

El cultivo del sedimento de 50 mL no mejora sustancialmente el diagnóstico de peritonitis asociada a diálisis

Palabras clave: Peritonitis asociada a diálisis, diagnóstico, técnicas de cultivo.

Key words: Dialysis-associated peritonitis, diagnosis, culture techniques.

Recibido: 17/04/2007
Aceptado: 23/04/2007

Manuel Rodríguez-Frausto,* Humberto Medina,**
Alejandro E Macías*****

* Instituto Mexicano del Seguro Social; León, Guanajuato. México.

** Facultad de Medicina de la Universidad de Guanajuato. León, Guanajuato. México.

*** Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición «Salvador Zubirán».

Correspondencia:

Alejandro E Macías

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición «Salvador Zubirán»

Vasco de Quiroga Núm.15. México, D.F. 14000. Teléfono 55 55738803,

E-mail: aaeemmh@yahoo.com

72

Resumen

Antecedentes: Para mejorar el diagnóstico de peritonitis asociada a diálisis, se ha propuesto cultivar el sedimento del centrifugado de 50 mL. **Métodos:** Se incluyeron 144 muestras de 144 pacientes con peritonitis asociada a diálisis sin tratamiento antibiótico previo. La siembra en frasco de hemocultivo fue el estándar de oro. Las muestras se procesaron por tres métodos: 1) siembra de sedimento; 2) siembra directa; 3) siembra en frasco de hemocultivo. El resultado del cultivo y la identificación de los gérmenes fueron cegados. **Resultados:** La siembra en frasco de hemocultivo produjo 92 aislamientos (63.9%). Del cultivo de sedimento se obtuvieron 73 aislamientos (50.7%), con sensibilidad de 0.76 y especificidad de 0.95. El cultivo directo encontró 54 aislamientos (37.5%), con sensibilidad de 0.57 y especificidad de 0.95. **Conclusiones:** Cuando se compara con el estándar de oro, el cultivo del sedimento es laborioso y no mejora sustancialmente la eficacia del diagnóstico.

Abstract

Culturing the centrifuged pellet of 50 mL does not improve significantly the diagnosis of dialysis-associated peritonitis. **Background:** To improve the diagnosis of dialysis-associated peritonitis, culturing the centrifuged pellet of 50 mL has been proposed. **Methods:** Study of 144 specimens from 144 patients with peritonitis associated to dialysis, without antibiotic treatment. The specimens were processed by three methods: 1) direct plating; 2) culturing the pellet of 50 mL; and 3) inoculating 10 mL in blood-culture bottle (gold standard). The result of the cultures and the identification of the germs were blinded. **Results:** Culture in blood-culture bottles rendered 92 isolates (63.9%). Of the centrifuged specimens, 73 isolations were obtained (50.7%), with sensitivity of 0.76, and specificity of 0.95. The technique of direct culture in agar plate found 54 isolations (37.5%) with sensitivity of 0.57, and specificity of 0.95. **Conclusions:** When compared against the gold standard, culturing the sediment of 50 mL is cumbersome and it does not significantly improve the efficiency of culturing the dialysis fluid.

Introducción

En el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), la insuficiencia renal crónica terminal (IRCT) tiene una prevalencia de 200 pacientes por millón,¹ y su principal causa es la diabetes mellitus. En el año 2005 la Delegación Guanajuato atendió a 1,180 pacientes en diálisis peritoneal, lo que representa 90% de los pacientes con IRCT en tratamiento sustitutivo.

La peritonitis asociada con la diálisis (PAD) es la principal complicación del procedimiento.¹⁻³ En México se estima que los pacientes con IRCT sometidos a diálisis peritoneal con sistema de una sola bolsa presentan de dos a tres eventos de PAD anuales.² Estas infecciones comprometen la viabilidad peritoneal como membrana dialítica, afectando de manera negativa la sobrevida.²⁻⁴ Por ello, la PAD es el «tendón de Aquiles» de la diálisis peritoneal, y causa frecuente del fracaso terapéutico; esto requiere hospitalizaciones iterativas y repercute adversamente en el pronóstico del paciente por su elevada morbilidad.^{1,5-9} Si bien los avances en las medidas para evitar la PAD han disminuido su incidencia, no han logrado erradicarla, ya que los factores que predisponen a la peritonitis no sólo dependen de la técnica y el sistema de dializado, sino que influyen factores relacionados con el paciente y su entorno.^{1,10-12}

El diagnóstico de PAD es fundamentalmente clínico. Se establece con la presencia de los signos y síntomas de inflamación peritoneal, la turbidez del líquido dializado (con aumento en su celularidad) o ambas. En cuanto al diagnóstico bacteriológico, los índices de recuperación del agente causal mediante cultivo directo del dializado son bajos (16 a 45%).^{2,5} Este hecho constituye la razón de la búsqueda de otros métodos de cultivo, ya que la identificación microbiológica oportuna puede mejorar el tratamiento y reducir el uso de la terapia antibiótica empírica con sus inconvenientes, tales como costos, toxicidad y aparición de cepas resistentes. Además, el diag-

nóstico microbiológico ofrece el mejor recurso para la vigilancia epidemiológica.^{1,2,5,13-15}

Actualmente, la siembra de 10 mL de efluente en frasco de hemocultivo con 50 a 100 mL de caldo se acepta como el método estándar para el diagnóstico bacteriológico en PAD, con tasa de aislamiento de 65%.^{5,8,15,16} La Sociedad Americana de Microbiología (American Society for Microbiology, ASM) ha propuesto cultivar el sedimento obtenido por centrifugado de una alícuota de 50 mL del efluente en centrífuga fría, pero no ha establecido la validez, ni la confiabilidad de la prueba.¹⁶

En este estudio evaluamos comparativamente la eficiencia del cultivo en placa de agar directo del efluente del dializado, la siembra del sedimento por centrifugado y la siembra en frasco de hemocultivo.

Material y métodos

Se trata de un estudio de prueba diagnóstica desarrollado de enero a diciembre de 2002 en la Unidad de Diálisis Peritoneal del Hospital General de Zona No. 21 del IMSS y el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina de León, de la Universidad de Guanajuato. El objetivo fue comparar la eficiencia del cultivo de sedimento por centrifugado con la siembra directa en placa de agar y en frasco de hemocultivo. Nuestra hipótesis de trabajo establecía que en el diagnóstico microbiológico de PAD, la técnica de la siembra del sedimento del centrifugado de 50 mL del efluente del dializado mejora el tiempo y es tan eficiente como la siembra de 10 mL en frasco de hemocultivo.

Se incluyeron 144 especímenes de efluente de dializado, provenientes de igual número de pacientes con diagnóstico reciente de PAD y sin tratamiento antibiótico. El diagnóstico de PAD se estableció por la presencia de al menos uno de los siguientes criterios: 1) dolor abdominal y efluente turbio; 2) efluente turbio con al menos 100

leucocitos por mL; 3) inflamación en el trayecto del catéter o en su orificio de salida más efluente turbio. Se excluyeron las muestras de pacientes con peritonitis secundaria a patología quirúrgica intraabdominal y se eliminaron las que no fueron manejadas adecuadamente en su recolección, refrigeración o procesamiento.

Manejo de los especímenes

Se colectó todo el efluente del dializado previa estancia de al menos cuatro horas en la cavidad peritoneal. El puerto de conexión de la bolsa se mantuvo pinzado una vez liberado de la línea de transferencia para evitar la contaminación. La bolsa se conservó entre 6 y 8 °C hasta su procesamiento, el cual se realizó antes de 4 horas después de haber colectado la muestra. La extracción de la muestra se realizó a través del puerto de medicamentos previa asepsia con alcohol al 70%. Para el efecto, la bolsa se agitó invirtiéndola de arriba hacia abajo 10 veces para hacer una mezcla homogénea y se extrajeron 25 mL de líquido con una jeringa y aguja estériles.

Para la inoculación de los medios por los tres diferentes métodos se procedió de la siguiente manera: 1) se recambió la aguja y por punción se infundieron 10 mL del efluente en botella de hemocultivo con 100 mL de caldo de cerebro y corazón (BHI); 2) se retiró la aguja y se depositaron dos gotas del efluente en la superficie de las placas de agar; 3) se cortó totalmente el puerto de medicamentos de la bolsa de diálisis con una tijera esterilizada al fuego, se dejó fluir 10 mL por el punto de corte para lavarlo, y se depositaron por decantación 50 mL en un tubo plástico de ensayo estéril, centrifugado, siguiendo la técnica habitual para cultivos de micobacterias, en centrifuga refrigerada. Una asada de 10 µL del espécimen sedimentado se sembró en cada placa de agar. En los tres métodos en estudio la siembra o resiembra se efectuó simultáneamente en placas de agar chocolate, agar sangre y agar MacConkey.

Todas las placas se incubaron hasta por 48 horas a 35 °C, en una atmósfera con 5% de dióxido de carbono.

Seguimiento de las siembras

Las placas de cultivo directo se evaluaron a las 24 y 48 horas. El líquido de la botella de hemocultivo se resemeó a las 24, 48 y 72 horas y el día siete, a partir de la inoculación del frasco, se dio como positivo cuando apareció turbidez asociada con presencia de bacterias, que fueron detectadas por coloración de Gram. Para la identificación del germen, en todos los casos se siguió técnica estándar para grampositivos y para identificación de gramnegativos el sistema estandarizado API 20® (Bio Merieux Inc, ciudad de México). La cuenta de leucocitos del dializado se realizó mediante técnica microscópica habitual en cámara de Neubauer.

Análisis estadístico e implicaciones éticas

La muestra consecutiva se obtuvo por simple disponibilidad. Consideramos el método de siembra en frasco de hemocultivo como estándar de oro, determinando los valores de utilidad de los métodos mediante tablas de 2 x 2. Para la contrastación de hipótesis usamos la prueba de Chi cuadrada, considerando una confianza de 95% y potencia de 80%.

Puesto que el cultivo se efectúa de manera rutinaria, no realizamos hoja de consentimiento, aunque se le informó al paciente que el espécimen se utilizaría en el presente protocolo de investigación.

Resultados

Se estudiaron 144 especímenes, de 144 posibles, provenientes de una muestra en que predominaron los varones: 90 (62.5%). La edad promedio de los pacientes fue de 55 ± 10.8 años, con media de 62 años. Respecto de las causas de la IRCT en-

contramos: diabetes mellitus en 108 pacientes (75%), hipertensión arterial en 19 (13.2%), glomerulonefritis en 6 (4.1%) y misceláneas 11 (7.6%).

Las bacterias causales y su frecuencia de aislamiento se detallan en el *cuadro I*. De los 144 especímenes estudiados, en 98 (68%) se produjeron aislamientos; de ellos, 52% fueron grampositivos, 46% gramnegativos y 2% hongos. Los estafilococos estuvieron presentes en 45 (46%) de los 98 aislamientos. En promedio, 25% de los cultivos positivos ocurrieron en especímenes con celularidad menor a 100/ μ L. El máximo número de aislamientos se obtuvo con el método de siembra en frasco de hemocultivo. El diagnóstico bacteriológico se logró en frasco de hemocultivo en 92 (63.9%) casos, cultivo del sedimento en 73 (50.7%) y cultivo directo en 54 (37.5%) (Chi cuadrada: 4.6; $p = 0.032$). Al comparar el número de cultivos positivos obtenidos por el método del sedimento contra el método del cultivo directo, encontramos diferencia estadísticamente significativa a favor del método del sedimento (Chi cuadrada: 4.5; $p = 0.033$).

Cuadro I. Gérmenes aislados de 144 cultivos de líquido peritoneal.

Germen	No. de aislamientos (%)
<i>Staphylococcus coagulasa negativa</i>	23 (22.3)
<i>Staphylococcus aureus</i>	22 (22.4)
<i>Enterobacter</i> spp.	9 (9.1)
<i>Escherichia coli</i>	7 (7.1)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7 (7.1)
<i>Bacillus</i> sp	5 (5.1)
<i>Acinetobacter</i> spp.	5 (5.1)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4 (4.1)
<i>Streptococcus</i> spp (No tipificables)	4 (4.1)
<i>Enterococcus</i> spp	4 (4.1)
<i>Serratia marcescens</i>	2 (2)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	2 (2)
<i>Candida albicans</i>	2 (2)
<i>Stenotrophomonas mathophilia</i>	1 (1)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1 (1)
Total	98 (100)

Los valores de utilidad como prueba diagnóstica se muestran en el *cuadro II*, considerando el cultivo en frasco de hemocultivo como estándar de oro. Como se observa, el cultivo del sedimento supera levemente en sensibilidad, exactitud e índice de verosimilitud positivo al cultivo directo. Sin embargo, no está cerca de igualar la eficiencia del frasco de hemocultivo como prueba diagnóstica. La congruencia entre los métodos en relación con la bacteria aislada fue de 100%.

Evaluamos la coloración de Gram como prueba diagnóstica, teniendo como estándar de oro el desarrollo bacteriano en el caldo de hemocultivo. Encontramos sensibilidad de 0.11 para la coloración de la muestra tomada de la bolsa de dializado y de 0.29 para la muestra sedimentada.

Discusión y conclusiones

El diagnóstico microbiológico de las infecciones asociadas con la diálisis peritoneal es imprescindible por tres razones. En primer lugar, el tratamiento específico y dirigido con el patrón de sensibilidad antimicrobiana tiene mayores posibilidades de ser exitoso y preservar la función dialítica del peritoneo. En segundo lugar, si el tratamiento no es exitoso, aun cuando aseguremos que es el apropiado, podemos retirar tempranamen-

75

Cuadro II. Valores de utilidad de prueba diagnóstica del cultivo directo y del sedimento de 50 mL de especímenes de diálisis peritoneal.

Valor de la prueba	Sedimento	Directo
Sensibilidad	0.76	0.57
Especificidad	0.95	0.95
Valor predictivo positivo	0.96	0.96
Valor predictivo negativo	0.70	0.57
LR*+	15.4	11.4
LR** -	0.45	0.25

*LR+ = Índice de verosimilitud positivo; ** LR- = Índice de verosimilitud negativo

te el catéter y no insistir en un manejo médico con mínimas probabilidades de éxito, que sólo conducirá al daño peritoneal permanente. Para finalizar, el conocimiento del germen causal y su patrón de sensibilidad nos permite formar un cuadro epidemiológico imprescindible para la toma de decisiones en el tratamiento empírico inicial.

El presente estudio demostró que ninguno de los métodos evaluados se acerca al estándar de oro en cuanto a tasa de aislamientos. Debemos considerar como única ventaja de la siembra directa del efluente o del sedimento, que superan en velocidad por 24 horas al frasco de hemocultivo, al menos para laboratorios que no cuentan con sistemas automatizados para detección temprana de hemocultivos positivos. En tal caso, conviene someter el efluente a cultivo por ambos métodos (sedimento y frasco de hemocultivo), con lo que lograremos mayor velocidad de diagnóstico y alcanzaremos la mayor tasa de aislamientos, facilitando un manejo oportuno. Sin embargo, debemos considerar que esto incrementa el costo del procedimiento y las necesidades de personal en el laboratorio, por lo que la decisión final debe tomarse en cada laboratorio, considerando sus propios costos y recursos.

En el grupo de celularidad menor a 100/ μ L, se encontró 25% de los cultivos positivos. Es razonable entonces considerar como criterio presuntivo de diagnóstico la celularidad igual o mayor de 50/ μ L, coincidiendo con lo sugerido por la ASM.¹⁶ No diferimos de la literatura médica

en cuanto a que la mayor proporción de gérmenes aislados fueron grampositivos, lo que sugiere dos posibilidades que no necesariamente son excluyentes: a) que éstos se pueden aislar más fácil y rápidamente y b) que son los causales más frecuentes.¹⁷⁻¹⁹ Si éste es el caso, podemos concluir que nuestras infecciones tienen un patrón de predominio endémico, pues las infecciones por gramnegativos suelen tener una presentación epidémica.

Si bien concordamos en que la coloración de Gram tiene baja sensibilidad, la tasa de positividad de la prueba informada por la literatura es de 7%^{18,19} y el estudio encontró 11% para una muestra obtenida directamente de la bolsa del dializado y 22% cuando se obtiene de una muestra sedimentada. Si consideramos la accesibilidad, simpleza y bajo costo de la coloración de Gram, es recomendable continuar haciéndola, aunque debe preferirse que la muestra teñida provenga del sedimento obtenido por centrifugación.

Aún no se ha encontrado el método ideal para recuperar 100% de los agentes causales de la PAD, pero por ahora sigue siendo un paradigma el cultivo de 10 mL de líquido en un frasco de caldo para hemocultivo, como el medio más eficiente.¹⁵⁻¹⁹ Es de relevancia señalar que tanto los criterios diagnósticos empleados para definir la PAD como la toma de especímenes para cultivo antes de iniciar la antibioticoterapia, son factores que influyen significativamente en la sensibilidad de la prueba.^{17,19} La literatura informa que el cultivo del sedimento puede complicarse por la aparición de flora polimicrobiana por contaminantes.¹⁶ Este fenómeno no se presentó en nuestro trabajo, en el que 100% de los cultivos fueron puros.

En conclusión, el cultivo del sedimento es laborioso y no mejora sustancialmente la eficacia del diagnóstico. Dependiendo de su disposición de personal, cada laboratorio debe determinar si le resulta conveniente el cultivo del sedimento para mejorar el tiempo de respuesta.

Cuadro III. Número de aislamientos por método en relación con la cuenta de leucocitos en el efluente.

Cuenta de leucocitos	Siembra directa	Siembra sedimento	Siembra frasco
50 -99	15	17	25
> 99	38	56	67
Total	53	73	92

Referencias

1. Paniagua R, Su L, Abascal A, Mendez FJ, Amato D. Epidemiologic and demographic aspects of peritoneal dialysis in Mexico. *Perit Dial Int* 1996; 16: 362-365.
2. Monteón F, Correa R, Paniagua R et al. Prevention of peritonitis with disconnect system in CAPD: A randomized controlled trial. *Kidney Int* 1998; 54: 2123-2128.
3. Selgas R, Fernández MJ, Bosque E et al. Functional longevity of the human peritoneum: how long is peritoneal dialysis possible? Results of a prospective medium long term study. *Am J Kidney Dis* 1994; 23: 64-73.
4. Davies SJ, Bryan J, Phillips L, Russell GI. Longitudinal changes in peritoneal kinetics: The effects of peritoneal dialysis and peritonitis. *Nephrol Dial Transplant* 1996; 11: 498-506.
5. Torres J, Medina JL, Alva B, Jaime A. Tratamiento de la peritonitis bacteriana durante la diálisis peritoneal con pefloxacin. *Nefrología Mexicana* 1993; 14: 53-58.
6. Blint AJ, Finch RG. Diagnosis and management of peritonitis in continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Lancet* 1987; 1: 845.
7. Stephen PM, Gary M. Antimicrobial treatment of peritonitis in continuous peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 1991; 11: 252-260.
8. Salakyem MG. CAPD peritonitis: incidence, pathogens, diagnosis and management. *Med Clin North Am* 1990; 74: 997-1010.
9. Maiorca R, Vonesh EF, Cavalli PL et al. A multicenter Selection-adjusted comparison of patient and technique survivals on CAPD and hemodialysis. *Perit Dial Int* 1991; 11: 118-127.
10. Zimmerman SW, Ahrens E, Johnson CA et al. Randomized controlled trial of prophylactic rifampin for peritonitis dialysis-related infections. *Am J kidney Dis* 1991; 18: 225-231.
11. Lindblad AS, Novak JW, Nolph KD. Continuous ambulatory peritoneal dialysis in the USA. *Complication of peritoneal catheters*. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, 1989.
12. Espinoza MA, Cueto AM, Velázquez C et al. Prevalence of malnutrition in Mexico CAPD diabetic, and no diabetic patients. *Adv Perit Dial* 1996; 12: 302-306.
13. Catchpole CR, Macrae F, Brown JD et al. Use of prototype automated blood culture system and gas-liquid chromatography for the analysis of continuous ambulatory peritoneal dialysis associated infection: *J Clin Pathol* 1997; 50: 241-244.
14. Von Grevenitz A, Amsterdam D. Microbiological aspects of peritonitis associated with continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Clin Microb Rev* 1992; 5: 36-48.
15. Ludlam H, Price T, Berry A, Phillips I. Laboratory diagnosis of peritonitis on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *J Clin Microbiol* 1988; 26: 1757-1762.
16. Gilchrist MJR. Culture of continuous ambulatory peritoneal dialysis. In: *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. Washington D.C.: American Society for Microbiology, 1992: 11.6.1- 11.6.5.
17. Echeverría MJ, Ayarza R, López de Goicochea MJ et al. Comparative study of 2 culture methods by seeding, in hemoculture bottles, the dialysis fluid from patients in continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1995; 13: 506-510.
18. Doyle PW, Crichton EP, Mathias RG, Werb R. Clinical and microbiological evaluation of four culture methods for diagnosis of peritonitis in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *J Clin Microbiol* 1989; 27: 1206-1209.
19. Males BM, Walshe JJ, Garringer L, Koscinski, Amsterdam D. Addi-Chek filtration, BACTEC, and 10-mL culture methods for recovery of microorganisms from dialysis effluent during episodes of peritonitis. *J Clin Microbiol* 1986; 23: 350-353.