



NOTA TÉCNICA

Evaluación de un modelo de coprocultivo en las guardias de microbiología para el aislamiento de enteropatógenos bacterianos

Concepción Ladrón de Guevara García* y Goosen López López

Servicio de Microbiología y Parasitología, Hospital Universitario La Paz, Madrid, España

Recibido el 29 de enero de 2009; aceptado el 21 de mayo de 2009

Disponible en Internet el 15 de julio de 2009

PALABRAS CLAVE

Bacterias;
Heces;
Urgencias médicas

KEYWORDS

Bacteria;
Faeces;
Emergency

Resumen

Las gastroenteritis son motivo frecuente de consulta en las urgencias médicas. Se ha evaluado un modelo de “coprocultivo de guardia” con el fin de conocer el incremento tanto en tiempo de respuesta como en el número de aislamientos.

Se procesaron 2.201 muestras de heces, que se sembraron en agar Skirrow, agar McConkey e inóculo en caldo selenito; se terminó el estudio y se realizó un coprocultivo completo en las horas habituales de trabajo.

Se redujo el tiempo de respuesta en el 36,1% de los aislados de *Campylobacter* sp., en el 35,1% de los aislados de *Salmonella* sp. y en el 90% de los aislados de *Shigella* sp. de forma estadísticamente significativa ($p < 0,001$). Se recuperó el 10% del total de aislados.

El modelo de coprocultivo en la guardia de microbiología resulta factible y eficaz.

© 2009 AEBM, AEFA y SEQC. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Urgent evaluation of stool cultures for the isolation of bacterial enteropathogens in microbiology

Abstract

Gastrointestinal infection is still a common problem in emergencies. We have evaluated a routine faecal culture method for isolating bacterial enteropathogens for urgent use.

We studied 2201 faeces specimens by culturing in Skirrow, MacConkey agar and Selenite broth, the study and the whole culture procedure being completed during normal laboratory hours.

The final results were reported significantly earlier; *Campylobacter* (36.1%), *Salmonella* (35.1%) and *Shigella* (90%) ($P < 0.001$). Isolates were recovered from 10% of the samples.

The faecal culture method used in microbiology emergencies is feasible and effective.

© 2009 AEBM, AEFA y SEQC. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: cladron.hulp@salud.madrid.org (C. Ladrón de Guevara García).

Las infecciones gastrointestinales en los países desarrollados son todavía un problema de salud pública, aunque la mortalidad es relativamente baja¹. En las gastroenteritis agudas, *Campylobacter jejuni* y *Salmonella enterica* son los principales enteropatógenos bacterianos, y su incidencia depende del grupo de edad estudiado.

Las manifestaciones clínicas son variables y son motivo frecuente de consulta en las urgencias del hospital².

El procesamiento completo de las muestras de heces es laborioso, con un tiempo medio de respuesta de 4 días^{3,4}. Además, se recomienda realizarlo cuanto antes para no perder los enteropatógenos más lábiles.

Los objetivos del trabajo son conocer el incremento, tanto en tiempo de respuesta como en el número de aislamientos, al instaurar un modelo reducido de coprocultivo en horario de guardia para recuperar *Campylobacter* sp., *Salmonella* sp. y *Shigella* sp., y comprobar si la combinación de medios es la más adecuada, sin complicar en exceso el trabajo de la guardia y completarlo en horas de trabajo programado para recuperar el resto de los principales enteropatógenos.

Se ha realizado un estudio transversal, descriptivo y analítico sobre un total de 2.201 muestras de heces recibidas en el Servicio de Microbiología en horario de guardia, que comprende desde las 15.00 a las 8.00 del día siguiente y los fines de semana, durante un período continuo de 2 años.

Anteriormente, en las horas de guardia, en las heces recibidas se realizaba observación en fresco de la muestra, detección vírica con tira reactiva inmunocromatográfica en menores de 3 años y tinción de Gram para observación de formas compatibles con *Campylobacter* sp.

Con este modelo, las muestras se procesaron inmediatamente en el "coprocultivo de guardia" con la siembra en agar Skirrow, agar McConkey y el inóculo en caldo de selenito.

En horas de trabajo programado (conservación de heces en nevera), se realizó un coprocultivo completo ("coprocultivo habitual") con la siembra en agar Skirrow y *Blood free* para aislamiento de *Campylobacter* sp., en agar *Salmonella-Shigella* (SS) y agar McConkey para aislamiento de *Salmonella* sp. y *Shigella* sp., y cultivo en cefsulodin, irgasan y novobiocina para aislamiento de *Yersinia enterocolitica* y *Aeromonas* sp. Se continuó trabajando el "coprocultivo de guardia" y no se repitió el inóculo en caldo selenito.

Las placas y el caldo selenito se incubaron a temperatura y atmósfera recomendadas y se completó el procesamiento por métodos convencionales^{3,4}.

Se analizaron los porcentajes de diagnóstico en cada medio y en cada rutina, junto con los intervalos de confianza (IC), y se determinó la significación estadística de la diferencia entre medios y rutinas mediante el test de McNemar para muestras relacionadas.

De los 2.201 coprocultivos procesados, 1.450 (65,88%) se emitieron como flora saprofita y de los patógenos bacterianos estudiados, en 371 muestras (16,86%) se aisló *Campylobacter* sp., en 370 muestras (16,81%) se aisló *Salmonella* sp. y en 10 muestras (0,45%) se aisló *Shigella* spp.

Del total de los 370 aislados de *Salmonella* sp., 335 (90,45%) se aislaron del pase del caldo selenito, con 46

(12,43%) exclusivamente de este medio, 307 (82,97%) del medio SS de la siembra directa en la rutina, con 20 (5,41%) de forma exclusiva en este medio, y 228 (61,6%) del medio McConkey, con 9 (2,43%) del McConkey de la guardia y 2 (0,54%) del McConkey del coprocultivo habitual.

Respecto a los aislados de *Campylobacter* sp., de los 371 aislados, 40 (10,7%) se recuperaron exclusivamente en el cultivo de guardia y 74 (19,95%) exclusivamente en el cultivo habitual: hubo diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$). No se incrementó el número de aislados en *Blood free*.

En relación con *Shigella* sp., solamente se aislaron 10 cepas. Se recuperaron siempre en McConkey, de forma combinada con SS en 7 casos, y en 3 casos se aisló exclusivamente de McConkey (2 procedentes de la guardia y una del coprocultivo habitual).

En cuanto a la mejora en el tiempo de emisión de los resultados, con el cultivo de la guardia, *Campylobacter* sp. adelantó el resultado en el 36,1% (134) (IC del 95%: del 31,3 al 41%), *Salmonella* sp. en el 35,1% (130) (IC del 95%: del 39,4 al 50,8%) y *Shigella* sp. en el 90% (9).

Con el coprocultivo establecido en la guardia se redujo el tiempo de respuesta de forma estadísticamente significativa ($p < 0,001$).

Los medios utilizados en el coprocultivo de guardia (McConkey, Skirrow y caldo selenito) resultan útiles para aislar las bacterias enteropatógenas más frecuentes en España⁵.

La elevada sensibilidad del caldo selenito para recuperar *Salmonella* sp. es atribuible a su capacidad como medio selectivo de enriquecimiento, por lo que resulta imprescindible utilizarlo en la rutina de guardia. Asimismo, contribuye a la mejora del tiempo de respuesta de *Salmonella* y se recupera el 12,43% del total. El escaso número de aislados de *Salmonella* sp. exclusivamente en el McConkey se debe a que agar McConkey es un medio más indicado para *Shigella* spp.

Respecto a *Shigella* spp., es necesario incluir un medio como agar McConkey y procesar la muestra de forma inmediata. El estudio refleja la baja incidencia de *Shigella* sp. en esta área sanitaria, pero es imprescindible incluir un medio que diagnostique las posibles *Shigella* sp. y hacer un diagnóstico temprano por la gravedad de la infección.

El diagnóstico rápido de *Campylobacter* sp. en heces puede realizarse por la visualización del Gram directo de la muestra con una sensibilidad de alrededor del 50%², pero es necesario el cultivo como diagnóstico definitivo. Los resultados de los aislamientos de *Campylobacter* sp. en el trabajo indican el incremento en el número de aislados al combinar ambas rutinas. El cultivo de *Campylobacter* sp. requiere condiciones especiales de microaerofilia y temperatura recomendable de 43 °C, que si se interrumpen y se somete a *Campylobacter* sp. a estrés oxidativo⁶, decrece el número de aislados, lo que puede justificar el menor número de aislados en los cultivos de la guardia al interrumpir el crecimiento por el procesamiento escalonado de las muestras, aunque el 10,7% del total de aislados de *Campylobacter* sp. procediera exclusivamente del coprocultivo de guardia.

El adelanto significativo en el diagnóstico, junto con el hecho de recuperar una media del 10% de los enteropatógenos estudiados prescindiendo de medios de transporte,

confirma la utilidad de realizar el “coprocultivo de guardia”.

Actualmente se están diseñando métodos moleculares para el cribado de los principales enteropatógenos, y sólo han superado al cultivo tradicional en la emisión de resultados en las muestras negativas⁷.

Ante la falta de métodos rápidos de diagnóstico de las bacterias enteropatógenas y con los resultados obtenidos del aislamiento en cada medio, la combinación de medios de cultivo estudiada resulta eficaz para recuperar y reducir el tiempo de respuesta de los principales enteropatógenos.

Agradecimientos

Al Dr. Miguel Ángel García Pérez por su colaboración en el tratamiento estadístico del trabajo.

Bibliografía

1. Cheng A, McDonald J, Thielman N. Infectious diarrhea in developed and developing countries. *J Clin Gastroenterol*. 2005;39:757–73.
2. Rico A, García-Bujalance S, Ladrón de Guevara C. Contribución al diagnóstico del informe microbiológico de guardia en muestras de urgencias del hospital infantil. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2002;20:92–7.
3. Bopp C, Brenner F, Fields P, Wells J, Strockbine N. Enterobacteriaceae: Introduction and identification. En: Murray P, Baron E, Jorgensen J, Pfaller M, Tenover F, Tenover K, editors. *Manual of Clinical Microbiology*. 8th ed. Washington: American Society for Microbiology; 2003. p. 636–53.
4. Bopp C, Brenner F, Fields P, Wells J, Strockbine N. *Campylobacter* and *Arcobacter*. En: Murray P, Baron E, Jorgensen J, Pfaller M, Tenover F, Tenover K, editors. *Manual of Clinical Microbiology*. 8th ed. Washington: American Society for Microbiology; 2003. p. 902–14.
5. Ruiz G, Uria MJ, Rico A, Ladrón de Guevara C. Evaluación del medio xilosa galactosidasa (XG) para el aislamiento de enteropatógenos. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2004;22:381–4.
6. Garénaux A, Jugiau F, De Jonge R, Denis M, Federighi M, Ritz M. Survival of *Campylobacter jejuni* strains from different origins under oxidative stress conditions: Effect of temperature. *Curr Microbiol*. 2008;56:293–7.
7. Schuurman T, De Boer RF, Van Zanten E, Van Slochteren KR, Scheper HR, Dijk-Alberts BG, et al. Feasibility of molecular screening method for detection of *Salmonella enterica* and *Campylobacter jejuni* in a routine community-based clinical microbiology laboratory. *J Clin Microbiol*. 2007;45:3692–700.