

IV EXAMENES

A) Aspecto macroscópico en líquido peritoneal.

Color amarillo pálido, claro, escaso. Si hay turbidez indica presencia de leucocitos. Si tiene un aspecto lechoso es característico de derrames quilosos. Si tiene un aspecto hemorrágico hay que diferenciar si se trata de una punción traumática o del propio derrame. Si procede de una punción traumática, al seguir aspirando el líquido se aclara. (Montenegro J. 1999)

B) Examen microscópico en líquido peritoneal.

Se hace un recuento celular en cámara de Neubauer, casi siempre sin diluir el líquido. Se cuentan las células contenidas en los cuatro cuadrados grandes de las esquinas y se calcula: Células por $\text{mm}^3 = N \times 2,5$

Los leucocitos podrían darnos falsos negativos, su cuantificación se hace esencial en las peritonitis bacterianas. Los leucocitos no más de $100\mu\text{L}$ y linfocitos polimorfo nucleares inferior al 45 %. (Superior se considera infección).

En cambio los neutrófilos son más específicos en la cantidad superior a los $250\mu\text{L}$ en los procesos sépticos. Casos con más de $500\mu\text{L}$ y sin síntomas (ascitis neutrofílica) han de considerarse como peritonitis bacteriana a tratar.

La cantidad de eritrocitos es muy poco variable es por eso que se le da una mayor importancia a los leucocitos. (Mañe N, Ponz, Yuste E, Blasco C. 2000).

C) Estudio Bioquímico en líquido peritoneal.

Glucosa: la cantidad de glucosa en los líquidos serosos es igual que la del plasma pero tarda más horas en llegar a estos líquidos, por eso se prefiere mantener al paciente en ayunas para hacer la extracción. La glucosa está disminuida en los líquidos inflamatorios.

pH: es útil la medida del pH en los derrames pleurales porque se clasifican en potencialmente benignos cuando el pH es superior a 7,3 y en derrames complicados cuando el pH es inferior a 7,2.

Proteínas: los derrames serosos se clasifican según su contenido proteico en trasudados cuando las proteínas son menores a 20g/L y Exudados cuando son mayores de 20g/L. (Montenegro J. 1999)

D) Tinción Gram.

La tinción de Gram es uno de los métodos de tinción más importantes en el laboratorio bacteriológico. Su utilidad práctica es indiscutible y en el trabajo microscópico de rutina del Laboratorio de Microbiología las referencias a la morfología celular bacteriana se basan justamente en la tinción de GRAM.

Descrita en forma breve, la secuencia de la tinción es la siguiente: el frotis fijado con calor se tiñe 1 min con violeta cristal, se lava con agua, se cubre con solución yodada durante 1 min y se lava de nuevo con agua, decolorar con mezcla alcohol etílico/acetona. Escurrir y cubrir con safranina (color de contraste) durante 20s. Lavar y secar.

Esta tinción se denominada así por el bacteriólogo danés Christian Gram, quien la desarrolló en 1844. Sobre la base de su reacción a la tinción de Gram, las bacterias pueden dividirse en dos grupos, gram positivas y gram negativas.

E) Cultivo del líquido peritoneal.

Es un examen de laboratorio que se realiza en una muestra de líquido peritoneal para aislar e identificar la presencia de microorganismos que causan infección (peritonitis).

El líquido peritoneal es el fluido proveniente de la cavidad peritoneal, un espacio entre dos membranas que recubren la cavidad abdominal.

Este examen se realiza por paracentesis, una aspiración con aguja de la cavidad peritoneal. (Fig. 6) Se recolecta líquido que es enviado al laboratorio para realizar la tinción de gram y preparar el cultivo. La muestra se examina con regularidad para verificar la proliferación de microorganismos. (Rodríguez F. 2007)

Una punción abdominal se puede llevar a cabo para diagnosticar la causa de la acumulación de líquido, diagnosticar la presencia de líquido abdominal infectado o extraer una gran cantidad de líquido con el fin de reducir el dolor abdominal.

Fig. 6 Paracentesis.



Fuente: www.mdconsult.com/.../body/0/0/10041/8715_en.jpg

Un examen del líquido abdominal puede revelar:

- Infección
- Tumor (canceroso o no-canceroso)
- Apendicitis
- Cirrosis hepática
- Enfermedad del páncreas
- Enfermedad renal
- Enfermedad cardíaca
- Daño intestinal

Se debe vaciar la vejiga antes del procedimiento de paracentesis.

Se limpia una pequeña área del abdomen con un antiséptico. Se presenta una sensación de picadura por la anestesia, seguida de una sensación de presión al insertar la aguja. Si se extrae una gran cantidad de líquido, el paciente puede sentir vértigo o mareos.

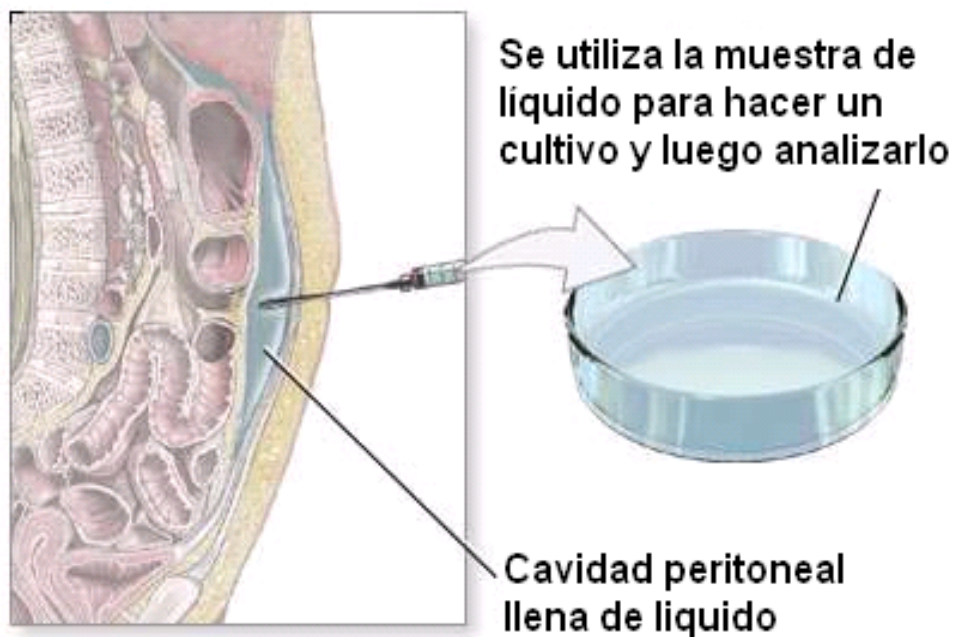
Este examen se realiza para ayudar a determinar si se presenta infección en el espacio peritoneal (peritonitis). El líquido peritoneal es estéril, así que lo normal es la ausencia de organismos. (Fig. 7).

La proliferación de cualquier microorganismo (bacterias, hongos) del líquido peritoneal es anormal e indica la presencia de peritonitis.

Existe una pequeña posibilidad de que la aguja penetre los intestinos, la vejiga o un vaso sanguíneo en el abdomen, lo que ocasiona posiblemente perforación del intestino, sangrado e infección.

El diagnóstico de peritonitis no sólo se basa en el cultivo del líquido peritoneal (ya que éste puede permanecer negativo incluso en caso de presencia de esta enfermedad). (Chaud R. 2007)

Fig. 7 Cultivo de líquido peritoneal



Sección media del abdomen

Fuente: www.mdconsult.com/.../body/0/0/10041/9737_es.jpg

Obtención de muestra del catéter.

Se limpia la piel alrededor del catéter con alcohol etílico al 70%. Asépticamente remover el catéter y corte 5 cm de la punta distal y colóquela en un tubo o envase estéril sin medio de cultivo. Transportar inmediatamente al laboratorio para prevenir la desecación.

F) Hemocultivo.

Cultivo de sangre. Un hemocultivo es un examen para determinar si microorganismos como bacterias, micobacterias u hongos están presentes en la sangre. Se coloca una muestra de sangre en una preparación especial de laboratorio y se incuba en un ambiente controlado por 1 a 7 días. (Fig.9)

En este examen es importante que la muestra sanguínea no se contamine con organismos de la piel o del equipo utilizado para preparar el examen. Se debe seguir una técnica estricta con antisépticos para obtener y preparar la muestra. (Rodríguez F, Medina H, Macias A. 2007).

Se examina el cultivo por varios días en búsqueda de la presencia de microorganismos y, si éstos están presentes, se pueden realizar otros cultivos para identificarlos. También se puede realizar una tinción de gram para clasificar el organismo de forma que se pueda iniciar la terapia con antibióticos antes de que los resultados del cultivo final estén disponibles.

La muestra inicial se debe colocar en el tipo correcto de medio en el laboratorio. La mayoría de los cultivos son para bacteria. Otros medios están disponibles para micobacterias e infecciones micóticas.

Un hemocultivo se realiza cuando hay sospecha de infección en la sangre (bacteriemia o septicemia) debido a síntomas tales como fiebre, escalofríos o presión sanguínea. El cultivo de sangre ayuda a identificar el origen de la infección y esto le ayuda al médico a determinar el mejor tratamiento. No debe haber proliferación de microorganismos en el medio del cultivo. (Fig. 10)

Los resultados positivos generalmente significan que los microorganismos infecciosos están presentes en el torrente sanguíneo. Algunas veces, se trata simplemente de una bacteria contaminante, no una verdadera infección, de ahí que se den resultados falsos positivos. El médico debe poder ayudar a la persona a determinar si se trata de una infección verdadera o un contaminante. La bacteriemia algunas veces aparece y desaparece, de forma que es posible que se realice una serie de 3 cultivos sanguíneos antes de confirmar el resultado negativo. (Rodríguez F, Medina H, Macías A. 2007).

G) Estudio bacteriológico de diversas muestras clínicas.

Staphylococcus aureus: Se presentan como formas esféricas denominadas cocos que miden de 0.5 a 1.5µm. en observaciones microscópicas provenientes de colonias bacterianas desarrollados en medios de cultivo sólidos se agrupan en forma parecida a un racimo de uvas, son gram positivos no tienen flagelos y presentan una capsula de polisacáridos. Se desarrollan colonias blancas, lisas, convexas y con bordes regulares. Algunas especies producen pigmento y se ponen de manifiesto cuando el medio líquido, se observa una turbiedad uniforme. (Tabla 3).

Tabla 3. Características bioquímicas de Staphylococcus aisladas en muestras clínicas

PRUEBAS	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>
Coagulasa	+	-
Lactosa	+	D
Maltosa	+	+
Manitol	+	-
Sacarosa	+	+
Trealosa	+	-
Xilosa	-	-
Manosa	+	+
Urea	D	+
Novobiocina	S	S
Polimixina "b"	R	R

D = Reacciones diferentes, - de 0 a 15 % negativos, + de 85 a 100% positivos.

Fuente: Arteaga Garibay Ramón I., Duval Ugalde Rodolfo. 2009.

Aproximadamente el 90% de las cepas aisladas de ambiente hospitalario son resistentes a la penicilina G y solo del 20 al 30% de pacientes ambulatorios, la vancomicina es el fármaco de elección.

Para el aislamiento e identificación de *S. aureus* hay que considerar que los procesos infecciosos en que interviene la bacteria y con formación de abscesos existe una importante presencia de leucocitos polimorfonucleares.

Staphylococcus epidermidis: La mayoría de las enfermedades causadas por *S. epidermidis* son de origen intrahospitalario y se presentan en pacientes que es necesario colocarles algún cuerpo extraño como válvulas cardíacas y todo tipo de cateteres en donde la adherencia a este tipo de materiales favorece la presentación de enfermedades sistémicas graves.

Para el aislamiento e identificación de *S. epidermidis* con significado clínico, la primera observación debe estar enfocada en la muestra. Primeros e hace la prueba de coagulasa, a las cepas de coagulasa negativa, se les determina el metabolismo microbiano con la pruebas diferenciales.

Streptococcus: Son células ovals o esféricas de 0.5 a 1µm se caracterizan por formar cadenas largas. (Tabla 4).

Los estreptococos carecen de las enzimas citocromo, se agrupan en pares o cadenas, son móviles, no esporulados, anaerobios facultativos con metabolismo fermentativo en el que producen ácido láctico o fórmico, etanol y CO₂ con crecimiento optimo a 37°C.

El tratamiento de los pacientes es con penicilina pero dependerá de la especie que se identifique, ya que en la última década han surgido cepas resistentes, asociada con la disminución de la afinidad del antibiótico por las proteínas del patógeno. (Arteaga Garibay Ramón I., Duval Ugalde Rodolfo. 2009).

Tabla 4. Identificación presuntiva de *Streptococcus*

ORGANISMOS	SUSCEPTI- BILIDAD A:		CAMP	SAT	PYR	HIDRÓLISIS DE:		CRECI- MIENTO EN NaCl 6.5%	SOLUBI- LIDAD EN BILIS
	B	O				H	BE		
Estreptococos beta hemolitico									
Grupo A	S	R	-	-	+	-	-	-	-
Grupo B	R*	R	+	-	-	+	-	+	-
Estreptococos Grupo D	R	R	-	-	-	-	+	-	-
<i>Estreptococos</i> <i>Viridians</i>	R*	R	-	-	-	-	-*	-	-
Estreptococos nutricionalmente variantes	R	R	-	+	+	NT	-	-	-
<i>Estreptococos</i> <i>Pneumoniae</i>	R	S	-	-	-	-	-	-	+

B=bacitracina, O=optoquinina, H=hipurato, BE=bilis esculina, CAMP=(Cristie, Atkins, Munch-Petersen) prueba de efecto sinergico entre *S. agalactiae* y hemolisina beta de *S. aureus*. * Puede haber variaciones; **incluido *S. bovis*; SAT- fenómeno de satelitismo, PYR – L-pirolidonil-beta-naftilamidasa; NT – no probada.

Fuente: Arteaga Garibay Ramón I., Duval Ugalde Rodolfo. 2009.

Enterobacterias: gram negativas colonizan las diferentes mucosas en especial las del aparato gastrointestinal ocasionando por tanto infecciones en estos sitios y a partir de estas localizaciones. En los enfermos hospitalarios, las enterobacterias son la causa mas frecuente de infecciones nosocomiales ya que producen una amplia variedad de cuadros clínicos tales como infecciones de lesiones, heridas quirúrgicas así como bacteremias primarias debido a su diseminación.

Desde el punto de vista microbiológico presentan las siguientes características:

- a) Son bacterias no esporuladas que pueden crecer en anaerobiosis o aerobiosis
- b) Reducen los nitratos a nitritos
- c) Fermentan la glucosa con o sin formación de gas
- d) Oxidasa negativa
- e) No aumenta su crecimiento en medio hipertónico
- f) Pueden ser móviles mediante flagelos

Escherichia coli: es la especie bacteriana más comúnmente recuperada de los laboratorios clínicos. Ha sido relacionada con enfermedades infecciosas que involucran virtualmente a todos los sitios anatómicos humanos (Tabla 5).

Pseudomona aeruginosa: bacilos gram negativos que no utilizan a los azucres por vía fermentativa, miden de 2 a 5µm de largo por 1µm de ancho, con un metabolismo aerobio estricto, aunque pueden crecer en ausencia de oxígeno cuando en el medio presentan nitratos o arginina. Es móvil por un flagelo polar, positivas las reacciones de oxidasa y catalasa y utiliza la glucosa y otras fuentes por vía oxidativa.

Estas características lo posicionan como una bacteria de fácil crecimiento, por lo que puede ser recuperada por medios simples, ricos y

Tabla 5. Características bioquímicas de enterobacterias aisladas en muestras clínicas

PRUEBA	<i>Escherichia coli</i>
Indol	+
Crecimiento en KCN	-
Movilidad	+
Utilización de acetato	+
Producción de ácido de:	
Glucosa (gas)	+
Lactosa	+
Manitol	+
Citrato de Simons	-
Lisina descarboxilasa	+

Fuente: Arteaga Garibay Ramón I., Duval Ugalde Rodolfo. 2009

selectivos, forma colonias grandes e irregulares con beta-hemólisis en agar sangre. (Tabla 6).

Bacterias anaerobias: Dentro de sus características microscópicas y coloniales, de entre los cocos gram positivos tenemos a *Peptococcus* y *Peptostreptococcus* pares o cadenas cortas, colonias convexas grises o blancas opacas brillantes y con borde completos, cocos gram negativos *Veillonella* se encuentran en pares y en grupos irregulares de colonias convexas, bordes completos y brillantes, bacilos gram negativos esta *Bacteroides fragilis* de extremos redondos pleomorficos y tinción bipolar, colonias convexas, enteras, blancas grisáceas, bordes completos, bacilos gram positivos se encuentra el *Clostridium perfringens* relativamente cortos con extremos romos, colonias convexas, bordes enteros brillantes, con una doble hemólisis. (Arteaga Garibay Ramón I., Duval Ugalde Rodolfo. 2009).

Tabla 6. Características bioquímicas de pseudomonas aisladas en muestras clínicas

PRUEBA	<i>Pseudomona aeruginosa</i>
Oxidasa	+
Crecimiento en MacConkey	+
Crecimiento en caldo a 42°	-
Producción de Piocianina	+
Gas de nitratos	+
Producción de ácido de:	
Glucosa	+
Xilosa	+
Lactosa	-
Manitol	V reacción variable)
Citrato de Simons	+
Lisina descarboxilasa	-

Fuente: Arteaga Garibay Ramón I., Duval Ugalde Rodolfo. 2009.