	9
2.4 Peritoneo.	10
2.4.1 Anatomía y fisiología.	10
2.4.2 Movimientos de materiales a través de las membranas plasmáticas.	11
2.5 Diálisis.	12
2.5.1 Diálisis peritoneal.	12
2.5.1.1 Diálisis Peritoneal Continua Ambulatoria (DPCA).	12
2.5.1.2 Complicaciones de DPCA.	13
2.6 Criterios de diagnóstico de peritonitis.	14
2.7 Bacteriología de la peritonitis.	15
2.8 Mecanismos de defensa de la cavidad peritoneal en pacientes en DPCA.	17
2.8.1 Características fisiológicas de los polimorfonucleares en la cavidad peritoneal en pacientes en DPCA	18
2.8.2 Fagocitosis de los microorganismos	19
2.8.3 Destrucción de los microorganismos fagocitados	20
2.9 Diagnóstico microbiológico del líquido de diálisis peritoneal.	21
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	23
4. OBJETIVOS	24
5. HIPOTESIS	25
6. DIAGRAMA DE FLUJO	26
7. MATERIAL Y METODO	27
8. RESULTADOS	34
9. ANALISIS DE RESULTADOS	44
10. CONCLUSIONES	47
11. PROPUESTAS	48
12. ANEXOS	49
13.GLOSARIO DE ABREVIATURAS	52
14. BIBLIOGRAFIA	53

1. INTRODUCCION

Entre las enfermedades crónico-degenerativas, en los últimos 10 años la Insuficiencia Renal Crónica IRC, se ha caracterizado por adquirir mayor importancia médica y económica. En nuestro país se calcula que de 50 a 60 habitantes por millón llegan a esta fase de Insuficiencia Renal por año⁵, existen tres procedimientos como terapia sustitutiva renal: a) Diálisis Peritoneal, b) Hemodiálisis y c) Trasplante, de las tres; la diálisis peritoneal es la más ampliamente utilizada, principalmente en pacientes con Diabetes mellitus porque la Insuficiencia Renal crónica es una complicación importante de esta enfermedad. A finales de 1993 se estimaba 535,100 pacientes en diálisis en todo el mundo⁵, en 1992 en Estados Unidos se utilizaba en un 17%. Actualmente en ese país se atienden aproximadamente 225,053 pacientes con diálisis peritoneal, de los cuales el 5.2% son pacientes con diálisis peritoneal continua ambulatoria (DPCA)¹. En México la inmensa mayoría utiliza DPCA (64%)⁵ y el IMSS designa un tercio de su presupuesto general al manejo del paciente con IRC en el tratamiento sustitutivo, lo que indica el alto porcentaje de este tipo de pacientes.

El principal problema de morbi-mortalidad en el paciente que se encuentra bajo tratamiento de diálisis peritoneal es, relacionado a la presentación de peritonitis², la cual se presenta por las condiciones a que es sometido el peritoneo y cuando no se tienen los cuidados higiénicos adecuados en el manejo de este tipo de pacientes. El diagnóstico por el laboratorio en pacientes con DPCA es difícil, ya sea por la ausencia o presencia de un bajo número de microorganismos viables.

El diagnóstico oportuno de peritonitis en los pacientes con IRC en programas de diálisis peritoneal, permite un inicio rápido de la terapia antimicrobiana específica, reduce complicaciones médicas así como la estancia intrahospitalaria; consecuentemente gastos médicos.

Por otra parte, en el Hospital Regional No. 25 (HR) se tiene una población de 577 pacientes con IRC, de los cuales 348 se encuentran en el programa DPCA. Los episodios de peritonitis presentados el año 2004 fueron de 391 y 189 en el primer semestre del 2005. (datos obtenidos del Servicio de Nefrología).

En la bibliografía se reportan cultivos negativos de líquidos de diálisis entre un 15 a un 40%. En el Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional “LA RAZA” se encontró que fue de 65% (Datos extraídos del trabajo realizado como parte del Diplomado de Investigación en sistemas de salud, IMSS, 2001) y en el HR No. 25, en el 2004 y primer semestre de 2005 fueron de un 73% y un 78% respectivamente. (Datos obtenidos de la sección de Microbiología del Servicio del Laboratorio).

Por lo anterior, el presente trabajo comparó 102 muestras de líquido dializado con la técnica tradicional del cultivo bacteriológico del líquido de diálisis con una técnica alternativa, la técnica de “lisado celular”. Ésta última incrementa la positividad de los cultivos, ayudando con esto al diagnóstico y tratamiento, repercutiendo directamente en los para los pacientes y por lo tanto al Instituto.

2. FUNDAMENTACIÓN DEL TEMA

Estructura y Función Renal

2.1 Estructura Renal. Los riñones son órganos retroperitoneales situados en la parte posterior del abdomen uno a cada lado de la columna vertebral; se encuentran entre la última vértebra torácica y la tercera lumbar y están protegidos en forma parcial por el undécimo y el duodécimo pares de las costillas. Ver Fig. 1

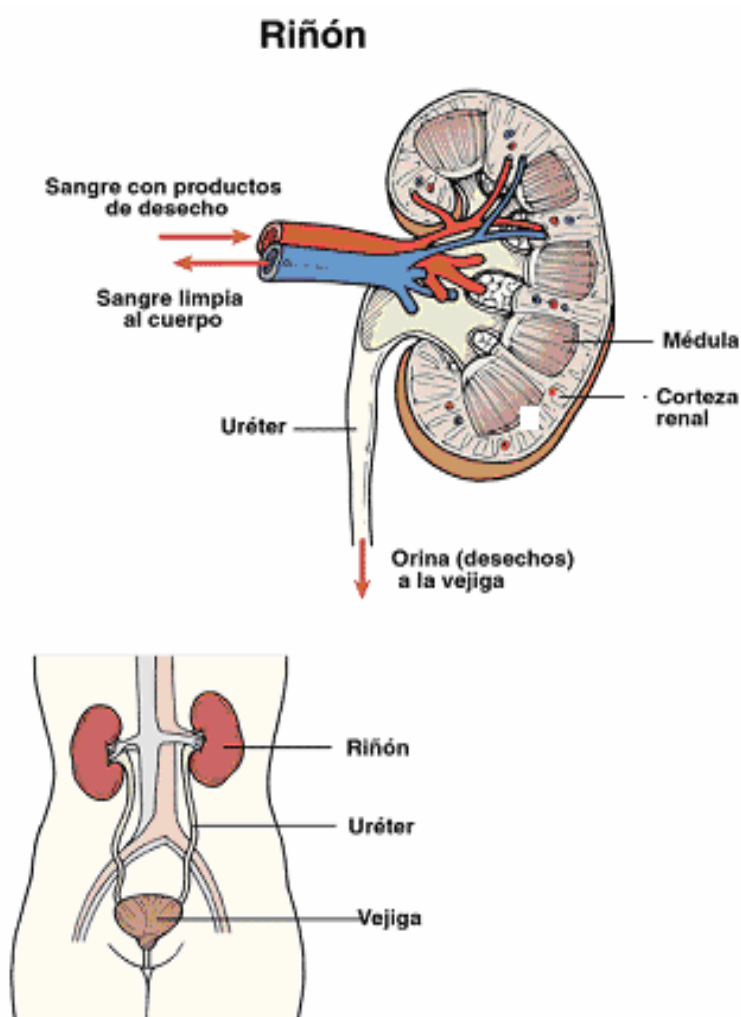


Fig. 1. Ubicación Anatómica del Riñón.

El riñón es un órgano anatómicamente complejo que se compone de diferentes tipos de células altamente especializadas agrupadas en un patrón tridimensional altamente organizado. La unidad funcional del riñón se llama nefrona. Existen aproximadamente un millón de nefronas en un riñón humano, cada nefrona se compone de un glomérulo y de un túbulo largo formado por una sola capa de células epiteliales. La nefrona se divide en varias partes: túbulo proximal, asa de Henle, túbulo distal, túbulo colector, cada una de ellas con un aspecto celular típico y características funcionales específicas. Ver Fig. 2

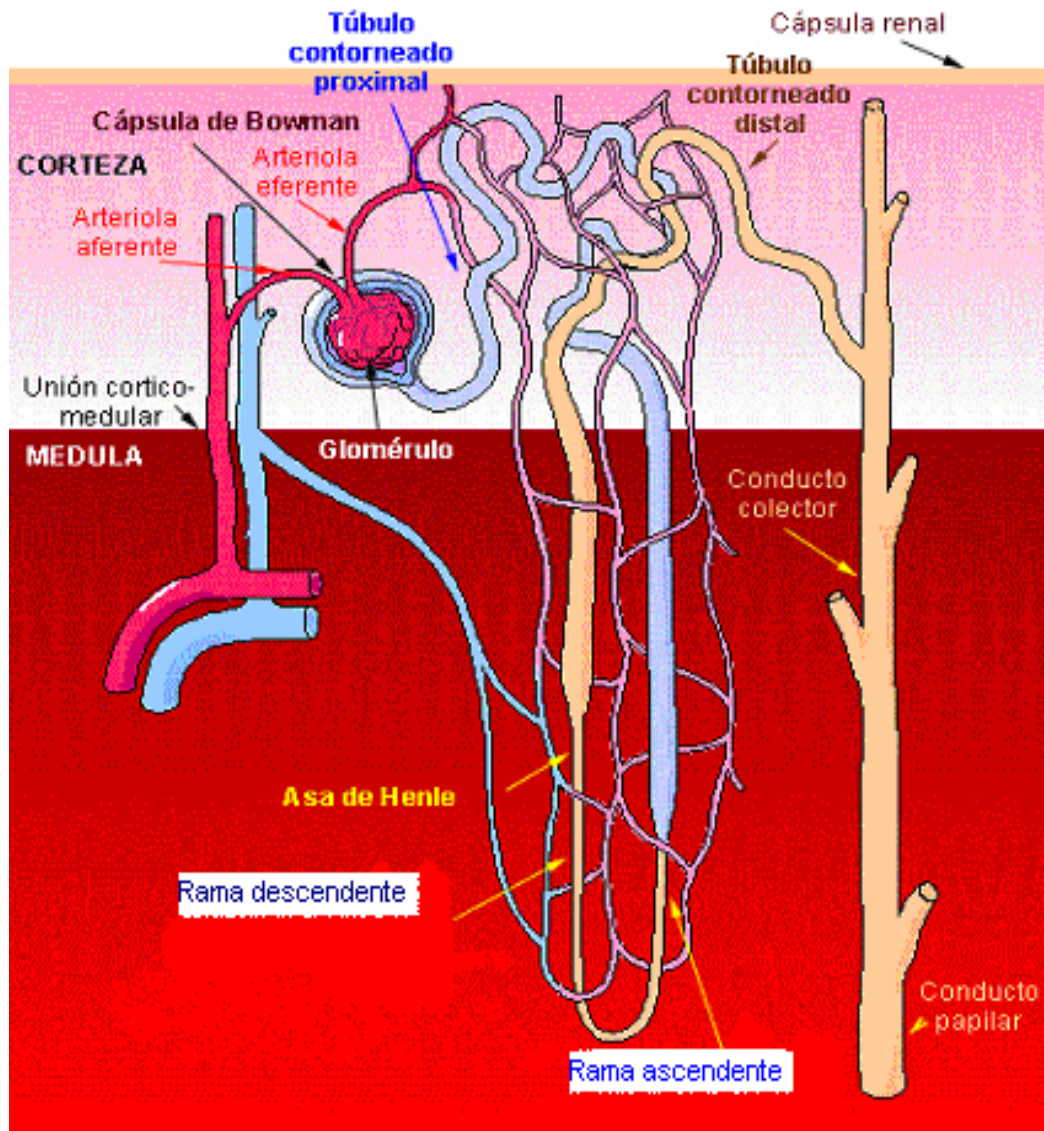


Fig. 2. Esquema de la nefrona

Las nefronas se agrupan estrechamente entre si para construir el parénquima renal, que puede dividirse en varias regiones. La capa externa del riñón se llama corteza, contiene todos los glomérulos, gran parte del túbulo proximal y también algo de las partes más distales. La porción interna, llamada médula, se compone en gran medida de las asas de Henle y de los conductos colectores dispuestos de forma paralela. La médula se distribuye en regiones en la forma de cono, llamadas pirámides. Los extremos de las pirámides medulares se llaman papilas. La médula es importante para la concentración de la orina.

El proceso de formación de orina comienza en la red capilar glomerular, donde se forma un ultrafiltrado del plasma. El líquido filtrado se recoge en la cápsula de Bowman y penetra en el túbulo renal para seguir un trayecto tortuoso y ser modificado sucesivamente por exposición a una secuencia de segmentos epiteliales especializados con distintas funciones de transporte. El túbulo contorneado proximal que se sitúa enteramente en la corteza renal, absorbe aproximadamente dos tercios del filtrado glomerular. El líquido restante entra en el asa de Henle, que desciende hacia la médula en forma de horquilla. Al volver a la corteza el líquido tubular pasa cerca de su glomérulo originario en el aparato yuxtglomerular para entrar después al túbulo contorneado distal y finalmente en el túbulo colector que vuelve a cruzar la médula para vaciarse en la pelvis renal en el extremo de la papila renal. A lo largo del túbulo se absorbe la mayor parte del filtrado glomerular, pero se segregan algunas sustancias adicionales. El producto final, la orina penetra en la pelvis renal y posteriormente en el uréter. Se acumula en la vejiga y se excreta finalmente del organismo.^{3,4}

2.2 Función Renal.

La función renal es el resultado de la acción coordinada de las diferentes estirpes celulares que constituyen la nefrona. Se distinguen alrededor de 17 estirpes celulares y cada una con características funcionales diferentes.

Las funciones principales del riñón pueden clasificarse como sigue:

a) de transporte: El

- Mantenimiento de líquido dentro del organismo como su osmolaridad, contenido y concentración de electrolitos, y acidez son regulados por el riñón mediante la variación de la excreción urinaria de agua e iones. Entre

los electrolitos regulados por cambios en la excreción urinaria se incluyen Na^+ , K^+ , Cl^- , Ca^{++} , Mg^{++} y PO_4^{-2}

- La excreción de productos finales del metabolismo y de sustancias extrañas. El riñón excreta cierto número de productos del metabolismo, principalmente urea toxinas y drogas.

b) Como glándula endócrina que produce:

- Renina, es una enzima producida por las células granulosas del aparato yuxtglomerular, cataliza la formación de angiotensina que es un potente vasoconstrictor.
- Eritropoyetina, hormona de naturaleza peptídica producida por las células intersticiales de la corteza renal, estimula la maduración de lo eritrocitos en la médula ósea.
- La $1,\alpha,25$ -dihidroxitamina D_3 forma activa hormonal de la vitamina D, se produce en las células del túbulo proximal, juega un papel importante en la regulación del equilibrio del calcio y fosfato en el organismo. ⁴

2.3 Insuficiencia Renal Crónica (IRC) .

La insuficiencia Renal Crónica , ahora llamada Enfermedad Renal Crónica (ERC) por The nacional Kindey Foundation (K-DOQI, 2003), es uno de los síndromes más importantes en el campo de la nefrología. Y cursa con alteraciones estructurales o funcionales en tres o más meses, manifestadas por lesión renal histológica o marcadores de lesión renal. Se caracteriza por la pérdida progresiva de las nefronas, la adaptación funcional de la nefronas remanentes y por su repercusión sobre la mayoría de los aparatos y sistemas del cuerpo. Es importante precisar que las modificaciones renales se inician a partir de la destrucción de las primeras nefronas, hasta la aparición del síndrome urémico con toda su implicación clínica y bioquímica .⁵

Las causas capaces de producir este síndrome son múltiples y variadas. En algunas enfermedades sistémicas como la diabetes mellitus, la lesión renal terminal es multifactorial y resulta de la suma de lesiones degenerativas, vasculares e infecciosas. El riñón es atacado de diversas maneras, pero finalmente todas las causas de lesión desembocan en lo mismo, la destrucción progresiva de la unidades funcionales del riñón.

Causas que pueden producir Enfermedad Renal Crónica:

1. Glomerulonefritis
2. Enfermedades Sistémicas en Glomerulonefritis
3. Nefritis de túbulo intersticial
4. Enfermedad Renal Vasculare
5. Causas metabólicas (diabetes mellitus, gota, etc)
6. Nefrotóxicos (analgésicos, metales pesados, aminoglucósidos)
7. Uropatías obstructivas
8. Tuberculosis renal
9. Sarcoidosis
10. Disproteinemias (mieloma, amiloidosis)
11. Congénita y hereditaria (riñones displásicos, cistinosis)
12. Misceláneas (hemoglobinopatías por células falciformes, radiación).

2.4 Peritoneo.

El peritoneo es la membrana serosa más extensa del organismo, de 1m² aproximadamente, un 40-50% de la superficie corporal, reviste la cavidad abdominal y cubre los órganos abdominales y algunos órganos pélvicos.

2.4.1 Anatomía y Fisiología

La combinación de una capa epitelial y un tejido conectivo subyacente constituye la membrana epitelial. Las principales membranas epiteliales del cuerpo son las membranas mucosas, las membranas serosas, membranas cutáneas y membranas sinoviales. La membrana serosa reviste una cavidad corporal que no se abre de manera directa al exterior y cubre los órganos que se encuentran en esa cavidad. Las membranas serosas consisten de capas delgadas de tejido conectivo laxo, cubiertas por una gran capa de mesotelio y están compuestas por dos porciones; porción parietal y porción visceral. La capa epitelial de una membrana serosa secreta un líquido lubricante

denominado líquido seroso, que permite que los órganos se deslicen fácilmente uno contra el otro, o bien las paredes de las cavidades ³

El peritoneo está constituido por una monocapa de células mesoteliales con aspecto de mosaico poligonal en el que afloran microvellosidades. Con el microscopio electrónico pueden distinguirse numerosas vesículas, probablemente, invaginaciones de la membrana celular, y los cuerpos esféricos rellenos de fosfolípidos destinados a lubricar la superficie.

El intersticio situado debajo constituye una zona laxa entre los capilares y la membrana basal, compuesta por redes de colágeno, ácido hialurónico y proteoglicanos, formando una fase gel en equilibrio con la fase acuosa, por en medio de la cual pasa agua y solutos; esto es lo que permite que la membrana sea altamente selectiva.

El peritoneo visceral está irrigado por la arteria mesentérica superior y el peritoneo parietal por las arterias intercostales, epigástricas y lumbares. El retorno venoso visceral se realiza por la vena porta y el parietal va a la vena cava inferior. Solo una parte de los capilares peritoneales son permeables a la circulación y son los que determinan la superficie peritoneal efectiva. ⁴⁵

2.4.2 Movimientos de materiales a través de las membranas plasmáticas.

El mecanismo por el cual las sustancias se mueven a través de la membrana plasmática o a la membrana intracelular, son esenciales para la vida de la célula. Ciertas sustancias, por ejemplo se pueden mover en la célula para apoyar la vida, mientras que los materiales de desecho o sustancias inútiles se pueden eliminar al exterior. La membrana plasmática media los movimientos de dichos materiales. Los procesos involucrados en este movimiento pueden ser clasificados como pasivos o activos, en los procesos pasivos (físicos) las sustancias se desplazan a través de las membranas plasmáticas sin un gasto de energía (de la ruptura de ATP) por las células, su movimiento depende de la energía cinética de las moléculas individuales. Las sustancias se mueven en su propia dirección a favor de un gradiente de concentración, esto es, de un lugar donde su concentración es mayor a un área donde su concentración es menor. ³

2.5 Diálisis.

La diálisis es un proceso pasivo y es la separación de pequeñas moléculas de grandes moléculas por medio de la difusión a través de una membrana selectivamente permeable. El principio de la diálisis se emplea en las máquinas de riñón artificial. La sangre del paciente se expone a una membrana de diálisis (externa, mediante una máquina o por la cavidad peritoneal del propio paciente). La membrana de diálisis toma la función de los riñones. Cuando los componentes de la sangre se mueven a través de la membrana, las partículas pequeñas de desecho pasan desde la sangre a la solución que rodea a la membrana de diálisis. Al mismo tiempo, ciertos nutrientes pueden pasar desde la solución hasta la sangre. ³

2.5.1 Diálisis Peritoneal.

En la actualidad, la diálisis peritoneal (DP) es una modalidad de terapia substitutiva de la función renal ampliamente utilizada. ⁵

Existen tres tipos de diálisis peritoneal:

- *Diálisis Peritoneal Continua Ambulatoria (DPCA)*: Es la forma más común y puede realizarse en cualquier sitio limpio y bien iluminado. Con este procedimiento la sangre está siendo purificada todo el tiempo.
- *Diálisis Peritoneal Cíclica Continua (DPCC)*: Similar a la DPCA, excepto que se conecta al catéter una máquina que llena y drena el dializado del abdomen.
- *Diálisis Peritoneal Intermitente (DPI)*: Emplea un funcionamiento similar a la DPCC pero por lo general se realiza en el hospital.

2.5.1.1 Diálisis Peritoneal Continua Ambulatoria (DPCA)

La DPCA implica un “sistema cerrado” en el que el líquido primero se instila y luego se drena después de varias horas de haber permanecido en la cavidad peritoneal. El sistema básico de la DPCA incluye un catéter blando, una línea de transferencia y una bolsa plástica que en nuestro medio contiene 1 ó 2 litros de solución. Generalmente 4 veces al día se abre el sistema a nivel de la unión de la bolsa y la línea de transferencia, procedimiento que debe hacerse con técnica estéril estricta por el mismo

paciente o su familiar. El tratamiento estándar en DPCA consiste en 4 intercambios de lavado/día, que se infunden y se drenan por gravedad.⁵

Los 3 intercambios diurnos permanecen en la cavidad peritoneal durante 4-6 horas, y 1 nocturno que dura de 8 a 12 horas. Al final del tiempo de permanencia deseado, esta Solución Dialisante (SD) se drena a la bolsa previamente vacía. Posteriormente se infunde una nueva SD (fresca), iniciándose un nuevo ciclo. La tonicidad del dialisante se ajusta para lograr una ultrafiltración (paso del líquido desde los capilares a la cavidad peritoneal) de 1-2 L diarios. Esta técnica es continua porque la cavidad peritoneal siempre está en contacto con el dialisante (24 horas al día, los 7 días de la semana) y es ambulatoria puesto que fue diseñada para que el paciente o su familiar realicen todos los intercambios de la diálisis en su domicilio, favoreciendo la integración del paciente a la vida familiar o laboral.⁵

2.5.1.2 Complicaciones de DPCA

Existen algunas complicaciones en la utilización del DPCA entre ellas se encuentra la anemia, osteodistrofia renal, ahora llamada enfermedad renal ósea, enfermedad ósea por aluminio. El metabolismo de Carbohidratos, lípidos, proteínas y aminoácidos se ve afectado por el aumento o disminución de estos nutrientes, complicaciones cardiovasculares y control de la presión arterial, neuropatía y peritonitis^{5,9}

Cuando la membrana peritoneal se somete a diálisis continua, puede presentar cambios reactivos en respuesta a un ambiente diferente al natural, los cuales afectan a todas sus líneas celulares (mesotelio, fibroblastos, leucocitos, endotelio), a las membranas basales de los vasos sanguíneos y al tejido intersticial. El espectro de lesiones secundarias a este procedimiento es amplio, y puede llegar hasta el hallazgo histopatológico típico de la diálisis peritoneal llamado desierto acelular (que consiste básicamente en una escasa población mesotelial y gran depósito de fibras colágenas en el intersticio), cuya aparición es más frecuente en relación a peritonitis.

La primera acción de la solución de diálisis al entrar en la cavidad abdominal, es diluir no solo las cuentas de leucocitos, sino también todos los demás mecanismos de

defensa del huésped, pero una acción más importante aún es que compromete notablemente la viabilidad y la función de todas las células peritoneales.⁵

Peritonitis.

Normalmente la cavidad peritoneal es lisa y brillante con 100 mm³ de líquido lubricante que se encuentra en ella. El estímulo mecánico, químico o bacteriano genera una reacción inflamatoria que transforma el peritoneo en una superficie granulosa y opaca. Posteriormente empieza a exudar líquido, el cual se enturbia con la aparición de leucocitos y fibrina, elementos que más tarde formarán pus.

Cuando los procesos antes descritos no se tratan a tiempo se vuelve difícil localizarlos, la infección entonces invade el resto de la cavidad y compromete todo el peritoneo dando origen así a la Peritonitis Generalizada o Difusa. Con ella se producen cambios en el medio interno consistentes en hipovolemia, desbalance hidroelectrolítico y choque séptico que pueden llevar a la muerte.

Como ya se dijo, la principal complicación de la diálisis peritoneal es la peritonitis, cuyo diagnóstico se puede sospechar precozmente por la aparición de líquido turbio al final de un ciclo. Usando técnicas de cultivo apropiadas, se puede aislar e identificar el agente etiológico en el líquido de diálisis peritoneal, en más del 90% de los casos que presentan signos y síntomas de peritonitis y un elevado recuento de neutrófilos en el líquido peritoneal. El agente patógeno responsable es casi siempre una bacteria, generalmente gram positiva (*Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sp*, etc.). La peritonitis fúngica (por ejemplo *Candida*) es infrecuente pero no rara⁵.

2.6 Criterios de diagnóstico de peritonitis:

- Síntomas y signos de inflamación peritoneal, el más frecuente es el dolor abdominal. Otros son: malestar general, náuseas, vómitos, diarrea, escalofríos, leucocitosis, aumento de la temperatura corporal.
- Líquido peritoneal turbio con un recuento celular elevado (> 100 células/mm³), debido predominantemente a neutrófilos (>50%).
- Se observa la presencia de bacterias en el líquido peritoneal por medio de la tinción de Gram o el cultivo.

Entre los síntomas más frecuentes de peritonitis se encuentran el dolor abdominal (79%), náusea (31%) y diarrea (7%). Mientras que los signos más frecuentes presentes son la turbidez del dializado (97-100%), dolor a la palpación abdominal (70%), signo de rebote abdominal positivo (50%) y fiebre (53%). En los líquidos de diálisis de pacientes sin peritonitis generalmente hay menos de 50 células/mm³, mientras que en los casos de peritonitis las células exceden las 100 células /mm³ y la cuenta diferencial muestra que más del 50% de ellas son neutrófilos.^{4,2}

Tras la toma de muestra para recuento celular y cultivo se debe administrar inmediatamente tratamiento antibiótico en el mismo líquido de diálisis. Los pacientes con dolor abdominal, líquido turbio y fiebre requieren de una rápida iniciación antimicrobiana de tipo empírico como: cefalotina, cefalizina, ceftazidimina, (La gentamicina y amikacina, no se recomiendan). No se debe alterar la terapia empírica basada en la severidad de los síntomas y la cuenta de células, debido a que la terapia es de tipo emergente y además no se conoce todavía el microorganismo

2.7 Bacteriología de la peritonitis

La vía de entrada por la que un microorganismo patógeno alcanza la cavidad abdominal puede ser exógena o endógena. La vía exógena (la más frecuente), es originada por la instalación misma del catéter, ya que constituye una comunicación directa entre la cavidad abdominal y el exterior. Un microorganismo del exterior puede alcanzar el interior de la cavidad abdominal por vía intraluminal del catéter o por vía pericatóter. La introducción de un microorganismo desde el exterior dependerá de las condiciones asépticas empleadas durante los recambios peritoneales. Es difícil que un paciente bien adiestrado no cometa un error de 1000 recambios de solución de diálisis al año.

Los microorganismos también pueden alcanzar el interior de la cavidad abdominal utilizando la superficie exterior del catéter. El cojinete externo se coloca a unos 2 cm. del orificio de salida de catéter, y es la fibrosis que se produce alrededor de dicho cojinete, del catéter mismo, y del cojinete interno (colocado en la pared

abdominal), la que constituye la barrera definitiva al paso de microorganismos del exterior hacia la cavidad.⁴

La principal fuente de infección parece provenir de la contaminación durante la realización de los intercambios de las bolsas de diálisis y constituye así mismo el aspecto más susceptible de modificación para disminuir el riesgo de peritonitis, por ende la mayoría de esfuerzos han sido encaminados a desarrollar avances técnicos que logren disminuir la tasa de peritonitis y mayor sobrevida de la técnica de diálisis.⁴

Los microorganismos causales más frecuentes son las bacterias. Los gram positivos causan hasta el 75% de todos los episodios de peritonitis y de estos, los más predominantes son los estafilococos coagulasa negativa. Las infecciones por *S.epidermidis* (*Estafilococo coagulasa negativo*, más frecuente) generalmente son leves y curan rápido con la terapia antimicrobiana adecuada. Las infecciones por *S. aureus* se asocian con cuadros más graves, mayor riesgo de formación de abscesos y riesgo significativo de mortalidad. De los gérmenes gram negativos, las infecciones por *Pseudomonas* son particularmente graves con mayor riesgo de formación de abscesos y pérdida del peritoneo si no se tratan adecuadamente generalmente se asocian a infecciones del sitio de salida o del túnel. Los gérmenes anaerobios y los cultivos con gérmenes múltiples (generalmente gram negativos) orientan hacia una posible perforación intestinal (frecuentemente por rotura de divertículos), no se ha demostrado que los virus o parásitos produzcan peritonitis.

Un pequeño número de episodios de peritonitis entre el 4 y el 7% son causados por hongos, la mayoría por el género *Candida*. Infecciones por *M. tuberculosis* son muy raras, pero deben ser consideradas en los grupos de alto riesgo. La peritonitis eosinófilica generalmente se observa poco después de instalado el catéter. Generalmente no se aísla ningún germen, los pacientes tienen síntomas y existe turbidez del dializado. Esta condición revierte en pocos días, sin complicaciones y puede haber o no tratamiento. Se asume que se debe al estímulo químico generado por la presencia de catéter o del equipo de diálisis peritoneal.⁴

2.8 Mecanismos de defensa en la cavidad peritoneal en pacientes en DPCA

La respuesta inicial del peritoneo a un estímulo inflamatorio consiste en la aparición de una hiperemia, un edema y una congestión vascular. A continuación se produce una trasudación del líquido desde los espacios vascular e intersticial. La respuesta puede ser estimulada mediante la liberación de histamina, llevada a cabo por los mastocitos peritoneales, cuando la membrana serosa resulta lesionada. El trasudado es un líquido rico en proteínas que contiene fibrinógeno o fibrina. El peritoneo normal posee una actividad fibrinolítica asociada a un activador de plasminógeno existente en las células mesoteliales. Sin embargo, la lesión del peritoneo provoca una inhibición inicial de la actividad fibrinolítica, la cual permite la aparición precoz de adherencias fibrinosas, que encapsulan y rodean la zona de la lesión inflamada.⁵

Indiscutiblemente las defensas locales del huésped intervienen en el balance entre la entrada de microorganismos a la cavidad abdominal y el desarrollo de peritonitis. Como se ha dicho al entrar la solución dialisante en la cavidad abdominal su primera acción es diluir las cuentas de leucocitos y todos los demás aspectos relacionados con los mecanismos de defensa del huésped, pero además compromete notablemente la viabilidad y la función de todas las células peritoneales. Los macrófagos y los polimorfonucleares son alterados, tanto en su estructura como en sus funciones fagocítica, quimiotáctica y bactericida. Así mismo el dializado peritoneal afecta la generación de mediadores inflamatorios.

El líquido de diálisis fresco también interfiere en los mecanismos de defensa humorales. La opsonización mediada por el complemento para *E. coli* y *S. epidermidis* está alterada, lo cual se relaciona con la incidencia de peritonitis. Así mismo hay niveles bajos de C₃ e IgG lo que refleja la baja capacidad opsonizante de la solución de diálisis, que junto con las inadecuadas cuentas de macrófagos obtenidas en estos líquidos pueden predisponer a peritonitis. Por lo tanto el riesgo de desarrollar peritonitis depende de la relación existente entre la colonización del sistema de DPCA, la cantidad de microorganismos que llegan a la cavidad abdominal por cualquier vía y los mecanismos de defensa del huésped.

El líquido de diálisis peritoneal convencional es una solución biocompatible que tiene un pH ácido, altas concentraciones de glucosa y lactato y la presencia de productos de degradación de la glucosa. Esta composición no fisiológica afecta desfavorablemente las defensas de la cavidad peritoneal y por lo tanto puede contribuir al desarrollo de la peritonitis. Adicionalmente la producción de citocinas inflamatorias y la quimiotaxis por las células se ve notablemente afectado por el líquido de diálisis convencional, así como la obstaculización de la circulación de los leucocitos en respuesta al estímulo infeccioso^{13,14,26}

2.8.1 Características fisiológicas de los Polimorfonucleares en la cavidad peritoneal en pacientes en DPCA.

Se han realizado diferentes investigaciones para estudiar la funcionalidad de los PMN en la cavidad peritoneal. Ya se mencionó que hay una alteración de la capacidad fagocítica debido a la presencia del líquido de diálisis que tiene una hiperosmolaridad y un pH no fisiológico. Se estudió a las macrófagos peritoneales y su relación con el decremento de su funcionalidad en pacientes en DPCA, para esto se compararon el efecto in vivo de los macrófagos de 8 pacientes que fueron sometidos a soluciones con diferentes concentraciones de glucosa: 1.35% y 3.86% con pH de 5.0 y 7.0. Posteriormente se aislaron los macrófagos del dializado de cada paciente y se estudió la capacidad fagocítica; su acción microbicida y estallido respiratorio de los PMN. Se reveló que el líquido de diálisis con pH de 5.0 inhibe la función de las células fagocíticas y los macrófagos expuestos a un pH de 7.0 tienen una respuesta fagocítica mejor.¹⁴

En otro estudio se reveló también la actividad funcional de los macrófagos peritoneales en 5 pacientes con diálisis peritoneal y 30 sujetos control. La fagocitosis de partículas de látex por los macrófagos de los dializados fue significativamente más bajo comparados con los controles. Durante la peritonitis bacteriana se observó una depresión en la actividad fagocítica⁴⁴.

También se analizó también la inmunología de la celularidad peritoneal después de una peritonitis clínica. Se obtuvieron las células peritoneales de los líquidos de toda la noche de un día antes de la peritonitis y después de la peritonitis. La capacidad fagocítica de los macrófagos peritoneales fue disminuida en 5 de 6 episodios con peritonitis de los días 2 y del día 1, comparados con los macrófagos del control

positivo. Estos resultados indican que la deficiencia fagocítica por macrófagos peritoneales puede contribuir al desarrollo de la peritonitis en DPCA.⁴²

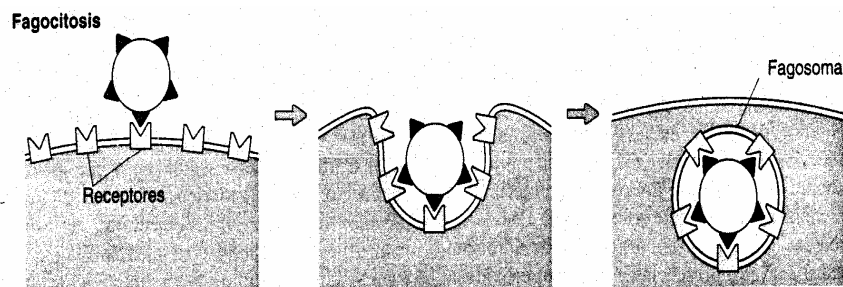
2.8.2 Fagocitosis de los microorganismos.

La fagocitosis es un proceso dependiente del citoesqueleto de la célula que consiste en el englobamiento de partículas grandes, cada fagocito utiliza varios receptores de superficie para unirse a un microorganismo y extiende una proyección de membrana en forma de copa alrededor del microorganismo.

Cuando la proyección prominente de la membrana celular se extiende más allá del diámetro de la partícula, la porción superior de la proyección se (cierra) “abrocha”, de forma que separa el interior de la proyección para formar una vesícula intracelular. Esta vesícula, que recibe el nombre de fagosoma, contiene la partícula extraña fagocitada y se separa de la membrana plasmática. Los receptores de la superficie celular de los fagocitos desempeñan tres importantes funciones en el proceso de fagocitosis que son:

- 1) Los receptores unen la partícula a la membrana del fagocito.
- 2) Estos receptores hacen llegar señales de activación, mediadas fundamentalmente por proteínas G, que participan en la remodelación de la membrana del fagocito, el proceso de “abrochamiento” de la membrana en torno a la partícula y la subsiguiente separación del fagosoma de la membrana plasmática.
- 3) Estos mismos receptores, de nuevo actuando a través de las proteínas, ponen en marcha las actividades microbicidas de los fagocitos, es decir, la formación de fagolisosomas y la generación de radicales libres que se comentan más adelante.¹¹

(Ver figura 3.)



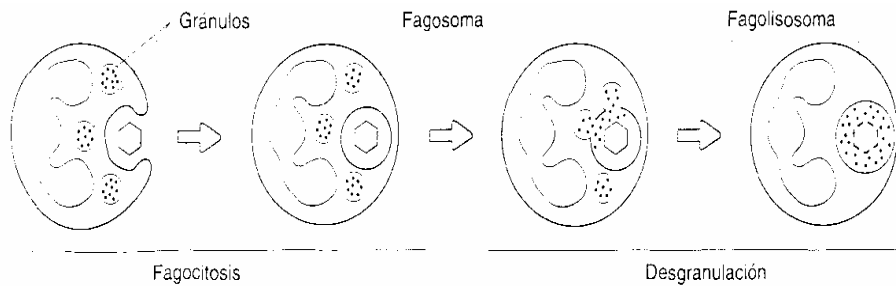


Fig. 3. Fagocitosis de los microorganismos.

2.8.3 Destrucción de los microorganismos fagocitados.

La principal función efectora de los neutrofilos y los macrófagos es destruir los microorganismos fagocitados mediante la fusión de los lisosomas con los fagosomas y la producción de las moléculas microbicidas. La fusión de los lisosomas con los fagosomas conduce a la formación de los fagolisosomas, en los que las enzimas proteolíticas almacenadas en los lisosomas entran en contacto con los microorganismos fagocitados y los destruyen. Los lisosomas de los neutrofilos son especialmente ricos en elastasa, una serina proteasa de amplia especificidad.

Un segundo mecanismo microbicida que utilizan los macrófagos y los neutrofilos activados es la conversión catalítica de oxígeno molecular en radicales libres oxihalogenuricos, que son agentes oxidantes muy reactivos que destruyen los microorganismos (y otras células). El principal sistema generador de radicales libres es el sistema de la oxidasa fagocítica. La oxidasa es una enzima multisubunitaria que se ensambla en los macrófagos activados en la membrana plasmática y en la membrana fagolisosómica. La función de esta enzima consiste en reducir el oxígeno molecular a productos intermedios reactivos de oxígeno que son tóxicos para las bacterias. Los macrófagos cuentan con un segundo sistema de generación de radicales libres: la sintasa de óxido nítrico inducible en una enzima citolítica que no existe en los macrófagos en reposo pero que puede inducirse. El óxido nítrico derivado de los macrófagos se puede combinar con peróxido o superóxido de hidrógeno, generados por la oxidasa fagocítica en los fagosomas ácidos para producir radicales peroxinitrito, muy reactivos capaces de destruir los microorganismos^{11,12}

2.9 Diagnóstico microbiológico del líquido de diálisis peritoneal

Una de las características importantes para el diagnóstico inicial de la peritonitis es la turbidez del líquido de diálisis peritoneal⁵. Sin embargo se determinó que la turbidez puede ser usada en criterios únicamente de diagnóstico inicial de peritonitis, debido a que el uso de terapia puede modificar el aspecto, pero la turbidez no significa que pueda haber presencia de microorganismos.²²

La tinción de Gram positiva puede ser predictiva para el inicio de la terapia antibacteriana empírica y se manifiesta en un 85% de los casos, debido a la baja concentración de microorganismos. Es de gran importancia la realización de la tinción y su reporte inmediato para favorecer el tratamiento inicial y posteriormente cuando se conozca el microorganismo y su antibiograma podrá modificarse ligeramente o continuar la terapia, o bien no iniciar la terapia (debido a que el frotis nos puede revelar la presencia de eosinófilos).

Las causas de negatividad en los cultivos del líquido de diálisis peritoneal son: técnicas y tiempos de cultivo inadecuados, microorganismos fastidiosos^{18,19}, terapia antibacteriana previa al cultivo^{17,47,48,49}.

Se han desarrollado varias técnicas que demuestran las ventajas de utilizar métodos diferentes al método convencional (tradicional) porque aumentan la positividad de los cultivos. En un estudio que se realizó se compararon dos métodos: utilizando el equipo Bactec contra el método convencional, se utilizó el líquido de diálisis peritoneal de 35 pacientes en DPCA con 67 episodios de peritonitis. En el método convencional se usaron placas de agar sangre y caldo de tioglicolato, en el Bactec se inoculó directamente dos alícuotas de 5 mL en dos botellas una para aerobios y otra para anaerobios, fueron incubadas por 24 y 48 horas a 35°C por 7 días. En el método de la placa se centrifugaron 100mL del líquido por 15 minutos a 3000 rpm y se inoculó el sedimento del dializado con una asa calibrada a 0.01 mL y de 0.5 a 1 mL del sedimento del dializado en caldo de tioglicolato. Las placas de agar sangre se incubaron de un 5 a un 10% de CO₂ a 35°C por 7 días. El caldo de tioglicolato se sembró en medio de agar sangre, cuando se observó por turbidez evidencia de crecimiento, después

de 1 meses los resultados fueron los siguientes: 79% de microorganismos gram positivos, 12% de gram negativos y en todos los episodios de peritonitis solo en el 9% no hubo crecimiento de bacterias. Los resultados de la comparación de los métodos de cultivo fueron: para el Bactec, los cultivos positivos fueron de 60 (90%) y 7 (10%) negativos; para el método en placa fueron 42 (63%) positivos y 25 (37%) negativos.²⁷

La persistencia de los cultivos negativos puede deberse también a la presencia de microorganismos fastidiosos, es decir microorganismos que requieren de medios especiales y muy específicos para su crecimiento y que no son usados en las técnicas convencionales, estos microorganismos pueden ser especialmente hongos o micobacterias¹⁸.

Otra causa puede ser la peritonitis eosinofílica que se describe con más de 100 eosinófilos presentes por mm³ en el líquido de diálisis peritoneal. En muchos de los casos ocurre en las primeras 4 semanas de la inserción del cateter¹⁹. También puede haber cultivos falsos negativos debido a que los cultivos que se envían al laboratorio pueden ser los recambios posteriores al de toda la noche y tienen menor tiempo en la cavidad peritoneal, las concentraciones de bacterias es aún más baja.²

El volumen de la muestra del líquido de diálisis es la causa principal de negatividad. A volúmenes bajos de líquido de diálisis la negatividad es mayor³⁰. El volumen mínimo necesario para la recuperación adecuada de microorganismos es de 50 mL³⁰.

Lisis celular

Otros estudios han demostrado que el método de lisis celular favorece la positividad de los cultivos de diálisis y la recuperación de microorganismos, ayudando a establecer el patógeno natural, así como la distinción entre los contaminantes que están presentes en bajo numero. Una gran variedad de técnicas físicas y químicas pueden romper a los fagocitos y aumentar la sensibilidad a los métodos de laboratorio usados en la confirmación del diagnóstico de peritonitis en pacientes en DPCA^{22,23}.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La Enfermedad Renal Crónica (ERC) es uno de los padecimientos más importantes en México y uno de los tratamientos sustitutivos renales; la Diálisis peritoneal en su modalidad Continua Ambulatoria, predispone a la Peritonitis, que es una complicación frecuente en estos pacientes.^{33,34}

Se ha observado que existe un alto índice de negatividad en los cultivos de líquido de diálisis peritoneal en los pacientes con diagnóstico clínico de peritonitis (en la bibliografía se reporta desde un 15 a un 45% de negatividad de los cultivos), debido a que los microorganismos patógenos que desencadenan un proceso infeccioso intrabdominal son fagocitados por células presentes en la inflamación del peritoneo; los polimorfonucleares (PMN), ocasionan una baja recuperación de bacterias y un alto porcentaje de resultados falsos negativos en los cultivos, también depende el volumen de líquido de diálisis y la técnica de cultivo utilizada, retrasando de manera importante el tratamiento del paciente y por lo tanto su recuperación.

4. OBJETIVO GENERAL.

- Comparar el cultivo de líquido de diálisis peritoneal mediante el método de lisis celular por choque osmótico contra el método tradicional en pacientes con peritonitis.

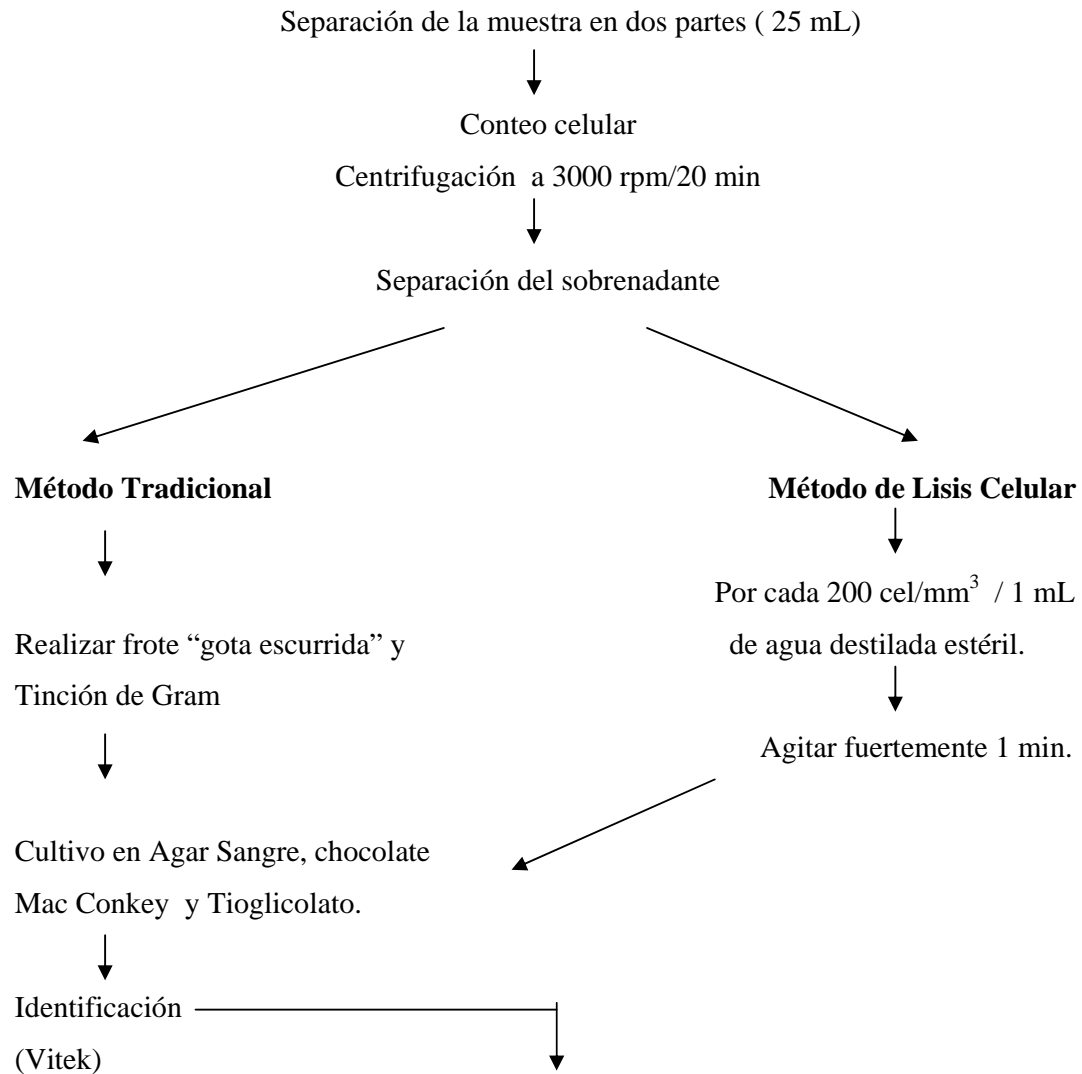
OBJETIVOS ESPECIFICOS.

- Determinar el número de PMN presentes en el líquido de diálisis peritoneal de pacientes con peritonitis.
- Lisar a los polimorfonucleares y liberar a las bacterias que se encuentran dentro.
- Identificar los microorganismos recuperados mediante la metodología tradicional y compararlos con los microorganismos recuperados por el método de lisis celular.

5. HIPOTESIS.

Los cultivos de líquido de diálisis peritoneal con el método tradicional en su mayoría son negativos (de un 15 a un 45%) debido a que los polimorfonucleares fagocitan a las bacterias presentes. Al utilizar del método de lisis celular por choque osmótico, se liberarán las bacterias incrementando el número de microorganismos en el líquido de diálisis. Por lo tanto la positividad de los cultivos en pacientes con diagnóstico de peritonitis se incrementará en comparación con el método tradicional.

6. DIAGRAMA DE FLUJO



Tipo	Tarjetas	Sln salina al 0.45%	Concentración Mac Farland	Visu al color	Pruebas básicas	Sensibilidad (ver método descrito)*
gram positivos	GPI, GPS	1.8 mL	0.5 (80-88% T)	Rojo	Catalasa Hemólisis	200µL
gram negativos	GNI, GNS	1.8 mL	1.0 (67-77% T)	Azul	oxidasa	50µL

7. MATERIAL Y METODO

Producto Biológico.

102 muestras de líquido de diálisis peritoneal de pacientes adscritos al HR del IMSS
25.

Reactivos.

Solución salina 0.45% Biomeriux México

Agua destilada estéril

Equipo para Tinción de Gram. Delta diagnóstico

Tarjetas para identificación Bacteriana (GPI, GNI Biomeriux México)

Tarjetas para pruebas de susceptibilidad antimicrobiana.(GPS, GNS Biomeriux México)

Reactivo Kovacs

Oxidasa

Plasma

Peroxido de hidrogeno (H₂O₂)

Colorante vital Azul de UNNA

Medios de cultivo

Sólidos (Gelosa Sangre, Gelosa Chocolate, Agar MacConkey) Biomeriux México

Líquidos (Tioglicolato) Biomeriux México

Material

Frascos estériles para la recolección de la muestra

Asas bacteriológicas

Pipetas estériles

Portaobjetos

Cubreobjetos

Cámara de Fush Rosenthal

Mechero Bunsen

Puntas amarillas

Cinta testigo

Tubos de ensayo 12x 75 y 13x100

Jarra generadora de CO₂

Algodón

Gradilla

Equipo.

Centrifuga. Beckman model TJ-6 Centrifuge

Microscopio Carl-Zeiss

Incubadora bacteriológica. J.M.

Equipo de identificación Bacteriana Vitek, Biomeriux México

Impresora: Epson Fx-890

Computadora: Samsung

Regulador: ISB Sola Basic.

Nefelómetro MacFarland

Dispensador. Dispensette 111, cat. No. 4701130BM

Pipetas automáticas 10,50, 100 y 200 µL Mechanical Pipettors BIOHIT/490005-5

METODOLOGIA.

I. Recolección de la muestra:

1. Las enfermeras encargadas del servicio de DPCA recolectaron con jeringas estériles 50 mL de líquido de diálisis peritoneal en frascos estériles de pacientes con diagnóstico de peritonitis.
2. Depositaron 5 mL de líquido de diálisis en un tubo de ensaye de 13x100 para el conteo celular
3. Etiquetaron las muestras y las llevaron al laboratorio inmediatamente para su proceso.

II. Conteo celular:

1. El tubo de ensaye de 13x100, que contenía líquido de diálisis se agito varias veces para homogenizar la muestra.
2. Se midieron 100µL de líquido de diálisis en un tubo de ensaye de 12x75.
3. Se midieron 10µL de colorante vital azul de UNNA en el tubo anterior de 12x100.

4. Se mezcla perfectamente y se montó la preparación en una cámara de Fush-Rosenthal.
5. Se dejó reposar 3 minutos en la cámara.
6. Se realizó la cuenta celular en objetivo de 10 contando todas las células de los 16 cuadrantes de la cámara.

III. Preparación de la muestra y Cultivo del líquido.

METODO TRADICIONAL.

1. El líquido de diálisis se dividió por partes iguales (25 mL) en otro frasco estéril y ambos frascos se centrifugaron a 3000 rpm durante 20 min. Etiquetándose **como frasco 1 (Método Tradicional) y frasco 2 (Método de lisis).**
2. Se separó el sobrenadante con una pipeta Pasteur estéril, dejando en el frasco 1 aproximadamente 10 mL del sedimento.
3. Se agitó ligeramente el frasco 1 y se tomó una gota de este sedimento con la pipeta Pasteur y se realizó un frote en un portaobjetos perfectamente limpio por “gota escurrida”.
4. se realizó la tinción de Gram al frote preparado.
5. Se tomó una gota del líquido de diálisis y se sembró en el medio de Tioglicolato.
6. Se tomó una gota del líquido de diálisis para cada uno de los medios de cultivo sólidos: Gelosa sangre, Gelosa chocolate y Agar MacConkey , se dejó secar la gota y después se estrió en cuatro cuadrantes.
7. Los medios de cultivo se incubaron a 37°C en atmósfera parcial de CO₂ AL 5% excepto el caldo tioglicolato y el agar MacConkey; estos se incubaron a 37°C sin atmósfera parcial de CO₂
8. Después de 24 horas, se revisaron los cultivos y el caldo. Los cultivos en caja se incubaron hasta por 72 horas antes de descartar como negativos y el caldo hasta después de siete días.

METODO DE LISIS CELULAR.

1. El frasco 2 de la muestra se centrifugó a 3000 rpm durante 20 min.
2. Se separó el sobrenadante con una pipeta Pasteur estéril, dejando en el frasco 2 aproximadamente de 5 a 10 mL del sedimento.
3. **De acuerdo a la cantidad de células contadas se adicionó 1 mL de agua destilada estéril por cada 200 células/mm³.**

4. Se agitó fuertemente durante un minuto.

5. Se tomó una gota del líquido lisado y se sembró en el medio de Tioglicolato.
6. Se tomó una gota del líquido lisado para cada uno de los medios de cultivo sólidos: Gelosa sangre, Gelosa chocolate y Agar MacConkey , se dejó secar la gota y después se estrió en cuatro cuadrantes.
7. Los medios de cultivo se incubaron a 37°C en atmósfera parcial de CO₂ AL 5% excepto el caldo tioglicolato y el agar MacConkey; estos se incubaron a 37° C sin atmósfera parcial de CO₂
8. Después de 24 horas, se revisaron los cultivos y el caldo. Los cultivos en caja se incubaron hasta por 72 horas antes de descartar como negativos y el caldo hasta después de siete días.

IV. Identificación y Sensibilidad bacteriana: Método de Lisis celular y Método Tradicional:

Nota: Se utilizó equipo automatizado para identificación y sensibilidad bacteriana (Vitek, Biomeriux México)

1. Se seleccionaron las colonias aisladas de los medios de cultivos, así como de las resiembras.
2. Se identificó mediante tinción de Gram los microorganismos de las colonias seleccionadas para poder así elegir las tarjetas GPI y GPS para los microorganismos Gram positivos y GNI y GNS para los Gram negativos.

V. Preparación de la muestra para identificación en el Vitek:

1. Se calibró el Nefelómetro de MacFarland con cristal violeta 0% de transmitancia y solución salina para 100% de transmitancia.
2. Se midieron con el dispensador automático tubos de ensaye de 12x75, 1.8 mL de solución salina al 0.45%.
3. Se seleccionó la colonia ya identificada por tinción de Gram y se hizo una suspensión de bacterias. Si es gram positivo la turbidez debe ser de 0.5 en la escala de MacFarland es decir 80-88% de transmitancia y visualmente la línea llega al color rojo, si es gram negativo la turbidez debe ser 1.0 en la escala de

MacFarland es decir a 67-77% de transmitancia y visualmente la línea llega al color azul.

4. En otro tubo que corresponde a el mismo microorganismo pero marcado para la prueba de sensibilidad se colocan 1.8 mL de solución salina al 0.45%.
5. Se toma la suspensión correspondiente al microorganismo y con pipeta automática se adicionan 200 μ L para los gram positivos y 50mL para los gram negativos.*
6. Se identifican las tarjetas correspondientes tomando en cuenta las pruebas realizadas con anterioridad (catalasa y hemólisis, pruebas básicas) para los microorganismos gram positivos y oxidasa para los gram negativos.

PRUEBAS BACTERIOLOGICAS UTILIZADAS:

Tinción de Gram:

1. Fijar a la flama el frote.
2. Agregar Cristal Violeta sobre el frote.
3. Esperar un minuto.
4. Enjuagar con agua corriente.
5. Agregar Yodo-lugol y esperar un minuto.
6. Enjuagar con agua corriente.
7. Añadir durante 1 segundos alcohol acetona.
8. Enjuagar con agua corriente.
9. Agregar safranina y esperar 30 segundos a un minuto.
10. Enjuagar con agua corriente.
11. Esperar a que se seque y observar en el microscopio con el objetivo de 100x.

Catalasa:

1. En un portaobjetos limpio se coloca una pequeña gota de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) al 3%.
2. Con una asa bacteriológica se selecciona la colonia y se toma una pequeña cantidad de ésta.
3. Se coloca en la gota de H_2O_2 al 3% y se observa: si existe “burbujeo” (liberación de O_2) la prueba es positiva.

4. Se realiza el control positivo con *S. aureus* y como control negativo *Streptococcus sp.*

Coagulasa:

1. En un tubo de 12x75 se colocan de 0.5 a 1 mL de plasma.
2. Se selecciona la colonia y con el asa bacteriológica se toma una porción y se resuspende en el plasma.
3. Se incuba a 37° C y en una hora o al siguiente día si se observa coagulo la prueba es positiva.
4. Como control positivo se usó *S. aureus* y como control negativo *S. epidermidis*.

Oxidasa: (discos impregnados con oxidasa).

1. Se selecciona la colonia, generalmente microorganismos gram negativos. Y con una asa bacteriológica se impregna en el disco de oxidasa.
2. Si la coloración es intensa (rosa mexicano) la prueba es positiva.
3. Se colocan controles: positivo, *Pseudomonas aeruginosa* y negativo, *Escherichia coli*.

Tubo germinativo:

1. En un tubo de 12x 75 se midió 0.5 a 1 mL de suero , de preferencia que contenga cifras elevada de glucosa.
2. Se seleccionó la colonia identificada en el Gram como levadura y se suspendió en el suero.
3. Se incubó durante 24 horas a 37° C .
4. Se preparó un frote en fresco y se observó a 40x.
5. Si se observa desarrollo del tubo germinativo de la levadura la prueba es positiva a *Candida albicans* , si no desarrollo el tubo germinativo se reporta como *Candida spp.*

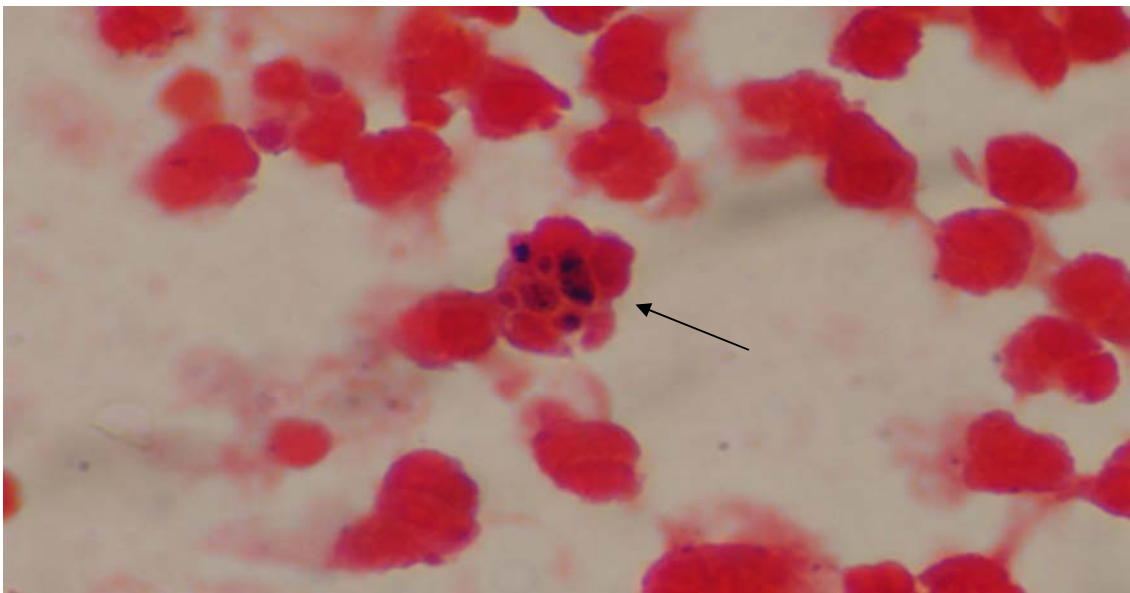
Análisis estadístico:

En ambos métodos se utilizó una comparación de proporciones, se realizó un cálculo de sensibilidad y especificidad, valor predictivo negativo, valor predictivo

positivo mediante el uso de una tabla de 2x2, tomando como estándar de oro la prueba tradicional.

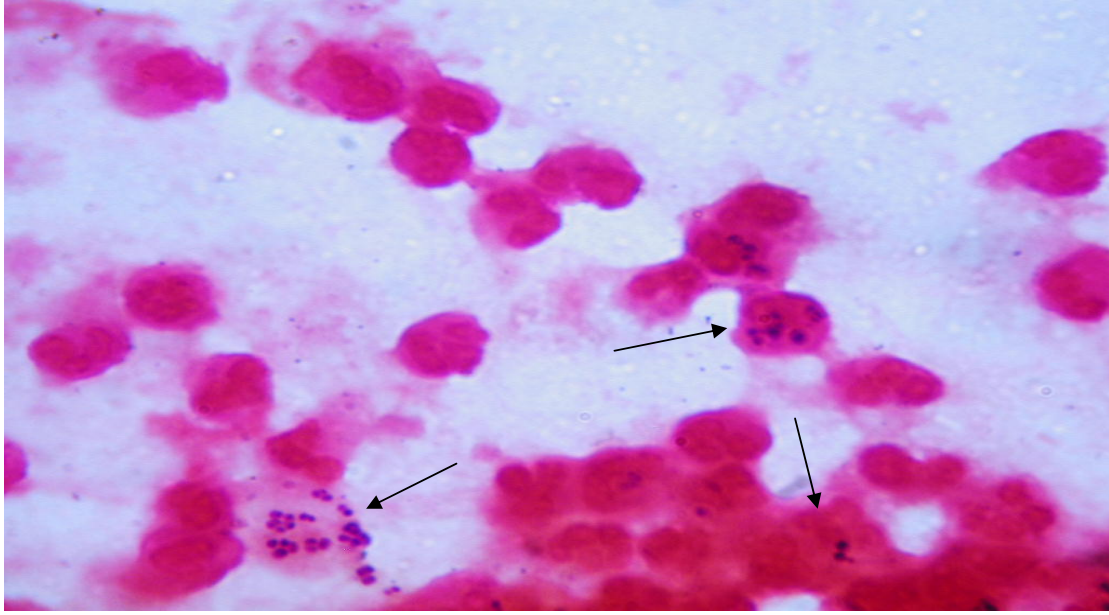
8. RESULTADOS.

En las figuras siguientes se observan frotis con Tinción de Gram de los líquidos de diálisis peritoneal donde se indica por las flechas a los polimorfonucleares fagocitando microorganismos.



Tinción de Gram.

Figura 4. Se observan Polimorfonucleares (PMN) y Mononucleares, microorganismos fagocitados: Levaduras.



Tinción de Gram.

Figura 5. Se observa una celularidad de 90% de Polimorfonucleares (PMN) y bacterias fagocitadas (cocos gram positivos).

Se analizaron 102 muestras de líquido de diálisis peritoneal en pacientes en DPCA con diagnóstico de peritonitis.

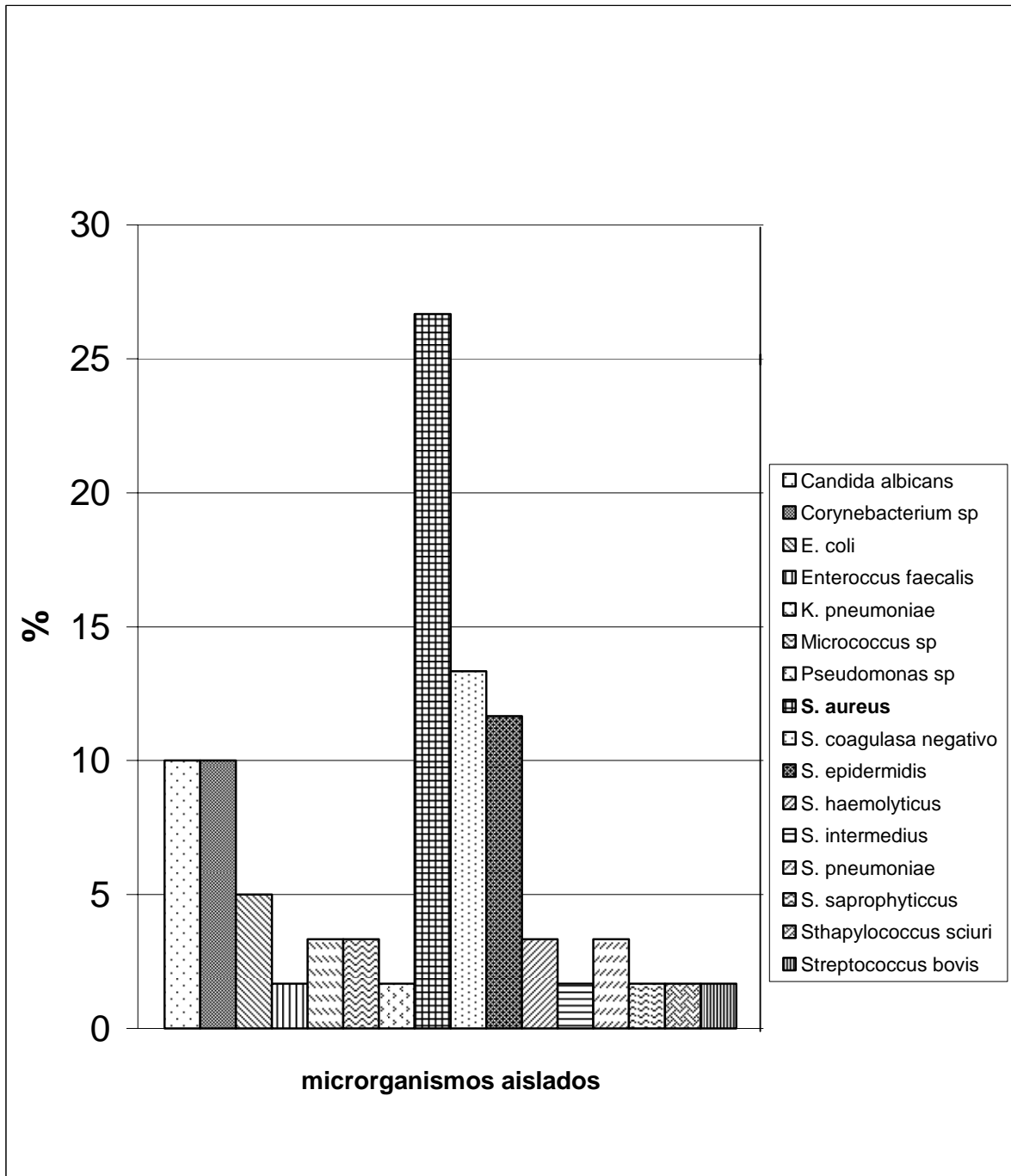
En la tabla 1 se observan el número de cultivos positivos obtenidos por el método de lisis celular; el aspecto físico del líquido de diálisis en su mayoría fue turbio, solo algunos líquidos son ligeramente turbios y transparentes. El conteo celular en casi todas las muestras es mayor a 100 cel/mm³ que es un dato diagnóstico de una peritonitis y en el aislamiento se observa que el tipo de microorganismos fue gram positivo en un 80%, siendo el *S. aureus* el que se encuentra en mayor porcentaje de aislamiento (Gráfica 1).

Tabla 1. Cultivos positivos con el método de lisis celular.

No. Muestra	Aspecto	No. Células/mm ³	Microorganismo
1	turbio	325	<i>Candida albicans</i>
2	lig. turbio	1407	<i>S. aureus</i>
3	lig. turbio	348	<i>S. intermedius</i>
4	turbio	335	<i>K. pneumoniae</i>
5	turbio	385	<i>Corynebacterium sp</i>
6	turbio	663	<i>S. aureus</i>
7	transparente	neg	<i>S. coagulasa negativo</i>
8	turbio	585	<i>S. aureus</i>
9	turbio	2600	<i>S. pneumoniae</i>
10	turbio	4600	<i>S. aureus</i>
11	turbio	38500	<i>E. coli</i>
12	turbio	5850	<i>S. aureus</i>
13	lig. turbio	1890	<i>S. coagulasa negativo</i>
14	turbio	693	<i>S. coagulasa negativo</i>
15	turbio	124	<i>S. coagulasa negativo</i>
16	turbio	677	<i>S. coagulasa negativo</i>
17	transparente	neg	<i>S. coagulasa negativo</i>
18	turbio	500	<i>S. aureus</i>
19	turbio	2860	<i>S. aureus</i>
20	turbio	825	<i>S. aureus</i>
21	turbio	352	<i>S. pneumoniae</i>
22	transparente	165	<i>S. aureus</i>
23	turbio	3927	<i>S. aureus</i>
24	turbio	324	<i>Candida albicans</i>
25	turbio	1056	<i>Corynebacterium sp</i>
26	turbio	682	<i>S. coagulasa negativo</i>

No. Muestra	Aspecto	No. Células/mm ³	Microorganismo
27	turbio	4800	<i>S. coagulasa negativo</i>
28	turbio	1025	<i>E. coli</i>
29	turbio	985	<i>Corynebacterium sp</i>
30	lig. turbio	10	<i>Candida albicans</i>
31	lig. turbio	2	<i>Corynebacterium sp</i>
32	turbio	3700	<i>K. pneumoniae</i>
33	lig. turbio	239	<i>S. aureus</i>
34	turbio	100	<i>S. epidermidis</i>
35	turbio	1309	<i>S. aureus</i>
36	turbio	1595	<i>E. coli</i>
37	turbio	1127	<i>Corynebacterium sp</i>
38	lig. turbio	330	<i>S. epidermidis</i>
39	turbio	319	<i>S. epidermidis</i>
40	turbio	2319	<i>S. haemolyticus</i>
41	turbio	55000	<i>Candida albicans</i>
42	turbio	2035	<i>S. saprophyticus</i>
43	turbio	169	<i>Micrococcus sp</i>
44	turbio	550	<i>S. epidermidis</i>
45	turbio	1155	<i>Streptococcus bovis</i>
46	lig. turbio	797	<i>Corynebacterium sp</i>
47	lig. turbio	951	<i>S. haemolyticus</i>
48	turbio	1342	<i>S. epidermidis</i>
49	turbio	550	<i>Micrococcus sp</i>
50	turbio	156	<i>S.aureus</i>
51	lig. turbio	552	<i>S. epidermidis</i>
52	turbio	3696	<i>S.aureus</i>
53	turbio	184	<i>Pseudomonas sp</i>
54	lig. turbio	112	<i>Candida albicans</i>
55	turbio	506	<i>S. epidermidis</i>
56	turbio	1815	<i>Candida albicans</i>
57	turbio	1400	<i>S. aureus</i>
58	turbio	399	<i>Staphylococcus sciuri</i>
59	turbio	15840	<i>S.aureus</i>
60	turbio	459	<i>Entococcus faecalis</i>

Gráfica 1. Microorganismos aislados con el método de lisis celular (Sep 2005- Enero 2006)

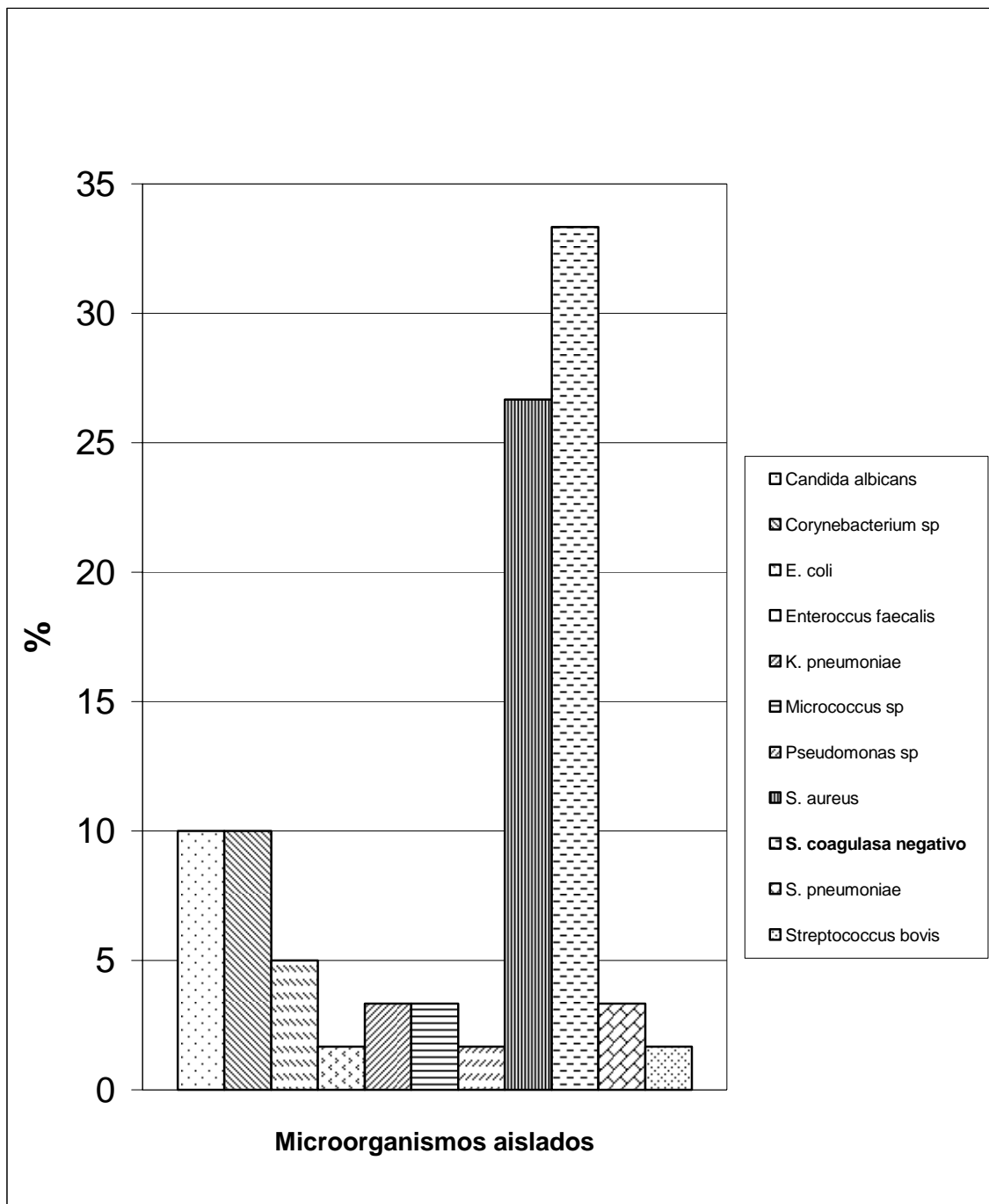


En la tabla 2 se observa el número de cultivos positivos obtenidos por el método Tradicional; el aspecto físico del líquido de diálisis en su mayoría también fue turbio. El número de células, en casi todas las muestras del líquido son mayores a 100 cel/mm³ y en el aislamiento se observa que la gran mayoría de los microorganismos fueron gram positivo al igual que en el de Lisis, siendo el estafilococo coagulasa negativa el que se encuentra en mayor porcentaje de aislamiento (Gráfica 2).

Tabla 2. Cultivos positivos con el método tradicional.

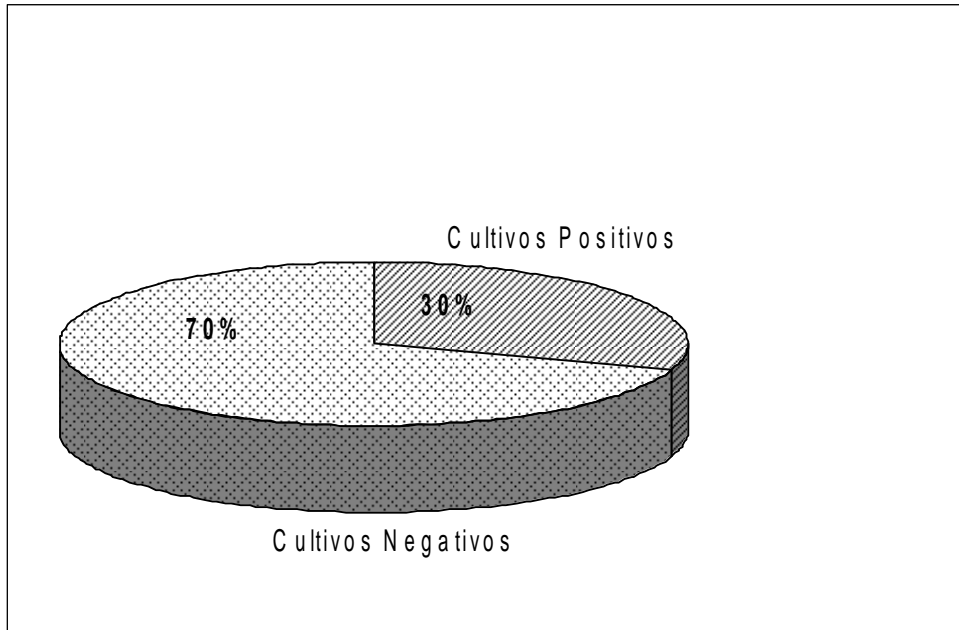
No. Muestra	Aspecto	No. Células/mm ³	Microorganismo
1	turbio	325	<i>Candida albicans</i>
2	lig. turbio	1407	<i>S. aureus</i>
3	lig. turbio	348	<i>S. intermedius</i>
4	turbio	335	<i>K. pneumoniae</i>
5	turbio	663	<i>S. aureus</i>
6	turbio	2600	<i>S. pneumoniae</i>
7	turbio	4600	<i>S. aureus</i>
8	turbio	38500	<i>E. coli</i>
9	turbio	5850	<i>S. aureus</i>
10	lig. turbio	1890	<i>S. coagulasa negativo</i>
11	turbio	2860	<i>S. aureus</i>
12	turbio	3927	<i>S. aureus</i>
13	turbio	324	<i>Candida albicans</i>
14	turbio	1056	<i>Corynebacterium sp</i>
15	turbio	682	<i>S. coagulasa negativo</i>
16	turbio	1025	<i>E. coli</i>
17	turbio	3700	<i>K. pneumoniae</i>
18	lig. turbio	239	<i>S. aureus</i>
19	turbio	100	<i>S. epidermidis</i>
20	turbio	1595	<i>E. coli</i>
21	lig. turbio	330	<i>S. epidermidis</i>
22	turbio	319	<i>S. epidermidis</i>
23	turbio	2319	<i>S. haemolyticus</i>
24	lig. turbio	951	<i>S. haemolyticus</i>
25	turbio	1342	<i>S. epidermidis</i>
26	lig. turbio	552	<i>S. epidermidis</i>
27	turbio	3696	<i>S. aureus</i>
28	lig. turbio	112	<i>Candida albicans</i>
29	turbio	1815	<i>Candida albicans</i>
30	turbio	399	<i>Staphylococcus sciuri</i>
31	turbio	15840	<i>S. aureus</i>

Gráfica 2. Microorganismos aislados con el método Tradicional. (Sep 2005- Enero 2006)

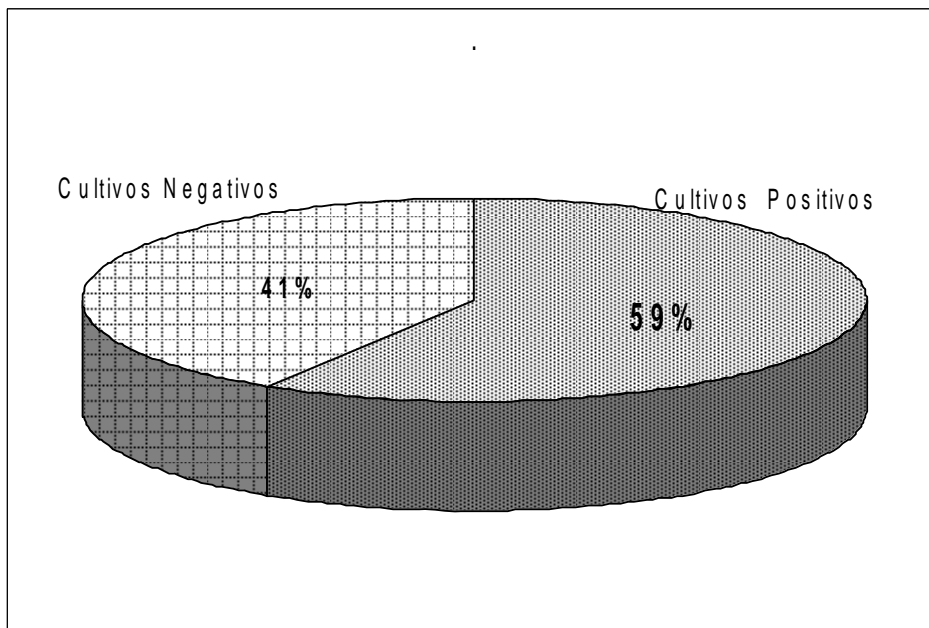


En las gráficas 3 y 4 se representan el resultado obtenido de los cultivos, con el método tradicional y por el método de Lisis celular respectivamente.

Grafica 3. Positividad del método tradicional. (Sep 2005- Enero 2006)



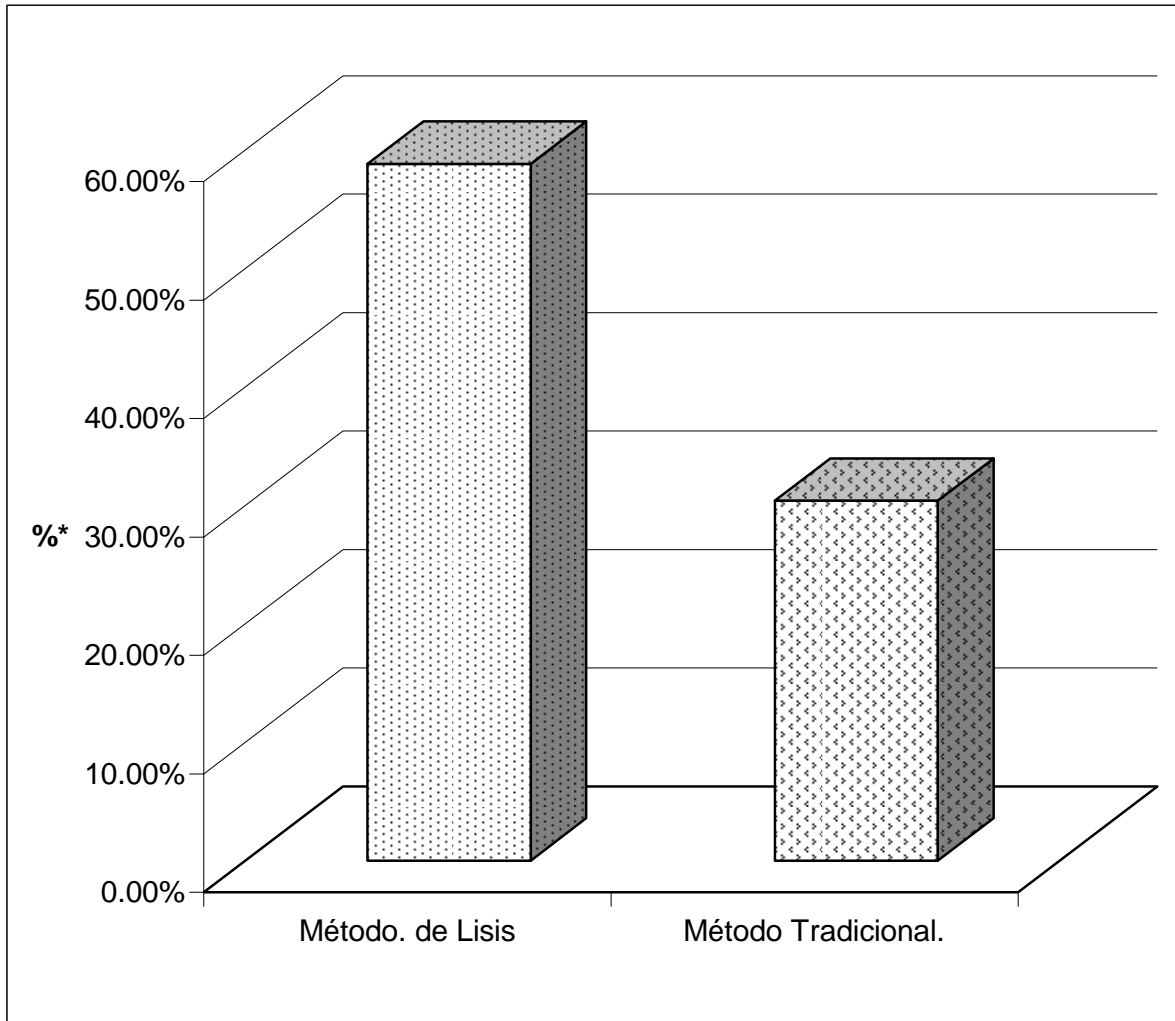
Grafica 4. Positividad del Método de Lisis celular. (Sep 2005- Enero 2006)



Al comparar el porcentaje de cultivos positivos de cada método se obtiene la gráfica 5

Gráfica 5. Comparación del porcentaje de positividad de los cultivos obtenido por ambos métodos.

)* cultivos positivos.



**TABLA DE 2X2 PARA EL CÁLCULO DE LA SENSIBILIDAD Y
ESPECIFICIDAD**

Método Tradicional

		Cultivos Positivos	Cultivos Negativos	
Método de Lisis	Cultivos Positivos	31	29	60
	Cultivos Negativos	0	42	42
		31	71	102

Método de Lisis celular

Sensibilidad: 100%

Especificidad: 59%

VP₊ = 52%

VP₋ = 100%

VP₊ = Valor predictivo positivo

VP₋ = Valor predictivo negativo.

9. ANALISIS DE RESULTADOS.

La turbidez del líquido de diálisis es una de las características que se toman en cuenta para el diagnóstico de peritonitis², la mayoría de los líquidos de diálisis peritoneal analizados fueron turbios. Sin embargo, hubo algunos líquidos con aspecto ligeramente turbio y transparente que contenían células cuyos resultados fueron positivos por el método de lisis celular. La turbidez presentada por algunos líquidos no siempre estuvo relacionada con el número de células, debido a esto se analizaron todos los líquidos de pacientes con diagnóstico de peritonitis. En los resultados obtenidos dos líquidos con aspecto transparente y sin celularidad dieron cultivos positivos, esto puede explicarse por el manipuleo del catéter y la falta de asepsia durante el procedimiento. Por otra parte algunos líquidos que tenían cuentas muy bajas de células (menor a $100/\text{mm}^3$) dieron cultivos positivos, puede explicarse por lo antes mencionado.

La cuenta celular, que de acuerdo a la bibliografía es uno de los criterios más importantes en el diagnóstico de la peritonitis debe ser mayor a $100 \text{ cel}/\text{mm}^3$ y tener más del 50% de Polimorfonucleares PMN en la cuenta diferencial^{2,28}, se cumplieron en casi todos los líquidos analizados. Pero también se observa que existen muchos líquidos con cuentas mayores de $100 \text{ cel}/\text{mm}^3$ y cuyos resultados fueron negativos por ambos métodos. Esto se puede deber a que la celularidad no siempre va acompañada de una infección sino que también se altera en un proceso inflamatorio.

Es muy importante considerar la concentración de los microorganismos que se ve afectada por la dilución que existe en la cavidad peritoneal al infundir la solución dializante que va de 1500 a 2000 mL. También el número de recambio de líquido de diálisis es importante, normalmente los cambios se realizan cada 4 horas durante el día^{4,5} y sólo durante la noche el líquido instilado tarda más tiempo en la cavidad peritoneal por lo que puede que la concentración de microorganismos sea mayor. Entonces es interesante hacer notar que la toma de muestras de ser posible siempre sea la primera de la mañana.

La cavidad peritoneal posee en sí los mecanismos de defensa normales y la instilación constante de líquido de diálisis que es hiperosmolar provoca un desgaste celular, por lo cual resulta un factor predisponente para una peritonitis¹⁴. Además el

líquido de diálisis por su pH 5 que no es fisiológico y por su hiperosmolaridad con concentraciones de glucosa de 1.5%, 2.5% o 4.25% provocan modificaciones en las células de defensa y entonces la capacidad fagocítica y la actividad bactericida se ven afectados^{55,56} por lo que se sugiere que el peritoneo compensa esta disminución produciendo a su vez PMN con una actividad exacerbada. Es la razón a lo observado en la tinción de Gram (figura 3 y 4) microorganismos de naturaleza intracelular. Por tanto la tinción de Gram es una herramienta básica y fundamental en la Microbiología que nos permite dar un informe preliminar para el inicio de la terapia antimicrobiana empírica².

Los microorganismos aislados en los líquidos (Tabla 1 y 2) son los que más comúnmente se encuentran en las peritonitis^{1,2,5}, y estos fueron en su mayoría microorganismos de la flora normal de la piel debido por un manejo inadecuado en el cambio de líquido por el cual penetra el microorganismo. Se ha demostrado que los microorganismos de mayor prevalencia son de tipo gram positivo, lo cual concuerda con el presente estudio, siendo el estafilococo coagulasa negativa y el *Staphylococcus aureus* los de mayor incidencia¹⁰.

Llama la atención la presencia de los dos aislamientos en los líquidos de diálisis de *Streptococcus pneumoniae*, este microorganismo puede transmitirse en pacientes que tengan contacto con personas que tengan neumonía^{49,50}, o bien que sean portadores asintomáticos.

De acuerdo a nuestro estudio todas fueron causantes de peritonitis, todas consideradas altamente patógenas.

El volumen del líquido es importante en este estudio, se utilizó lo recomendado por la bibliografía, 50 mL²⁴ porque hay una mayor concentración de microorganismos y la recuperación puede ser más factible por ambos métodos. La lisis celular libera a las bacterias pero también diluye ligeramente el centrifugado del líquido, la cuenta de colonias aisladas puede llegar a ser mínima, sin embargo es suficiente para la identificación. Al no dar este tratamiento previo (Método tradicional), el porcentaje de positividad es menor (30%)

En cambio por el método de Lisis celular fue de 59%, es decir aproximadamente un 50% más de positividad en los cultivos.

De acuerdo a la tabla de 2x2 la técnica propuesta por el presente estudio "LISADO CELULAR" tiene una Sensibilidad del 100%, una Especificidad del 59%, Valor predictivo positivo (VP₊) del 52% y valor predictivo negativo (VP₋) de 100%; por lo que resulta ser una técnica mucho más sensible a la técnica Tradicional

10. CONCLUSIONES

El método de Lisado celular por choque osmótico, libera los microorganismos fagocitados presentes en el líquido de diálisis peritoneal. Esto favorece la obtención de cultivos positivos (59%), incrementándose hasta en un 50% respecto al método Tradicional (30%).

11. PROPUESTAS

- Realizar la cuenta celular del líquido de diálisis en el área de Microbiología.
- Recolectar durante el primer recambio de la mañana la muestra de líquido de diálisis del paciente con peritonitis, con el volumen mínimo de 50 mL.
- Los resultados de la tinción de Gram deben informarse inmediatamente porque con ello se inicia la terapia empírica.
- Implementar la técnica de Lisado celular en el HR. No. 25 del IMSS y en los laboratorios de Microbiología donde haya pacientes en Diálisis peritoneal Continua Ambulatoria (DPCA)
- Centrifugar el Lisado celular para obtener una mayor concentración de las bacterias y que no se vea diluida por el agua estéril adicionada y así obtener una mayor cantidad de colonias.

11. ANEXOS

1.1 TÉCNICA DE LA DIALISIS PERITONEAL DEL HR No. 25 IMSS.

Precauciones

- Cerrar puertas y ventanas
- Revisar manos y uñas cortas, sin reloj, pulseras, anillos.
- Colocar cubrebocas al familiar y paciente

Notas:

- *Técnica de lavado de manos**. esto es, hacer mucha espuma, de preferencia usar jabón líquido, y lavar dedo por dedo, palmas, dorso y muñecas. Si se cuenta con llave mucho mejor, enjuagar las manos de adentro hacia fuera.
- *Técnica de secado de manos***. Se secan las manos con una toalla limpia o una prenda que absorba perfectamente, que no deje pelusa y se deberán secar las manos dedo por dedo, dorso y muñecas.

Metodología:

1. Lavar manos en forma normal, y con técnica* Secar las manos con técnica**
2. En una mesita, exclusivamente para colocar el material de la diálisis, se deberá limpiar con un trapo limpio y jabón líquido de adentro hacia fuera.
3. Dividir la mesa en dos partes, una donde se colocará el material ya usado que se denominara como parte sucia o contaminada y la otra donde se coloque las cosas limpias o no contaminadas.
4. Preparar el siguiente material: Un frasco de torundas con alcohol, jeringa con aguja, 2 minicaps (tapones para la línea de diálisis), pinzas, heparina y la bolsa de diálisis. Se deberá revisar siempre fecha de caducidad y que no tenga algún problema. De la bolsa de diálisis se deberá revisar que no tenga fugas, que sea de la concentración que se requiere, también revisar la temperatura, esta deberá estar a temperatura ambiente, puede calentarse un poco a 37° C. Las concentraciones de la dextroxa se puede verificar con el color. Si es amarillo el tapón la concentración es de 1.5%, verde para 2.5% y rojo para 4.5%, lo trae indicado también así en la misma bolsa.
5. Se abre la bolsa con las pinzas y se retira del plástico que la contiene, se coloca ahora del lado derecho (parte limpia), se revisa tanto la cánula como el puerto.
6. Se prepara para inyectar la heparina, se limpia con una torunda el puerto así como el medicamento, esto de una sola vez.
7. Se toma un mL con la jeringa y se inyecta al puerto.
8. Se despega la línea y la bolsa gemela.
9. Se prepara al paciente, se le coloca en sus piernas un lienzo limpio y se saca de su cangurera la línea. La cangurera será una tela que se adapte al paciente en el abdomen para guardar la línea, para que está no este colgando y se mueva.
10. Se lava las manos con técnica*
11. Se conecta al paciente tomando la línea del paciente hacia abajo, se toma la línea de la bolsa y se conecta, la línea del tapón debe estar hacia abajo y así conectar.
12. La bolsa de diálisis se cuelga, se agita perfectamente por el medicamento.

13. Abrir la cánula para drenar hasta 45 minutos
14. Una vez drenado cerrar la llave, pinzar la línea de arriba. Se debe romper la cánula de desecho y después pinzarla.
15. Abrir la llave para recibir el líquido nuevo, aproximadamente de 7 a 15 minutos.
16. Una vez drenado el líquido al interior del peritoneo cerrar la llave y pinzar.
17. Revisar y abrir los minicaps, deberá tener isodine y su esponjita.
18. Lavar las manos con técnica*
19. Poner el minicaps, no rebasar la rosca de conexión.
20. Colocar la línea del paciente en su cangurera.
21. Recoger el material, desechar en la basura y revisar el color del dializado
22. si el paciente presenta síntomas de peritonitis acudir inmediatamente al servicio de urgencias de DPCA de la clínica
25. Dolor abdominal, fiebre, dializado turbio.

11.2. COMPONENTES DE LA SOLUCIÓN DE DIÁLISIS PERITONEAL.

Electrolitos

Sodio: se encuentra en una concentración de 120 a 140 mEq/L

Potasio: 35 a 40 meq/L

Magnesio: 0.5 meq/L

Calcio: 3.5 mEq/L

Buffer

Mezcla racémica de L-Lactato. El lactato bien en mezcla racémica D-L o en forma de L, exclusivamente a una concentración de 35 o 40 mEq/L es el buffer más utilizado actualmente. Pero estas soluciones representan algunos problemas entre los que destacan: a) su presencia junto al pH bajo (5.3) tienen efectos nocivos sobre las células mesoteliales y macrófagos peritoneales.^{1,7,8}

Agentes osmóticos

Glucosa

Aminoácidos¹

Solución dializante

CONTENIDO DE LAS BOLSAS PARA EL DIALIZADO PERITONEAL. (Baxter)

Cada 100 mL contiene:

Dextrosa: 1.5% ó 2.5% ó 4.25% (indicado por el nefrólogo)

- Glucosa monohidratada 1.5 g.
- 538 mg Cloruro de sodio
- 25.7 mg cloruro de calcio dihidratado
- 5.08 mg Cloruro de magnesio hexahidratado
- 448 mg Lactato de sodio
- Agua inyectable cbp 100 mL
- pH. 5.0-5.6
- 132 meq/L Sodio
- meq/L Calcio
- 0.5 meq/L Magnesio
- meq/L Cloruro
- 40 miliosmoles Lactato aprox/litro.

GLOSARIO DE ABREVIATURAS.

ATP	Adenosin Trifosfato
DP	Diálisis peritoneal
DPCA	Diálisis peritoneal continua ambulatoria
DPCC	Diálisis peritoneal cíclica continua
DPI	Diálisis peritoneal intermitente
ERC	Enfermedad Renal Crónica
GNI	Tarjeta Vitek para identificación de microorganismos Gram Negativos
GNS	Tarjeta Vitek para sensibilidad de microorganismos Gram Negativos
GPI	Tarjeta Vitek para identificación de microorganismos Gram positivos
GPS	Tarjeta Vitek para sensibilidad de microorganismos Gram positivos
HR	Hospital Regional
IMSS	Instituto Mexicano del Seguro Social
IRC	Insuficiencia Renal Crónica
min	minuto
mL	mililitro
mm	milímetro
PMN	Polimorfonuclear
rpm	Revoluciones por minuto
SD	Solución de diálisis
seg	segundo
UNNA	Colorante vital para conteo celular.

14. BIBLIOGRAFIA.

1. Teitelbaum, Burkat: Peritoneal dialysis, USA American Journal of kidney Diseases. 40 (5) Noviembre: 2002.
2. William F. K; *et al.* Adult Peritoneal Dialysis-Related Peritonitis Treatment Recommendations 2000 update. ISPD Guidelines/Recommendations.
3. Tortora G.J. Principios de Anatomía y Fisiología 6ta. Ed. Harla. México. 2002.
4. Greenberg H. Tratado de Enfermedades Renales. 2da. Ed. Harcourt Brace. Madrid. 2000.
5. Peña J.C. Nefrología Clínica y Trastornos del agua y electrolitos. 4ta. Ed. Méndez Editores. México. 2002.
6. Bockus. Gastroenterología. 4ta. Ed Salvat. Bacerlona, 2001.
7. Hernández J. cols; Transferencias aniónicas peritoneales y su relación con el transporte peritoneal y el estado ácido-base. Nefrología. 2002; 12(1): 42-49.
8. Jones S *et. al* ; Continuos Diálisis with Bicarbonato/Lactate-Buffered Peritoneal Diálisis Fluids Results in a Long-Term Improvement in Ex Vivo Peritoneal Macrophage Function. Nephrology.2004.
9. Méndez D.A; Eritropoyetina Humana Recombinante. Masson Doyma México S.A. Barcelona. 2004: 3.
10. Huerta G. cols; Análisis epidemiológico de microorganismos aislados en peritonitis asociada a diálisis peritoneal de 1997 a 2003 en el hospital de pediatría. Enfermedades Infecciosas y Microbiología 2005; 25(1):1-4.
11. Abuil K.Abbas cols. Inmunología celular y molecular. 4ta. Ed. Mc Graw Hill, Madrid. 2002: 290-294.
12. Rojas-Espinoza. Inmunología, 2da. Ed. Panamericana. México D.F. 2001:24-26.
13. Tellado J.M. Intrabdominal Infections. Harcourt. 2000.
14. FijterCW; Verbrugh HA *et al*; In vivo exposure to the currently available peritoneal diálisis fluids decreases the function of peritoneal macrophages in CAPD. Clinical Nephrology.1993; 39(2):75-80.
15. Sing N, Rihs D.J; Improved Detection of Spontaneous Bacterial Peritonitis with Bactec as compared with conventional culture Methods; Diagn Microbiol Infect Dis. 1994; 19: 1-4.
16. Karl D. N. Peritoneal Dialysis Ed Third Edition, Academic Klower Publishers, EUA. 1989: 266-269.

17. Bunke M. Culture-negative CAPD peritonitis. *Adv Perit Dial.* 1994; 10: 174-178.
18. Jhonson D.W. *et al*; A peritoneal dialysis patient with fatal culture-negative peritonitis; *Nephrology.* 2003; 8(1): 49-55.
19. Oh SY;Kim H *et al*; Eosinophilic peritonitis in a patient with continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD). *Korean J Intern Med.* 2004; 19(2):121-123.
20. Spencer B.C. *et al*; Laboratory diagnosis of peritonitis in continuous ambulatory peritoneal dialysis by lysis and centrifugation. *J Clin Pathol.* 1986; 39 (8): 925-926.
21. Taylor, PC, *et al.* Routine laboratory diagnosis of continuous ambulatory peritoneal dialysis peritonitis using centrifugation/lysis and saponin-containing media. *Eur J. Clin Microbiol Infec Dis* .1994 ; 13(3): 249-252.
22. Traanaeus, A; *et al.* Peritonitis in continuous peritoneal dialysis (CAPD) : diagnostic findings, therapeutic outcome and complications. *Perit Dial Int* 1989; 9(3): 179-190.
23. Peter, C. P; *et al.* Increased Microbial Yield from Continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis Peritonitis Effluent after Chemical or Physical Disruption of Phagocytes. *Journal of Clinical Microbiology.* 1987; 25 (3): 580-583.
24. Hächler, H.V; *et al.* Centrifugation of 50 mL of peritoneal fluids is sufficient for microbiological examination in continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD) patients with peritonitis. *Infection.* 1986; 14(3): 102-104.
25. Marshall, R.J; *et al.* A simple lysis method for the culture of dialysis fluid from patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *J Hosp Infec.* 1992; 20(1): 59-60.
26. Mortier S, Lameire NH, De Vriese AS; The effects of peritoneal dialysis solutions on peritoneal host defense. *Perit Dial Int.* 2004; 24(2): 123-138.
27. Holley J. L. Moss A.H. A prospective Evaluation of Blood Culture Versus Standard Plate Techniques for Diagnosing Peritonitis in Continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis. *American Journal of Kidney Diseases* 1989; 13(3): 184-188.
28. Taylor PC. *et al*; Increased microbial yield from continuous ambulatory peritoneal dialysis peritonitis effluent after chemical or physical disruption of phagocytes. *J Clin Microbiol.* 1987, 25(3):580-583.
29. Yinnon A.M. Gabay D. Raveh D. Schlesinger et. al. Comparison of peritoneal fluid culture results from adults and children undergoing CAPD. *Perit Dial Int* 1999; 19 (1): 51-55.

30. Poole-Warren LA; Laboratory diagnosis of peritonitis in patients treated with continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Pathology*. 1986; 18(2):237-239.
31. Ludlam H. *et al*; A comparison of four culture methods for diagnosing infection in continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Journal Hospital Infection*. 1990; 16:263-269.
32. Ludlam H. Laboratory Diagnosis of Peritonitis in Patients on Continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis. *Journal of Clinical Microbiology*. 1988; 26(9):1757-1762.
33. Gould I.M; *et al*. Novel Plate Culture Method to Improve the Microbiological Diagnosis of Peritonitis in Patients on Continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis. *Journal of Clinical Microbiology*. 1988; 26(9): 1687-1690.
34. Than N. O; *et al*. A comparison of peritonitis rates from the United States Renal Data System database: CAPD versus continuous cycling peritoneal dialysis patients. *American Journal of Kidney Diseases*. 2005; 45(2).
35. Gillespie RS; *et al*. Peritonitis due to *Leuconostoc* species in a Child receiving peritoneal dialysis. *Pediatr Nephrol*. 2002; 17(11): 966-8.
36. Piraino B. Peritonitis as a complication of peritoneal dialysis. *Journal American Nephrol*. 1998; 9: 1956-64.
37. Shaev OR, Babadzhanov BD, Krotov NF; Cytology of peritoneal exudate as the criterion for phases of inflammation in diffuse purulent peritonitis. *Likdprara*. 2002(8): 47-49.
38. Do Vale A, Afonso A, Silva MT; The professional phagocytes of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.): cytochemical characterisation of neutrophils and macrophages in the normal and inflamed peritoneal cavity. *Fish shellfish Immunol*. 2002; 13(3): 183-198.
39. Dimkovic N, Pejnovic N, Radovanovic Lj. Local defense factors in the peritoneal cavity in patients on chronic peritoneal dialysis. *Srp Arh Celok Lek*. 1996; 124(24): 144-146.
40. Cameron J.L. Host defences in continuous ambulatory peritoneal dialysis and the genesis of peritonitis. *Pediatr Nephrol*. 1995; 9(5): 647-662.
41. Dobos GJ, Bohler J, Zhou XJ, Andre M, Norgauer J, Kownatzki E, Schollmeyer PJ, Vaziri ND. Persistent inhibition of neutrophil function by glucose based dialysis solutions. *ASAIOJ*; 1994 40(3): 435-439.

42. Betjes MG, Tuk CW, Visser CE, Zemel D, Krediet RT, Arisz L, Beelen RH; Analysis of the peritoneal cellular immune system during CAPD shortly before a clinical peritonitis. *Nephrol Dial Transplant*. 1994; 9(6): 684-692.
43. Von Graevenitz A, Amsterdam D; Microbiological aspects of peritonitis associated with continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Clin Microbiol Rev*. 1992; 5(1): 36-48.
44. Soluwicz W. Hanickiz; Functional characteristics of peritoneal macrophages of renal failure patients on peritoneal dialysis. Departamen of Nephrology Nicolaus Copernicus University Scol of Medicine CracawiPoland.
45. Koneman W.E. *Diagnostico Microbiológico. Texto y atlas a color*. 5ta Ed. Panamericana.
46. Avendaño L. H. *Nefrología Clínica*. 2da Ed. Panamericana. , Madrid. 2003.
47. Fenton P. Laboratory diagnosis of peritonitis in patients undergoing continuos ambulatory peritoneal diálisis. *J. Clin Pathol*. 1982; 35: 1181-1184.
48. Sheth NK. Bartell CA; In vitro study of bacterial growth in continuous ambulatory peritoneal dialysis fluids. *J. Clin Microbiol*. 1986; 23:1096-1098.
49. Berns MD Jeffrey *et.al* Preventing bacterial infections and antimicrobial resistance in dialysis patients. *Kidney Foundation*.2002.
50. Kiernan Laura, Kliger Alan, *et.al*; Comparison of continuos ambulatory peritoneal diálisis infections with differnt “Y-tubing” exchange systems. *Journal American Society of Neprology*. 1995; 5(10):1835-1838.
51. Keane F. William, Comty M. Christina *et.al*; opsonic deficiency of peritoneal dialysis effluent in continuos ambulatory peritoneal dialysis. *Kidney Internacional*. 1984; 25:539-543.
52. Topley N. *et.al*; the effect of dialysate on peritoneal phagocyte oxidative metabolism. *Kidney Internacional*. 1988; 34: 404-411
53. Vas I. Stephen; Microbiologic aspects of chronic ambulatory peritoneal dialysis. *Kidney Internacional*. 1983; 23: 83-92.
54. Fikrig M. Senith *et. al*: Antibody response to capsular Polysaccharide vaccine of *Streptococcus pneumoniae* in patients whith nephritic syndrome. *Journal Infec. Dis*. 1978; 137(6): 818-820.
55. Goldstein S. Carl, Bomalaski S. Jhon, *et.al*; Analysis of peritoneal macrophages in continuos ambulatory peritoneal dialysis patients. *Kidney Internacional*. 1984; 26: 733-740.
56. Rubin J. Lin M. *et.al*; Host defense mechanisms in continuos ambulatory peritoneal dialysis. *Clin Nephrology*. 1983; 20(3): 140-144.

57. Stittes M.D. Daniel *et. al*; Inmunología básica y clínica. Ed. el Manual Moderno.
D.F. 1998: 33.