EXPERIENCIA CON LA TINCIÓN RÁPIDA PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA DIARREA POR CAMPYLOBACTER SP. Y CRYSTOSPORIDIUM SP.

*M. T. Morales; M.L. Herrera**

Key Words: diarrhoea, *Campylobacter, Cryptosporidium*, diagnosis

RESUMEN

Se describe el uso de la tinción con Giemsa para frotis de heces, la cual es rápida, barata y fácil de realizar y puede ser usada en el diagnóstico presuntivo de la diarrea por Campylobacter fetus ssp. jejuni y es, además, uno de los métodos usados para la detección de los ooquistes de Cryptosporidium sp. Dicha tinción, es también de utilidad en la observación de leucocitos, eosinófilos y otros protozoarios.
Descriptores: diarrea, Campylobacter, Cryptosporidium, diagnóstico. [Rev. Cost. Cienc. Méd. 1986; 7(3):297-298.

INTRODUCCIÓN

La distribución etiológica de las diarreas en Costa Rica, ha cambiado sustancialmente en los últimos años, debido principalmente a la introducción de técnicas de cultivo e identificación de gérmenes como *Campylobacter fetus ssp.* jejuni (CFJ) y *Cryptosporidium* sp. (1,2,3,4,5). En Costa Rica, CFJ ocupa el primer lugar como agente productor de diarreas en niños (4) y en el Hospital Nacional de Niños, los estudios por *Cryptosporidium* sp. ya son rutinarios.
En 1978, Pohlenz y colaboradores (6), describieron el uso de tinción de Giemsa para el diagnóstico de la diarrea por *Cryptosporidium* sp.; y la técnica de elección para este diagnóstico: la biopsia de ileo. En 1982, Zasie y Titus (7), describen el uso de esta misma tinción para el diagnóstico rápido de la enteritis por *Campylobacter* sp.
En este informe, se expone nuestra experiencia con esta tinción y sus utilidades para Costa Rica, si se usara rutinariamente.

MATERIALES Y MÉTODOS

Del 1 de febrero al 30 de mayo de 1983, se estudiaron en el Hospital Nacional de Niños "Dr. Carlos Sáenz Herrera", San José, Costa Rica, 125 muestras de heces de niños menores de dos años.
En todos los 125 casos, la muestra fue líquida o mucosa y provenía de niños con diarrea.
Con un aplicador, se hizo un frotis fino, el que se fijó con metanol durante 3 minutos y se tiñó con Giemsa, diluido 1:10 con agua destilada. Estos frotis se examinaron en búsqueda de oo-quistes de Criptosporidium sp. (5,6) y formas en "c, s" y espirales del CFJ (1,2,3,7).
En los casos en que se observó leucocitos, se realizó un recuento porcentual de los eosinófilos presentes.
El CFJ, se tiñe de rosado y dado su pleomorfismo, su detección es fácil.
En cuanto al *Cryptosporidium* sp., generalmente se le encuentra en gran cantidad, su uniformidad y coloración lo hacen característico. Sus ooquistes se observan con objetivo de inmersión, miden de 2 a 4 um de diámetro y presentan de 2 a 5 gránulos internos de color rosado y su citoplasma es azul verdoso (5,6).
Simultáneamente, se buscó la presencia de CFJ, por lo que las heces se cultivaron en agar tioglicolato suplementado con sangre humana al 15 por ciento, bacitracina (350 mg/1), novobiocina (5 mg/1), actidiona (70 mgl), cefazolin (30 mg/1) y colistin (10.000 UI/1) Las placas se incubaron a 42°C por 48 horas en una jarra de GasPack (Cockneysville, Md, 21030 U.S.A.) sin catalítico, con una atmósfera rica en CO_2 y pobre en O_2, que se logró mediante la técnica de reemplazamiento gaseoso (8). El CFJ se identificó por sus características morfológicas macroscópicas y microscópicas, la movilidad positiva, la no fermentación de carbohidratos y la producción de oxidasa y catalasa (1,2,3).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el período de estudio se aisló 26 cepas de CFJ, lo que representa una incidencia del 20.8 por ciento. De estos 26 casos, solo fue posible analizar 21 de las láminas teñidas con Giemsa, de las cuales 9 no mostraron morfología semejante a CFJ; pero se obtuvo un resultado positivo

* Laboratorio Clínico, Hospital Nacional de Niños, San José, Costa Rica.

en los 12 casos restantes. Esto da un porcentaje de certeza del 57.5 por ciento, lo que concuerda con lo reportado por Sazie y Titus (7). De los 9 casos con frotis negativo y cultivo positivo, 5 habían sido tratados previamente, con antibióticos no específicos para CFJ. El empleo de este tipo de antibióticos afecta directamente los resultados al usar el Giemsa ya que se reduce el número de CFJ en heces, pero no se elimina, aumentando los falsos negativos.

Se presentaron 3 casos en los cuales se observó morfología semejante a CFJ, pero el cultivo fue negativo. Se encontraron 9 casos de *Crystosporidium* sp. (7.2% de todas las muestras observadas) y en una oportunidad se observó doble etiología entre CFJ y *Crystosporidium* sp.

La tinción de heces con Giemsa para la bús queda de CFJ, tiene un porcentaje de aciertos de 57.5 por ciento y aunque se presenten falsos positivos y falsos negativos, en lugares donde falten medios para el cultivo de este germen, esta tinción puede ser de gran ayuda. La técnica empleada en el aislamiento de CFJ, consume entre 24 y 48 horas, en cambio la tinción dura 10 minutos, siendo de gran ayuda para orientar al médico hacia una terapia dirigida.

Es obvio que este diagnóstico por tinción tiene sus limitaciones, es solo presuntivo y no puede reemplazar al cultivo, que sigue siendo el mejor método para la detección del CFJ. Además, esta tinción es uno de los métodos usados en la observación de los ooquistes de *Crystosporidium* sp. No es el método de elección, ya que éste seria la biopsia de ileo (6), útil en animales, pero difícil de obtener en humanos. Otros métodos serán objeto de un posterior informe.

Por último, otro beneficio que se puede obtener de esta técnica, es su ayuda en la diferenciación de una diarrea infecciosa de una no infecciosa. Esto se basa en la detección de los leucocitos y en caso de sospecha de diarrea por intolerancia a la leche de vaca, la búsqueda y cuantificación de los eosinófilos confirmaría la sospecha clínica.

Los protozoarios como *Lamblia intestinalis*, son teñidos y fácilmente detectados en estos frotis.

El uso de esta tinción para detectar CFJ y *Crystosporidium* sp. no es un método original nuestro, es una técnica que en Costa Rica cayó en desuso y dado su bajo costo, su rapidez y versatilidad, creemos conveniente su uso, especialmente en el área rural.

ABSTRACT

We describe the use of Giemsa stain as a fast, simple and economic method for staining fecal smears, to be used in the presumptive diagnosis of diarrea by Campylobacter fetus *ssp. jejuni and the detection of* Crystosporidium *sp. oocystis. This stain can also be used to observe leukocytes and protozoa.*

BIBLIOGRAFÍA

1. Blaser, M.J. Campylobacter fetus ssp. jejuni: *A Laboratory Manual* International centre for Diarrhoeal Disease Research, Dacca, Bangladesh. Special Publication No. 7 1975; 1:34.

2. Butzler, J.P.; M.B. Skirrow. Campylobacter enteritis. *Clin. Gastroent*. 1979; 8:737-765.

3. Herrera, M.; Guevara, J.; Rivera, P.; Rodríguez, A. Gastrenteritis por *Campylobacter fetus* jejuni en el Hospital Nacional de Niños "Dr. Carlos Sáenz Herrera". Rev. Med. Hosp. Nal. Niños. 1984; 19(1).

4. Herrera, M.; Bolaños, H.; Rivera, P.; Morales, M.; Guevara, J. Incidencia de *Clostridium difficile* y otros agentes en pacientes con diarrea *Rev. Cost. Cienc. Med*. 1986; 7(3). en prensa.

5. Nime, F.A. Bureck. J.E.; Page, D.L.; Holscher, A., Yardley, J.H. Acute enterocolitis in a human being infectated with the protozoarium Cryptosporidium. *Gastrenterol.* 1976; 70:592-598.

6. Pohlenz,J.; Moon, H.W.; Cheville, N.F.; Benrick, W.L. Crytosporidiosis ASA Poobable factorin Neonatal diarrhea of calves. *Jauma* 1978; 172(4): 452-457.

7. Sazie, E.M.; A.E. Titus. Rapid diagnosis of Campylobacter enteritis. *Ann. Int. Med.* 1982; 96:62-63.

8. Whaley, D.N.; G.W. Gorman. An inexpensive device for evacuation and gassing anaerobic systems with in a house-vacumm. *J. Clin. Microbiol*. 1976; 70:668-671.