

870127

18
2ej

Universidad Autónoma de Guadalajara

INCORPORADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS



**IMPLEMENTACION DE UN METODO PARA LA
RECUPERACION DE BACTERIAS DEL DIALIZADO
PERITONEAL**

**TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A
LUIS RICARDO QUEZADA MEDRANO**

Asesor: Q.F.B. SOCORRO PULIDO GARCIA

GUADALAJARA, JAL. 1990

FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

I N D I C E

	Página
INTRODUCCION	
CAPITULO I GENERALIDADES	
I.1 INSUFICIENCIA RENAL	1
I.1.1 ANTECEDENTES HISTORICOS	1
I.1.2 ETIOPATOGENIA	1
I.1.3 MANEJO DE LOS PRINCIPALES ELEMENTOS	
PROCESADOS POR EL RINON	2
A) AGUA	2
B) UREA	4
C) CREATININA	4
D) ACIDO URICO	5
E) POTASIO	5
F) MAGNESIO	6
G) FOSFATO	6
H) CALCIO	7
I) VITAMINA D	7
J) AMONIACO	9
I.2 DIALISIS PERITONEAL AMBULATORIA CONTINUA	10
I.2.1 VENTAJAS	10
I.2.2 PERITONITIS	11
I.2.3 PERITONITIS ASEPTICA	12
I.2.4 SIGNOS Y SINTOMAS	13

1.2.5	AGENTES ETIOLOGICOS	15
1.2.6	LEUCOCITOS	17
1.2.7	TRATAMIENTO DE LA PERITONITIS	18
CAPITULO 2	MATERIAL Y METODOS	
2.1	MATERIAL EQUIPO Y REACTIVOS	20
2.1.1	PREPARACION DE MEDIOS DE CULTIVO	20
2.2	METODOS	21
2.2.1	PROCEDENCIA Y SELECCION DE MUESTRA	21
2.2.2	TOMA DE MUESTRA	22
2.2.3	MANEJO DE MUESTRA	23
CAPITULO 3	RESULTADOS	25
CAPITULO 4	CONCLUSIONES Y DISCUSIONES	27
	BIBLIOGRAFIA	31
	RESUMEN	35

INTRODUCCION.-

DIALISIS: Se define como la separación de sustancias mediante una membrana semipermeable (17).

La diálisis peritoneal es una alternativa a la hemodiálisis en el tratamiento de la insuficiencia renal crónica, ya que permite al paciente movilidad y una forma mejor de vida. Desafortunadamente a pesar de que se han mejorado muchos métodos para disminuir la peritonitis asociadas con esta técnica, la peritonitis es todavía un problema para estos pacientes. El diagnóstico y tratamiento de peritonitis depende grandemente en la rápida recuperación e identificación de los organismos causantes a partir del dializado peritoneal.

Mientras que las técnicas de recuperación e identificación continúan refinándose, el número de pacientes con Diálisis Peritoneal Ambulatoria Continua (DIPAC) y el número de instituciones involucradas con el cultivo de dializados sigue en aumento (11).

La diálisis es un método de tratamiento que duplica algunas de las funciones que normalmente desempeñan los riñones. Durante la diálisis, se usa la cavidad peritoneal como depósito para la solución dializante, la que absorbe los desechos tóxicos de la sangre mediante la difusión. El balance natural tratará de equilibrar la concentración de sustancias a ambos lados del peritoneo, de manera que, después que se -

opera la infusión del líquido de diálisis, habrá una gran diferencia en las concentraciones de toxinas urémicas en la sangre y en el dializante. Por lo tanto, las moléculas difundirán a través de la membrana, a una velocidad proporcional a la diferencia de la concentración. La velocidad de intercambio molecular disminuirá a medida que aumente la concentración de toxinas urémicas en el dializante y disminuya en la sangre. En un momento dado el nivel de concentración será el mismo a ambos lados del peritoneo y la difusión en este momento finalizará (17).

El riñón, respondiendo a múltiples estímulos llegados de diversas partes del organismo, realiza numerosas funciones, - siendo las más importantes la eliminación de sustancias tóxicas, la regulación de la composición del medio interno y - la secreción de hormonas. Aunque, en sentido estricto, la incapacidad para realizar cualquiera de estas funciones podría definirse como insuficiencia renal crónica (IRC), en la práctica este último término es sinónimo de reducción del filtrado glomerular (4).

Este estudio está dirigido hacia la evaluación de una variedad de métodos que pudieran ser útiles al laboratorio clínico para lograr el crecimiento de gérmenes de capacidad intraleucocitaria obtenidos a partir del efluente de DIPAC - ya que la lisis física o química de los fagocitos frecuentemente incrementa el crecimiento microbiano de las muestras cultivadas.

CAPITULO I GENERALIDADES

1.1 INSUFICIENCIA RENAL.-

1.1.1 ANTECEDENTES HISTORICOS.-

El interés médico en el uso de la diálisis peritoneal como tratamiento para la insuficiencia renal comenzó a principios del siglo XX, cuando algunos investigadores descubrieron que el fluido que se infundía en la cavidad peritoneal tendía a equilibrarse con la sangre, química y osmóticamente agregando glucosa al fluido de infusión, se obtenía como resultado la extracción del exceso de agua del organismo que, posteriormente se drenaba. Esto llevó a la primera aplicación de la diálisis peritoneal para el tratamiento de la uremia aguda, por el Dr. G. Ganter en 1923.

1.1.2 ETIOPATOGENIA.-

Las etiologías más importantes responsables de la aparición de una insuficiencia renal crónica son:

- + Las glomerulonefritis que es más frecuente sobre todo en varones.
- + Las nefropatías intersticiales infecciosas ascendentes sobre todo en mujeres.
- + Enfermedades sistémicas.

En muchos tipos de enfermedad renal se destruyen gran número de nefronas, o se lesionan tan intensamente que las restantes no pueden llevar a cabo las funciones normales de los riñones, obligando así a un número de nefronas cada vez menor a efectuar un trabajo cada vez más intenso.

1.1.3 MANEJO DE LOS PRINCIPALES ELEMENTOS PROCESADOS POR EL RINON.-

A) AGUA.-

AGUA: Como no pueden excretar orina concentrada, los pacientes con insuficiencia renal deben ingerir y excretar más agua de lo normal para poder manejar la carga usual de solutos urinarios. La poliuria y la polidipsia son por lo tanto, de los primeros signos de daño progresivo de la función renal. La inversión del patrón diurno normal contribuye a la nicturia.

Como la poliuria es inevitable, una abstención relativamente corta de líquidos puede producir en seguida deshidratación. La falta de ingestión de líquidos y la administración de purgantes en la preparación para los estudios con rayos X pueden ser mortales en el paciente con insuficiencia renal que se encuentran en delicado equilibrio. En estos pacientes sugiere ser innecesario y peligroso el negar líquidos en la mañana, antes de extraer la sangre para hacer determinaciones --

químicas. En muchos pacientes, la poliuria nocturna causa -- sed en la madrugada y sensación de hambre al despertar, y -- estas rápidamente se transforman en náusea y vómito, con lo cual se perpetua el círculo vicioso de la deshidratación.

La eficiencia del riñón para excretar urea y otros solutos parece alcanzar un máximo a un volumen urinario de aproximadamente 3000 ml.; incluso el riñón enfermo no es mucho más efectivo a mayores volúmenes. Además, la capacidad para excretar agua está alterada en la mayoría de los pacientes con hiperazoemia.

MECANISMOS DE TRASTORNOS EN EL MANEJO DEL AGUA.

Entre los mecanismos invocados para explicar el profundo trastorno en el manejo de agua por el riñón enfermo figuran:

- 1.- Las alteraciones anatómicas que distorsionan las estructuras del sistema de contracorriente.
- 2.- La carga osmótica a que es sometida cada una de las nefronas residuales.
- 3.- Trastornos funcionales dependientes de alteraciones electrolíticas, como hipocalcemia e hipercalcemia.
- 4.- Falta de respuesta al ADH, consecutivas a las alteraciones anatómicas y/o a la presencia de toxinas urémicas (4).

B) UREA.-

UREA: La urea atraviesa fácilmente por difusión la mayor parte de las membranas celulares, y se encuentra en todas -- las secreciones corporales. La hidrólisis de la urea hasta -- dar amoniaco en la cavidad bucal, es la causa de olor característico de la uremia, y de mal sabor de boca en la uremia grave. La formación de amoniaco en el estómago e intestino -- por bacterias que producen ureasa podría explicar en parte -- la irritación del tubo digestivo y las llamadas "úlceras -- urémicas". La producción de amoniaco en el intestino durante la uremia permite volver a utilizar cierta cantidad de nitrógeno por aminación de las cadenas carbonadas de los ácidos -- aminados que pueden ser producidos en el organismo, y obtenido con los alimentos (7).

C) CREATININA.-

CREATININA: La cifra de creatinina plasmática guarda relación estrecha con la masa molecular del individuo, por ser -- un metabolito de la creatinina muscular. Para una determinada masa molecular, la eliminación urinaria de creatinina es prácticamente una constante; los niveles plasmáticos aumentarían en el I.R.C. para mantener esta eliminación. Teniendo -- en cuenta esta masa molecular, podemos decir que la medición de los niveles séricos de creatinina es un buen índice de -- función renal global. Los derivados de la creatinina tienen:

la toxicidad de la que ella carece.

D) ACIDO URICO.-

ACIDO URICO: Mediante un mecanismo muy complejo, es eliminado este producto terminal de las purinas. Por ello en situaciones de I.R.C. existe una tendencia a la hiperuricemia, que es parcialmente compensada por un incremento en la eliminación intestinal de este producto. A pesar de los niveles elevados de ácido úrico las manifestaciones clínicas de gota son excepcionales en estos pacientes.

La concentración sanguínea de ácido úrico puede elevarse tempranamente pero generalmente no pasa de 10 mg/100 ml., -- aún en insuficiencia renal grave (4,7).

E) POTASIO.-

POTASIO: Aunque los riñones son la vía principal para la excreción de los 50 a 80 mEq de potasio de una dieta normal, la hiperpotasemia no es una complicación común de la insuficiencia renal crónica, mientras el gasto urinario no se altera. El aumento de la secreción de aldosterona que se observa en ciertos enfermos con insuficiencia renal podría constituir un mecanismo de mayor secreción de potasio en presencia de una filtración disminuida. La secreción tubular de potasio aumenta con una dieta rica en sodio y se deprime cuando se reduce la excreción de sodio. Se ha encontrado que si el

suministro de potasio a partir de la dieta o de la destrucción de tejido no es excesivo, y si el gasto urinario es adecuado, usualmente la acidosis es causa de un nivel sérico -- elevado de potasio. Los iones hidrógeno son amortiguados por las proteínas intracelulares que liberan potasio al líquido -- extracelular (7).

F) MAGNESIO.-

MAGNESIO: La concentración de magnesio en el suero suele empezar a subir cuando la filtración glomerular decrece a -- menos de 30 ml. En una IRC la concentración de magnesio no se eleva lo suficiente como para causar síntomas.

G) FOSFATO.-

Normalmente las concentraciones de iones calcio y fosfato en el líquido extracelular son cercanas al límite de solubilidad de las sales de tipo fosfato de calcio. Por lo tanto, -- cuando aumenta la concentración de fosfato tiende a precipitarse fosfato de calcio en tejidos blandos y huesos al mismo tiempo que la cifra de calcio en el suero tiende a descen--- der. El fosfato se excreta por filtración glomerular, y se resorbe de ordinario cuando menos el 80% del fosfato filtra do, principalmente en el túbulo proximal. Cuando disminuye -- la filtración glomerular hay retención de fosfato, lo que re-- duce ligeramente la cifra de calcio en suero, apareciendo -- así un estímulo para la secreción de hormona paratiroidea. --

La acción de la hormona paratiroidea se traduce por una mayor resorción de fosfato por el túbulo renal, lo que tiende a normalizar las cifras séricas de calcio y fosfato.

12) CALCIO.-

El nivel sérico de calcio se encuentra característicamente disminuido en la descompensación renal. Una parte del decremento resulta de la disminución en la fracción ligada a proteínas ya que, a veces, la albúmina del suero está baja - pero la porción ultrafiltrable del calcio sérico también se encuentra regularmente reducida. La cifra de calcio ionizada desciende aún más a consecuencia de que este metal tiende a formar con los iones sulfato, fosfato y citrato complejos no disociados, pero solubles. Aunque la hiperfosfatemia contribuye a la hipocalcemia, es posible que la cifra sérica de calcio no se normalice, cuando el nivel de fósforo en suero está reducido por administración bucal de gel de hidróxidos de aluminio. Por esto, otros factores deben ser los causantes - parciales de la hipocalcemia en la insuficiencia renal (7).

13) LA VITAMINA D.-

La resistencia a la vitamina D en la uremia se basa fisiológicamente en la serie de transformaciones químicas que se requieren para que el calciferol se transforme en la variedad activa de la vitamina. Normalmente, este resultado se consigue a través de una serie de etapas de hidroxilación --

que tiene lugar en el hígado y el riñón. La vitamina D₃ se transforma en 25-hidroxicolecalciferol en el hígado. A su vez, este compuesto es hidroxilado por los riñones hasta dar 1,25 hidroxicolecalciferol, más potente que cualquiera de los demás derivados del calciferol en cuanto a estimulación del transporte de calcio por el intestino. Cuando se han destruido grandes cantidades de tejido renal, cabe suponer que disminuye la formación del metabolito activo. Puesto que el fósforo sérico es uno de los factores que regula la hidroxilación renal del 25-OH-D, la formación del metabolito activo 1,25-OH disminuye aún más a consecuencia de la retención de fosfato durante la insuficiencia renal (7).

Las osteopatías de la insuficiencia renal obedecen a varias causas: hiperactividad de la paratiroides, alteraciones del metabolismo de la vitamina D, pérdida de calcio por las heces y acidosis. La aparición de una osteodistrofia parece estar determinada por la velocidad de crecimiento del esqueleto y por la cronicidad de la insuficiencia renal. En consecuencia la osteodistrofia renal es más común en los niños y en paciente con anomalías congénitas del riñón o con un padecimiento renal lentamente progresivo como es la pielonefritis crónica con presión sanguínea normal.

El nivel sérico de la fosfatasa alcalina es usualmente alto, pero puede ser normal. Es común un retardo en el crecimiento. Las articulaciones hinchadas y dolorosas, muchas veces con depósitos de calcio en el saco articular, pueden pa-

recerse a la gota clásica. La debilidad muscular proximal -- que produce una marcha peculiar se puede confundir con miopatía o neuritis, pero mejora impresionantemente con la administración de vitamina D. Se observa una alarmante frecuencia de necrosis aséptica de la cadera en los enfermos de insuficiencia renal, en particular si se les mantiene por largo tiempo mediante diálisis o injerto de riñón. El empleo de esteroides explica algunos de estos casos, pero muchos de estos pacientes nunca llegan a recibir esteroides (7).

3) AMONIACO.-

La IRC suele acompañarse de grados variables de acidosis metabólica, reflejo de la dificultad del riñón para eliminar el exceso de hidrogeniones ingeridos con la dieta y generados en el catabolismo renal de los principios inmediatos.

De los mecanismos normalmente operantes para desembarazar se de los hidrogeniones, el que se ve afectado en fomar más importante y temprana es la generación de amoniaco. Tanto en la reducción de la masa tubular como en el aporte de substrato (glutamina) por el descenso del flujo plasmático renal -- pueden explicar este defecto en la amoniogénesis (4,7).

1.2 DIÁLISIS PERITONEAL AMBULATORIA CONTINUA

1.2.1 VENTAJAS.-

La diálisis ambulatoria ha sido creada, como una alternativa más, entre las diferentes formas de tratamiento de la insuficiencia renal, con ventajas importantes sobre otros métodos, como son:

- 1.- Puede ser hecha en forma completa por el propio paciente en su casa, lo cual le evita depender de otras personas y tener que asistir frecuentemente al hospital
- 2.- Lo anterior le da una gran libertad para llevar a cabo sus actividades, disponiendo su tiempo en la forma que más le convenga.
- 3.- No necesita de ninguna instalación especial.
- 4.- No produce cambios bruscos en el organismo, que si ocurren con otras formas de diálisis y que frecuentemente se acompañan de síntomas desagradables.

Por todo lo anterior, la diálisis ambulatoria se ofrece como una forma de tratamiento que permite llevar una vida casi normal, libre de los problemas que producen la insuficiencia renal y otras formas de tratamiento.

1.2.2 PERITONITIS.-

La ruta de infección de la peritonitis en DIPAC se cree que sea a través de la pared abdominal a través del catéter peritoneal. La peritonitis ocurrirá al menos en un 50% de los pacientes con DIPAC (12).

La peritonitis, especialmente cuando es tratada demasiado tarde o inadecuadamente puede causar falla del catéter, la formación de adherencias o fibrosis de la membrana peritoneal. La contaminación de la pared abdominal o la presencia de una irritación de la piel en el momento de la implantación del catéter presentan un alto riesgo de infección primaria asociada con el catéter. La infección secundaria puede ser fomentada por la negligencia en el cuidado diario, por filtración, por corrosión del mango, y por el trauma acompañado a hemorragia (17).

Algunos pacientes que albergan crónicamente estafilococo aureus en la nasofaringe se reconocen como propensos a desarrollar infecciones recurrentes de la piel en el punto de salida del catéter.

Las vías potenciales pero no comunes de infección peritoneal son la perforación o laceración de las vías urinarias o intestinales durante la colocación del catéter por otras causas de perforación visceral (ejemplos: diverticulitis o necrosis estercaria de los intestinos). La peritonitis pue-

de ser hemat6gena, y las bacterias pueden alcanzar la cavidad peritoneal a lo largo del exterior de cat6ter siguiendo una infecci6n del mango y del t6nel, o por via del aparato genital femenino. El lquido peritoneal se puede contaminar sin que ocurra una infecci6n. En este caso, el n6mero de c6lulas en el fluido peritoneal no aumenta. Este tipo de infecci6n es siempre asintom6tico y generalmente se descubre incidentalmente al tomar cultivos de rutina. Dicha contaminaci6n de grado menor del lquido peritoneal suele desaparecer espont6neamente y por lo tanto no tiene importancia, a menos que conduzca en el futuro, a la infecci6n (17).

1.2.3 PERITONITIS ASEPTICA.-

La peritonitis "as6ptica" (irritaci6n peritoneal) puede ser causada por impurezas qu6micas o pir6genos en la soluci6n, por el pH, o por la liberaci6n repentina de pus est6ril de quistes intraabdominales o bolsas de lquido que hayan quedado de peritonitis anteriores. El diagn6stico de la peritonitis as6ptica (o est6ril, qu6mica o criptog6nica) se hace por exclusi6n. A pesar de que bajo ciertas circunstancias se sospeche de peritonitis as6ptica, es aconsejable tratar cualquier episodio de peritonitis como si fuera bacteriana o f6ngica hasta que se pruebe lo contrario. Esta patologa puede ser indistinguible de la peritonitis infecciosa, pero generalmente responde r6pidamente a la eliminaci6n (pir6geno) o correcci6n (pH) de los factores causales y al lava

do peritoneal. La rápida mejoría de los síntomas y la ausencia de células del líquido drenado después del lavado junto con la falta de crecimiento dentro de los siguientes 4 días, son las indicaciones diagnósticas de la peritonitis aséptica, sin olvidar las excepciones antes mencionadas de los organismos de crecimiento lento (17).

1.2.4 SIGNOS Y SÍNTOMAS.-

La diálisis peritoneal implica varios tipos más o menos característicos de dolor abdominal:

1.- Dolor causado por el procedimiento de implantación del catéter. Este dolor debe aliviarse en pocos días. Está claramente localizado en la pared abdominal, y rara vez necesita administración de narcóticos.

2.- Dolor o incomodidad en áreas pélvicas más profundas, generalmente identificadas por el paciente como localizadas en áreas específicas (recto, vagina, vejiga, raíz del pene), el cual probablemente es causado por la punta del catéter que irrita estas u otras estructuras adyacentes. Una sensación de punzada puede persistir por días, y a veces por semanas, y puede estar asociada con "dolor de succión" hacia el final de cada pase del fluido cuando la cavidad peritoneal ya está casi vacía. En casi todos los pacientes la irritación cesa eventualmente. Si el dolor persiste se deberá in-

investigar el motivo de éste.

En algunas ocasiones la irritación local de la pelvis por el catéter no sólo ha causado dolor, sino la recuperación de la solución de diálisis ligeramente turbia. Sin embargo, en este caso, los cultivos repetidos de la solución han resultado negativos. El añadir esteroides a la solución ha aliviado los síntomas y reducido el número de células presentes en la solución de diálisis (aunque no a nivel normal); solo el reemplazo del catéter ha aliviado el dolor y eliminado las células presentes del efluente.

3.- En un 10% - 15% de los pacientes se presenta un dolor causado por el pH ácido de soluciones de diálisis comerciales. En términos generales, el dolor comienza poco después de empezar la infusión, culmina inmediatamente después de terminar y luego se alivia gradualmente, solo para volver con cada periodo de infusión subsecuente. La susceptibilidad al dolor causado por el pH varía ampliamente de paciente a paciente, pero puede ser extremadamente doloroso. Parece que con el tiempo muchos pacientes van adquiriendo una mayor tolerancia a las soluciones ácidas.

4.- El aire libre dentro de la cavidad peritoneal puede producir dolor, generalmente entre los omóplatos, o en los hombros o cuello, si el paciente está sentado o parado. El dolor suele agudizarse en el lado derecho.

5.- A pesar de que el dolor es a menudo el principal --
síntoma de la peritonitis, no siempre indica esta patología,
hasta que se pruebe lo contrario, el dolor y la presencia de
solución de diálisis turbia o nublada se debe considerar --
siempre como síntoma de peritonitis (17).

6.- Entre otros podemos encontrar :

- náuseas	34.9 %
- vómitos	29.6 %
- fiebre	33.6 %
- escalofríos	22.6 %
- diarrea	6.8 %

1.2.8 AGENTES ETIOLÓGICOS.-

Muchos episodios de la peritonitis de DIPAC están asoci-
dos con organismos normalmente reconocidos como comensales -
de la piel y referidos como contaminantes cuando son aisla-
dos en cultivos de especímenes clínicos (13).

Los efluentes de DIPAC remitidos al laboratorio después -
de haber comenzados los síntomas de peritonitis usualmente -
contienen suficiente exudado de células inflamatorias para -
causar turbidez. Sin embargo, los microorganismos recobrados
de estos especímenes son característicamente pocos en número
dando por lo tanto muy poco crecimiento, requiriendo así un
cuidado particular para su crecimiento (13).

Entre los agentes patógenos aislados hasta el momento en líquido de diálisis tenemos :

- + Staphylococcus (coagulasa negativos)
- + Staphylococcus aureus
- + Streptococcus faecalis
- + Streptococcus mitis
- + Streptococcus pneumoniae
- + Bacillus sp.
- + Corynebacterium sp.
- + Pseudomonas aeruginosa
- + Pseudomonas mesophilica
- + Escherichia coli
- + Proteus mirabilis
- + Klebsiella ozanae
- + Klebsiella pneumoniae
- + Citrobacter sp.
- + Serratia marcescens
- + Acinetobacter calcoaceticus
- + Sporothalomyces salmonicolor
- + Enterococcus
- + Peptoestreptococcus
- + Torulopsis glabrata
- + Candida albicans

La ingestión previa de antibióticos cambia la flora de la piel y predispone a la peritonitis por Gram negativos (19).

1.2.6 LEUCOCITOS.-

Se ha citado la localización intraleucocítica de algunos patógenos asociados con la peritonitis de DIPAC. Las tinciones de gram del efluente muestra raramente la presencia de microorganismos, pero cuando aparecen los microorganismos parecen estar adheridos o secuestrados dentro de los fagocitos usualmente granulocitos, o bien, envueltos entre los coágulos de fibrina, resultando falsas cuentas de gérmenes viables cuando son cultivados en medios de cultivo convencionales (13).

Parece ser que las bacterias una vez secuestradas por los fagocitos, y cultivadas en los medios de cultivo convencionales son rápidamente inactivadas (3).

Los líquidos para diálisis producen un efecto adverso sobre la actividad fagocítica y bactericida de los polimorfonucleares aunque no sobre su viabilidad. Se ha demostrado que los estafilococos permanecen viables dentro de los polimorfonucleares por lo menos 22 horas para después crecer en forma logarítmica una vez destruido el fagocito. Los estafilococos fagocitados están bien protegidos contra la acción antibacteriana de algunos agentes que no penetran la membrana celular, como las penicilinas, cefalosporinas, aminoglicosidos y vancomicina (19).

Se ha citado el crecimiento de estafilococo después del tratamiento de una fracción del dializado con lisostafina; éste es un procedimiento que mata solo a los estafilococos extracelulares, indicando la capacidad intraleucocitaria de éste (19).

Se ha indicado que aunque las soluciones comerciales para DIPAC no son medios que propicien el crecimiento bacteriano, este es modificado durante el tiempo que transcurre en la cavidad intraperitoneal, y viene siendo así un medio propicio para la multiplicación bacteriana. La sobrevivencia de las bacterias contaminantes de la cavidad peritoneal depende en gran parte de las especies microbianas presentes, tanto como de la composición del líquido de la cavidad peritoneal en el momento de la inoculación. La difusión de muchas proteínas de huésped hacia el fluido de DIPAC cambia la acidez y la osmolaridad del fluido en valores significativos (12).

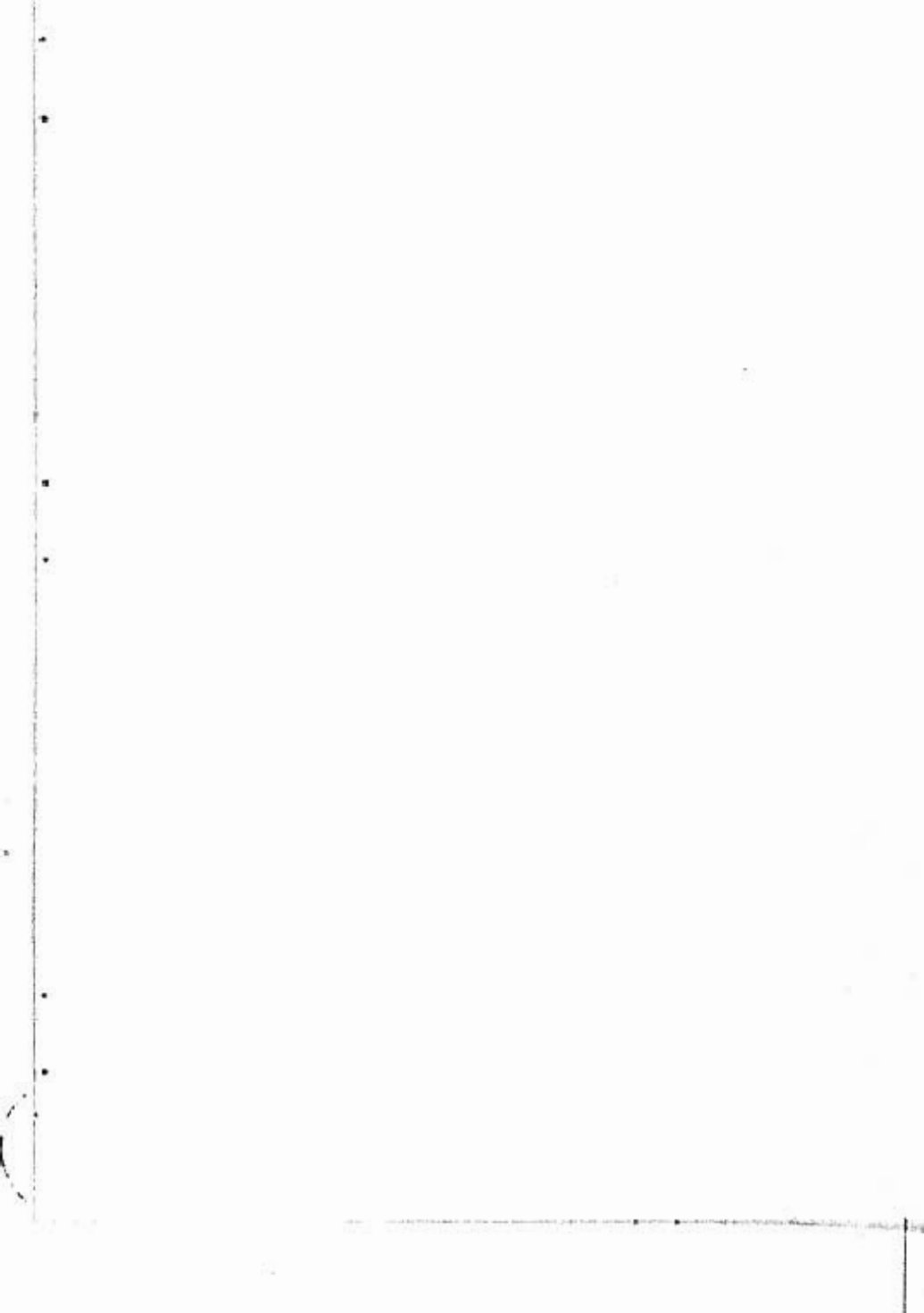
1.2.7 TRATAMIENTO DE LA PERITONITIS.-

Aunque la antibioticoterapia es usualmente comenzada empíricamente después del diagnóstico de peritonitis en pacientes con DIPAC, el aislamiento y la identificación del organismo patógeno es todavía importante para determinar si la terapia antibiótica es adecuada (2).

La peritonitis asociada con la diálisis peritoneal está localizada generalmente en la cavidad peritoneal, por lo me-

nos al principio. Por lo tanto, una manera casi ideal de tratar esta patología es el lavado con antibióticos. Generalmente no se requiere un terapia sistemática, a menos que haya - síntomas sistemáticos o señales de infección. El lavado con antibióticos es especialmente útil cuando se vayan a usar antibióticos potencialmente tóxicos (neuro-ototóxicos) ya que con este método de administración se pueden tener altos niveles intra-abdominales de antibióticos y fácilmente se pueden controlar los niveles sanguíneos de éstos, los cuales no deben exceder los niveles en la solución. Al mismo tiempo, el lavado extrae los desperdicios celulares, productos tóxicos de desperdicio y pirógenos, y disminuyen las concentraciones intra-abdominales de bacterias, a la vez que reduce el riesgo de loculación adherencia y formación de abscesos (17).

Los líquidos de diálisis disminuyen gradualmente la actividad los aminoglicósidos tal vez debido a que son muy sensibles al pH del medio, niveles de cationes divalentes altos, potencial de óxido reducción y a la presencia de factores - derivados del huésped en el medio (19).



C A P I T U L O I I I

MATERIAL Y METODOS

2.1 MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS.-

2.1.1 PREPARACION DE MEDIOS DE CULTIVO.-

+ AGAR SANGRE SAPONINA (ASS)

AGAR COLUMBIA	8.4 gr.
SANGRE HUMANA	14 ml.
SAPONINA	0.1 ml.
AGUA DESTILADA	200 ml.

+ AGAR SANGRE SAPONINA CONCENTRADO (ASSC)

AGAR COLUMBIA	8.4 gr.
SANGRE HUMANA	14 ml.
SAPONINA	1.0 ml.
AGUA DESTILADA	200 ml.

+ AGAR SANGRE TWEEN 80 (AST)

AGAR COLUMBIA	8.4 gr.
SANGRE HUMANA	14 ml.
TWEEN 80	4.0 ml.
AGUA DESTILADA	200 ml.

+ AGAR SANGRE TWEEN 80 CONCENTRADO (ASTC)

AGAR COLUMBIA	8.4 gr.
---------------	---------

SANGRE HUMANA	14 ml.
TWEEN 80	10.0 ml.
AGUA DESTILADA	200 ml.

+ CALDO BHI (BHI)

EXTRACTO BHI	7.4 gr.
EXTRACTO DE LEVADURA	1.9 gr.
AGUA DESTILADA	200 ml.

VACIAR A CADA TUBO 15 ml. DE CALDO Y ESTERILIZAR

+ SAPONINA 1%

0.5 gr. DE SAPONINA DILUIR CON 50 ml. DE SOLUCION FISIOLOGICA ESTERIL.

+ TWEEN 80 0.5%

0.5 ml. DE TWEEN 80 DILUIR CON 100 ml. DE BUFFER DE FOSFATOS.

3.2 METODO

3.2.1 PROCEDENCIA Y SELECCION DE MUESTRA.-

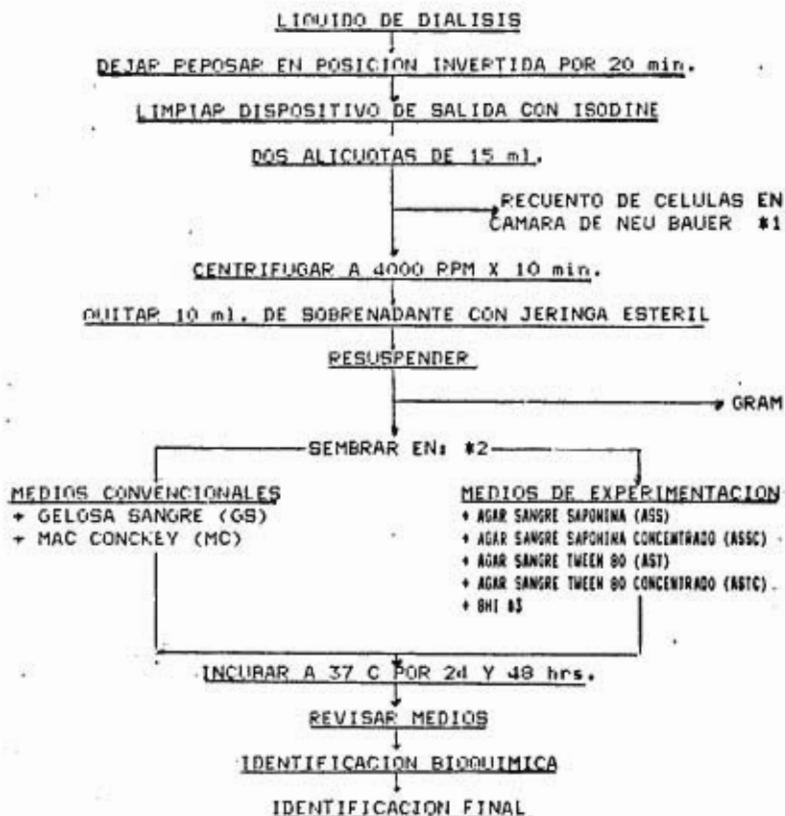
El presente estudio se realizò en un total de 46 bolsas - de diálisis tomadas al azar procedentes de personas de edad variable, de ambos sexos con Diálisis Peritoneal Ambulatoria Continua. Cada muestra fue procesada e inoculada en los medios de cultivo experimentales y rutinarios, incubados por - 24 y 48 hrs. observándose si había o no crecimiento bacte--

riano para después hacer la identificación bioquímica y serológica de los diferentes microorganismos aislados.

3.3.3 TOMA DE MUESTRA.-

Las muestras fueron tomadas en diferentes unidades de hemodiálisis bajo condiciones estrictas de asepsia y transportadas de inmediato al laboratorio para su análisis. En caso de que la muestra no pudiera ser analizada de inmediato se mantenía en refrigeración a temperatura ente 4 y 8 C por un tiempo menor de 24 hrs.

2.2.3 MANEJO DE MUESTRA.-

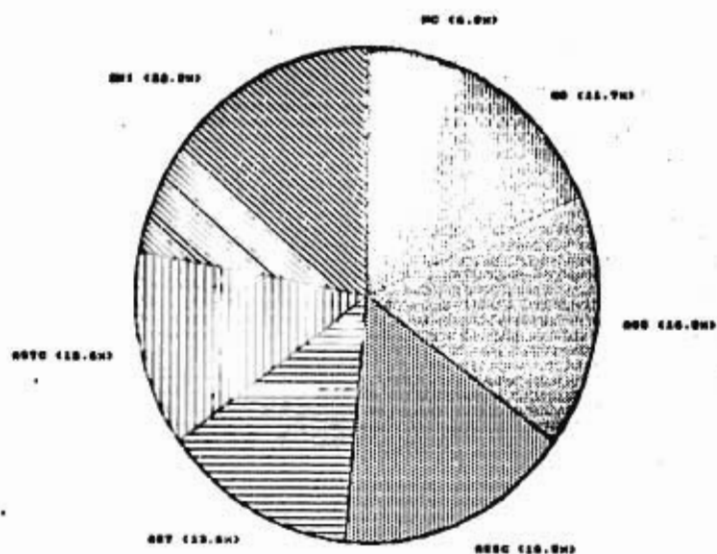


#1 HACER RECUENTO CELULAR CON EL USO DE PIPETAS DE THOMA -- PAPA GLOBULOS BLANCOS Y COLORANTE DE CONTRASTE.

#2 SEMBRAR POR ESTRIACION SIN QUEMAR EL ASA. DEPOSITAR EN -- CADA CAJA DE 2 A 3 GOTAS DE EL LIQUIDO.

#3 EN EL CALDO BHI INOCULAR 1.5 ml. DE LIQUIDO, Y HACER RE-- SIEMBRA EN MEDIOS DE CULTIVO SOLIDOS A LAS 24 HRS.

GRAFICA COMPARATIVA DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS ENTRE LOS MEDIOS DE CULTIVO DE EXPERIMENTACION USADOS Y LOS CONVENCIONALES A LAS 72 HRS. DE INCUBACION.



CAPITULO III

RESULTADOS

Se procesaron un total de 46 bolsas de liquido de diálisis procedente de pacientes con DIPAC observandose los siguientes resultados:

NUMERO DE CEPAS RECOBRADAS EN LOS MEDIOS DE CULTIVO UTILIZADOS.

	MC.	GS.	ASS.	ASSC.	AST.	ASTC.	BHI.	TOTAL
<u>Staphylococcus aureus</u>	0	0	0	1	0	0	3	3
<u>Pseudomonas aeruginosa</u>	4	4	4	4	4	3	4	4
<u>E. coli anaerogénica</u>	2	2	2	2	2	2	3	3
<u>Klebsiella pneumoniae</u>	1	1	1	1	1	1	1	1
<u>Staphylococcus coag(-) β hem</u>	0	3	6	5	4	4	7	7
<u>Acinetobacter calcoaceticus</u>	0	1	1	1	1	1	1	1
<u>Staphylococcus coag(-) γ hem</u>	0	1	1	1	1	1	2	2
<u>Cedecea sp.</u>	0	0	1	1	1	1	1	1
<u>Enterobacter cloacae</u>	0	0	1	1	0	0	1	1
TOTAL DE MUESTRAS POSITIVAS	7	12	17	17	14	14	23	23

POR LO ANTERIOR SE OBSERVA QUE EL PORCENTAJE DE MUESTRAS POSITIVAS ES DE UN 50%. EL MAYOR NUMERO DE CEPAS AISLADAS CORRESPONDIO A ESTAFILOCOCO COAGULASA NEGATIVO EN UN TOTAL DE 7 CEPAS (16.3%).

CAPITULO IV

4.1 CONCLUSIONES Y DISCUSIONES.-

Se ha observado cambios radicales en muestras procesadas a diferente horas de tomas procentes del mismo paciente; a continuación se menciona el caso siguiente; en la muestra -- inicial mostró un recuento celular bajo (menor de 100 células) y también con un recuento de colonias bacterianas muy - disminuido (menor de 10 UFC), en las muestras siguientes hubo un notable incremento en el recuento celular y con un aumento de colonias bacterianas (más de 100 UFC).

En 6 pacientes (13.95%) se observó que tenían un número - elevado en el recuento celular y con cultivo negativo; las - causas de este fenómeno se desconocen, discutiéndose que esto puede deberse a una respuesta de tipo celular por parte - del huésped a el catéter.

Dos pacientes que presentaron infección primeramente por estafilococo coagulasa negativo, desarrollaron posteriormente una infección debida a bacterias gram negativas; uno por Enterobacter cloacae, y el otro paciente por Cederea sp. grupo entérico 15).

Generalmente el número de colonias bacterianas aumenta en forma paralela al del conteo celular, pero la cuenta celular

disminuye mas lentamente que el número de colonias bacterianas. Sin embargo se pueden obtener cultivos positivos con -- cuentas bajas celulares, tal parece que en infecciones producidas por gram positivos, la respuesta celular del huésped -- está disminuida.

Los líquidos de diálisis producen un efecto adverso sobre la actividad fagocítica y bactericida de los polimorfonucleares aunque no sobre su viabilidad.

Un paciente mostró infección mixta producida por 2 cepas diferentes de estafilococo coagula negativo; una de ellas -- hemolítica y otra no hemolítica, recuperándose ambas de los siguientes medios: ASS, ASSC, AST, ASTC. Así mismo se trató de recobrar ambas cepas del caldo BHI, aislandose solo la -- cepa no hemolítica.

Con el uso de saponina y de tween 60 en los medios de cultivo se logró un incremento en la hemólisis en los medios de cultivo, producidas por la hemolisinas bacterianas, tal vez debido a un sinergismo entre las hemolisinas y el tensoactivo. Se observó también que en éstos medios habia un incremento en el tamaño de las colonias, así como en número.

Las tinciones de Gram del efluente muestra raramente la -- presencia de microorganismos pero cuando aparecen, parecen -- estar adheridos o secuestrados dentro de los fagocitos usualmente granulocitos, o bien envueltos entre los coágulos de --

fibrina, resultando falsas cuentas de gérmenes viables cuando son cultivados en medios de cultivo convencionales.

Se concluye que es recomendable el uso del medio de cultivo Agar Sangre Saponina Concentrado (ASSC) conjuntamente con el caldo BHI para el cultivo de diálizado peritoneal; ya que es posible que mediante el uso de esta metodología lograr un incremento en la recuperación de microorganismos del líquido de pacientes con diálisis peritoneal ambulatoria continua.

Con la realización de esta investigación se pudo efectuar un estudio comparativo con respecto a lo publicado por I. M. Gould (3) y P. C. Taylor (13) en lo cual indican una mayor recuperación de microorganismos en los medios de aislamiento que ellos investigaron (ASS, AST). En nuestra experiencia los resultados no fueron tan satisfactorios ya que el Agar - Sangre Tween 80 resultó con cierto grado de inhibición sobre el crecimiento bacteriano, y en el Agar Sangre Saponina no hubo tanto incremento en la recuperación bacteriana.

De acuerdo con lo anteriormente expuesto se propone que - las subsecuentes investigaciones a este estudio, estén encaminadas a evaluar un medio de cultivo más satisfactorio incorporando otras sustancias tensoactivas no iónicas por ejemplo tween 20, digitonina, brij 96 (16) para el cultivo del diálizado peritoneal. Se debe considerar también el uso de esta técnica para el cultivo de rutina de otros fluidos con una alta concentración de leucocitos, como líquido cefalorra-

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

quideo, ascítico y líquidos pleurales.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- WEST TIMOTHY E.; WALSH J.J., Staphylococcal Peritonitis in Patients on CAPD, Journal of Clinical Microbiology, vol. 23, No.5, p1050-1053, 1986.
- 2.- DAWSON M.; HARFORD J., Total volume culture technique -- for the isolation of microorganisms from CAPD patients with peritonitis, Journal of Clinical Microbiology, --- vol. 22, No.3, p874-901, 1986.
- 3.- GOULD I.M.; REEVES I., Novel plate culture to improve -- the microbiological diagnosis of peritonitis in patients on CAPD, Journal of Clinical Microbiology, vol. 26, No.9 p532-536, 1988.
- 4.- RODRIGUEZ PUYOL D.; HERNANDEZ L., Insuficiencia renal -- crónica, Medicina No. 29, p375-386, 1986.
- 5.- ALEXANDER W.; MAC DONALD; WATTS J., Factor affecting -- staphylococcus epidermidis growth in peritoneal dialysis solutions, Journal of Clinical Microbiology, vol.24, --- No.1, p987-989, 1986.
- 6.- KRUPP A.MARCUS, CHATTON J., Diagnóstico Clínico y Tratamiento, Ed. Manual Moderno, 23a. Edición. México.
- 7.- HARRISON, Medicina Interna, Ediciones Científicas Ld ---

- 7.- HARRISON, Medicina Interna, Ediciones Cientificas La ---
Prensa Médica Mexicana S.A., 5a. edición, Tomo II.
- 8.- GUYTON ARTHUR C., Tratado de Fisiología Médica, Edito---
rial Interamericana, 5a. Edición. 1979
- 9.- OREOPOULOS D.G.; VAS S.I.; FENTON J.S., Peritoneal Diali
sis Bulletin, Aspectos Clínicos de la Peritonitis en pa
cientes en CAPD, Suplemento Tomo II, No.6, 1981.
- 10.- RUTHERFORD P.C.; NORKOWICZ J.E., Peritonitis caused by
Pseudomonas mesophilica in a patient undergoing CAPD,
Journal of Clinical Microbiology, vol.26, No.11, - - -
p567-570, 1989.
- 11.- RYAN B., FESSIA SANDRA, Improved method for recovery,
of peritonitis-causing microorganisms from peritoneal -
dialysate, Journal of Clinical Microbiology, vol. 25, -
No. 2, p765-767, 1987.
- 12.- VERBRUGH H.A., KEANE W.F., Bacterial growth and killing
in chronic ambulatory peritoneal dialysis fluids, Jour-
nal of Clinical Microbiology, vol.20, No.2, p35-38,1984
- 13.- TAYLOR P.C.; PAULEN-WARREN L.A., Increased microbial -----
yield from CAPD effluent after chemical or physical dis
ruption of phagocytes, Journal of Clinical Microbiology
vol. 25, No. 3, p 1021-1024, 1987.

- 14.- LYNCH; RAPHAEL; MELLOR; SPARE; INWOOD, Métodos de Laboratorio, Ed. Interamericana, 2a. edición, 1972.
- 15.- VAS S.I.; LAW L., Microbiological diagnosis of peritonitis in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis, Journal of Clinical Microbiology, vol. 21, No.4, p986-990, 1985.
- 16.- H. ZIERDT CHARLES, Simplified lysed-blood culture technique, Journal of Clinical Microbiology, vol. 23, No. 3 1986.
- 17.- POPOVICH R.P.; MONCKIEF J.W.; NOLPH K.D.; GHODI A.J., TWARHOWSKI Z.J.; PYLE W.K., Continuous ambulatory peritoneal dialysis, Annual of Internal Medicine, p76-78, 1978
- 18.- W. DOYLE PATRICK; CRICHTON ERIKA P; MATHIAS R.G.; WORB Clinical and microbiological evaluation of four culture methods for the diagnosis of peritonitis in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis, Journal of -- Clinical Microbiology, vol. 27, No. 6, p123-126, 1989.
- 19.- BUGGY B.P; SCHABER D.R; SWARTZ R.D, Intraleucocytic sequestration as a cause of persistent Staphylococcus aureus peritonitis in continuous ambulatory peritoneal dialysis, The American Journal of Medicine, vol. 76, -- p578-583, 1984.

- 20.- D.J STROKELY; J.T KWAN; M.R BENDING; A.T CHIN; EISINGER
Isolation of organisms in CAPD peritonitis; use of nu-
trient broth cultures and Bactec blood culture media, -
Journal of Hospital Infections, vol 11, No 1, p5-9, 1988
- 21.- I.M.GOULD; M.W .CASEWELL, The laboratory diagnosis of
peritonitis during continuous ambulatory peritoneal dia-
lysis, Journal of Hospital Infections, vol. 7, No. 2,
p 790-793, 1986.

RESUMEN

La diálisis peritoneal es una alternativa a la hemodiálisis en el tratamiento de la insuficiencia renal crónica.

Desafortunadamente a pesar de que se han mejorado muchos métodos para disminuir la peritonitis asociadas con esta técnica, la peritonitis es todavía un problema para estos pacientes. El diagnóstico y tratamiento de peritonitis depende grandemente en la rápida recuperación e identificación de los organismos causantes a partir del dializado peritoneal.

Este estudio está dirigido hacia la evaluación de una variedad de métodos que pudieran ser útiles al laboratorio clínico para lograr el crecimiento de gérmenes de capacidad intraleucocitaria obtenidos a partir del efluente de DIPAC ya que la lisis física o química de los fagocitos frecuentemente incrementa el crecimiento microbiano de las muestras cultivadas.

La ruta de infección de la peritonitis en DIPAC se cree que sea a través de la pared abdominal y del catéter peritoneal. Muchos episodios de la peritonitis de DIPAC están asociados con organismos normalmente reconocidos como comensales de la piel y referidos como contaminantes cuando son aislados en cultivos de especímenes clínicos (13).

El presente estudio se realizó en un total de 46 bolsas - de diálisis tomadas al azar procedentes de personas de edad variable, de ambos sexos con Diálisis Peritoneal Ambulatoria Continua. Cada bolsa fue procesada e inocuada en los medios de cultivo experimentales y rutinarios, incubados por 24 y - 48 hrs. observándose si había o no crecimiento bacteriano para después hacer la identificación de los diferentes tipos - morfológicos. De las 46 muestras procesadas un total de 23 -- fueron positivas en el cultivo para alguna bacteria, notándose con esto que la incidencia de infecciones en estos pacien- tes es elevada.

Es recomendable el uso del medio de cultivo Agar Sangre - Saponina Concentrado (ASSC) conjuntamente con el caldo BHI - para el cultivo de diálisis peritoneal; ya que es posible -- que mediante el uso de esta metodología lograr un incremento en la recuperación de microorganismos del líquido de pacien- tes con diálisis peritoneal ambulatoria continua.