

Leucocitos Fecales en Niños con Diarrea Aguda: ¿Momento de Reconsiderar la Utilidad Clínica de la Prueba?

Nilton Yhuri Carreazo, MD¹, Karim Ugarte, MD², Luis Huicho, MD^{3,4,5*}

RESUMEN

INTRODUCCIÓN. Los leucocitos fecales son utilizados para identificar diarrea invasiva y decidir el uso de antibióticos. Se conoce poco sobre su utilidad en hospitales de países en desarrollo con procesos de laboratorio eficientes. Buscamos evaluar el rendimiento diagnóstico de la prueba en menores de 5 años con diarrea aguda.

MATERIAL Y MÉTODOS. Estudio retrospectivo de registros clínicos y de laboratorio en el Hospital de Emergencias Pediátricas, Lima, Perú. Se evaluó los casos a los que se había solicitado sistemática e independientemente leucocitos fecales y coprocultivo. Se calculó sensibilidad, especificidad, valores predictivos, cocientes de probabilidad (CP) y la curva de características operativas del receptor (ROC).

RESULTADOS. De 1,804 muestras fecales, 901 (49,9%) fueron positivos para uno o más enteropatógenos bacterianos. La sensibilidad (S), especificidad (E), y el CP positivo variaron para los diferentes umbrales: más de 5 leucocitos por campo (S: 93.2%, E: 21.9%, CP: 1.9), más de 20 (S: 88.4%, E: 34.8%, CP: 1.35), más de 50 (S: 74.9%, E: 56.7%, CP: 1.73), y más de 100 (S: 60.7%, E: 71.9%, CP: 2.17). El área bajo la curva ROC fue 0.69 (IC 95%: 0.67-0.72).

CONCLUSIONES. El rendimiento de la prueba es sub-óptimo y continuar su uso rutinario en la práctica clínica no parece justificado, pues promueve el abuso de antibióticos y por otro lado aumenta el riesgo de pasar por alto pacientes con diarrea invasiva. Se necesita estudiar el rendimiento diagnóstico de datos epidemiológicos y clínicos combinados con leucocitos fecales o lactoferrina fecal, para identificar una aproximación más eficiente.

PALABRAS CLAVE: heces/citología, diarrea, diagnóstico, niños, país en desarrollo.

Rev. Gastroenterol. Perú; 2011; 31-3: 216-223

ABSTRACT

INTRODUCTION. Fecal leukocytes are widely used to identify invasive diarrhea and to make then the decision of prescribing or not antibiotics. This test has been hardly assessed in small hospitals of developing countries with efficient laboratory processes. We aimed to assess the diagnostic performance of different thresholds of fecal leukocytes in children under-five with acute diarrhea.

MATERIAL AND METHODS. Retrospective study of clinical and laboratory records in the Pediatric Emergency Hospital, Lima, Peru. All cases with a stool culture and fecal leukocytes independently and systematically performed were studied. Sensitivity, specificity, predictive values, likelihood ratios (LR), and receiver operating characteristics (ROC) curves were calculated.

RESULTS. Out of 1,804 stool samples assessed, 901 (49,9%) were positive for one or more bacterial enteropathogens. Sensitivity (Sn), specificity (Sp), and positive LR varied for different thresholds: more than 5 (S: 93.2%, Sp: 21.9%, LR+), more than 20 (Sn: %, Sp: %, +LR:), more than 50 (Sn: 74.9%, Sp: 56.7%, +LR: 1.73), and more than 100 fecal leukocytes per high power field (Sn: 60.7%, Sp: 71.9%, LR+: 2.17). The general area under the ROC curve was 0.69 (CI 95%: 0.67-0.72).

1. Critical Appraisal Skills Programme Perú, Escuela de Medicina, Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas, Unidad de Terapia Intensiva Pediátrica, Hospital de Emergencias Pediátricas, Lima, Perú.
2. Policlínico Bellavista, ESSALUD, Lima, Perú.
3. Universidad Peruana Cayetano Heredia,
4. Universidad Nacional Mayor de San Marcos,
5. Instituto Nacional de Salud del Niño, Lima, Perú

Conclusions. Diagnostic performance of fecal leukocytes is suboptimal and may not warrant its continued use in developing settings, as it promotes antibiotic abuse, and on the other hand increases the risk of overlooking patients with invasive diarrhea who may benefit from antibiotic treatment. Combination of epidemiological and clinical data with either fecal leukocytes or fecal lactoferrin may provide a more efficient approach.

KEY WORDS: fecal leukocytes, diarrhea, child, diagnosis, developing countries

INTRODUCCIÓN

Más de un billón de episodios diarreicos ocurren en el mundo cada año,^{1,2} particularmente en niños pequeños, en los cuales generan una elevada morbilidad y mortalidad,³⁻⁵ constituyendo además un factor importante de persistencia del ciclo desnutrición-infección-desnutrición y de sus consecuencias negativas en el desarrollo del capital humano.^{6,7}

La incidencia de diarrea en el país todavía es alta, estimándose en 4,38 episodios por niño-año para regiones económicamente deprimidas.⁸ Es todavía uno de los principales motivos de atención en el Hospital de Emergencias Pediátricas de Lima Perú, generando un total de 6,261 consultas ambulatorias en menores de cinco años anualmente, de los cuales 326 se hospitalizan.⁹ Debido a que una proporción sustancial de esos casos (40 a 60%) corresponde a etiología viral, para poder decidir qué niño debe recibir antibioterapia, es evidente la necesidad de contar con criterios adecuados que permitan discriminar a aquellos que se podrían beneficiar de tratamiento antibiótico de los que no lo requieren.

Los mecanismos de acción de los enteropatógenos involucrados son muy diversos, puesto que mientras los virus y los enteropatógenos enterotoxigénicos suelen inducir una respuesta inflamatoria mínima, en las infecciones por bacterias enteroinvasivas, la respuesta inflamatoria intestinal que involucra activación y quimiotaxis de leucocitos polimorfonucleares, suele ser más intensa y puede expresarse en la presencia de deposiciones con moco y sangre, además de abundantes leucocitos en las heces o la presencia de lactoferrina fecal.^{10,11}

Dada la limitada disponibilidad de pruebas diagnósticas que permiten discernir rápidamente la etiología de esta enfermedad, muchos pacientes con diarrea aguda infecciosa son tratados empíricamente con antibióticos, aun cuando la mayoría de diarreas agudas son causadas por agentes patógenos que no responden a éstos, como los virus y los agentes enterotoxigénicos.

El abuso de agentes antibacterianos aumenta el riesgo de efectos adversos relacionados al fármaco y contribuye a la resistencia antibiótica y al uso indiscriminado de recursos en países como el nuestro. En este contexto, la búsqueda de leucocitos fecales reviste obvio interés, pues si bien no indica etiología, sugiere un agente invasivo o un proceso inflamatorio intestinal importante. Sin embargo, diversos estudios primarios publicados, la mayoría de ellos evalua-

dos en dos meta-análisis, muestran una sustancial heterogeneidad en el realizados en países desarrollados como países en desarrollo.^{12,13}

Una de las revisiones sistemáticas publicadas sobre el tema, llevada a cabo sobre la base de estudios primarios en países desarrollados y en desarrollo, sugiere que la prueba de lactoferrina fecal es la de mayor utilidad, con un rendimiento menor de las otras pruebas como la prueba de leucocitos fecales, la prueba de sangre oculta y la combinación de datos clínicos.¹² Sin embargo, los autores señalan que el número de artículos primarios que evalúan la lactoferrina fecal y los datos clínicos es pequeño y que por tanto hay que tener cautela con las conclusiones. Otra revisión sistemática reciente sobre la utilidad de pruebas diagnósticas ha mostrado que la prueba de leucocitos fecales es tan útil como la lactoferrina fecal en países desarrollados,¹³ debido muy probablemente a un procesamiento más rápido y eficiente de las muestras, en contraste con lo que muy probablemente sucede en los establecimientos de salud de muchos países en desarrollo. Estos estudios dejaron pendiente la descripción de cuán eficiente es el procesamiento de la prueba de leucocitos fecales y de los coprocultivos en la práctica rutinaria en establecimientos de salud de diverso tamaño y complejidad, y la determinación de la influencia de dichos factores sobre el rendimiento de dichas pruebas.

El presente estudio se desarrolló para evaluar el rendimiento del coprocultivo y la utilidad diagnóstica de la prueba de leucocitos fecales en el contexto de un hospital pediátrico pequeño de un país en desarrollo, con procesos de laboratorio comparativamente más rápidos y eficientes, incluyendo el procesamiento y lectura de la prueba de leucocitos fecales y de los exámenes microbiológicos en muestras de heces diarreicas.

MATERIAL Y MÉTODOS

DISEÑO

Estudio retrospectivo de recolección de datos de las historias clínicas y registros de laboratorio del Hospital de Emergencias Pediátricas, Lima Perú.

POBLACIÓN

Pacientes menores de cinco años con diagnóstico de diarrea aguda infecciosa, atendidos ambulatoriamente en el Hospital de Emergencias Pediátricas, durante el período 2002 – 2004.

TAMAÑO DE LA MUESTRA

Se trabajó con el universo de todas las muestras de coprocultivo tomadas a los pacientes atendidos por diarrea aguda durante el período indicado.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Pacientes menores de cinco años, con diagnóstico de diarrea aguda infecciosa, a quienes se le hubiera solicitado leucocitos fecales y coprocultivo.

PROCEDIMIENTOS

Se revisó los registros de laboratorio del Hospital de Emergencias Pediátricas, entre Enero 2002 y Marzo del 2004. Se seleccionó aquellos casos en los que se había solicitado simultánea e independientemente examen microscópico de heces para detectar leucocitos fecales y examen microbiológico para identificar el agente etiológico.

El flujograma de procedimientos en el Hospital de Emergencias Pediátricas incluye la siguiente secuencia: una vez que el médico asistente solicita un examen de leucocitos fecales en niños con diarrea, la madre acude al laboratorio a recoger el recipiente en el que se tomará la muestra. La madre toma una muestra de heces recién emitida, siendo instruida para que la entregue antes de 2 horas de tomada. Si han transcurrido más de 2 horas, el tecnólogo encargado solicita a la madre que tome otra muestra. Recibida la muestra, se hace de inmediato el frotis en lámina periférica usando azul de metileno. Se observa el frotis en microscopio con objetivo de alto poder (400x) y el informe se realiza en el plazo de 30 minutos. El resultado es informado como número de leucocitos por campo de alto poder.

Por otra parte, el médico asistente solicita a su discreción, en caso de sospechar etiología bacteriana del cuadro, un coprocultivo. Es requisito indispensable que se trate de una muestra fresca, que debe ser entregada de inmediato en el laboratorio. Esta muestra es cultivada simultáneamente en los siguientes medios de cultivo: agar SS (Salmonella y Shigella), agar McConkey, agar XLD, agar Columbian con suplemento de crecimiento antibiótico para *Campylobacter* SR0085E Y SR0232E, agar TCBS y caldo de enriquecimiento de selenito.

ANÁLISIS

Para propósitos del análisis de rendimiento diagnóstico, los resultados del examen microscópico para leucocitos fecales fueron categorizados en los siguientes umbrales de positividad: <5, 5-20, 21-50, 51-100 y >100 leucocitos por campo de alto poder (400x).

Para evaluar la utilidad diagnóstica de la prueba de leucocitos fecales se calculó la sensibilidad, especificidad y los valores predictivos, así como el cociente de probabilidad (CP, LR en inglés) tanto para resultados positivos como para re-

sultados negativos, con sus respectivos valores de intervalo de confianza del 95%, utilizando una hoja de cálculo (Microsoft Office Excel 2003). El rendimiento diagnóstico de la prueba de leucocitos fecales tomando como estándar de oro el coprocultivo, se puede interpretar mejor observando los CP, tanto positivos, como negativos. Los cocientes de probabilidad se definen de la siguiente manera:

$$\begin{aligned} \text{CP positivo} &= \text{sensibilidad} / 1 - \text{especificidad} \\ \text{CP negativo} &= 1 - \text{sensibilidad} / \text{especificidad} \end{aligned}$$

De modo que un CP positivo mayor que la unidad indica que el resultado positivo de la prueba nos ayuda a confirmar la presencia de la enfermedad (aumenta nuestra probabilidad post-prueba) y un CP negativo menor que la unidad nos ayuda a descartar la enfermedad (disminuye nuestra probabilidad post-prueba). Por lo tanto, es deseable que una prueba diagnóstica presente CP positivos altos y CP negativos bajos.

Para poder observar gráficamente y de manera simultánea el rendimiento diagnóstico de la prueba para todo el rango de umbrales de positividad o puntos de corte, se construyó una curva de características operativas del receptor (ROC). El cálculo y la gráfica de la curva ROC se llevaron a cabo mediante el programa EPIDAT versión 3.1 (<http://dxsp.sergas.es/ApliEdatos/Epidat/cas/default.asp>).

RESULTADOS

Se evaluaron 1,799 muestras en las que se realizaron tanto la prueba de leucocitos fecales como el coprocultivo, de las cuales 976 resultaron positivos para uno o más enteropatógenos. Los agentes patógenos aislados con más frecuencia fueron: *Shigella flexneri* (33,5%), *Campylobacter* sp (21,8%), *Shigella sonnei* (14,1%), *E. coli* enteropatógena (9,1%), *Campylobacter jejuni* (8,6%) y *Shigella* sp. (4%), (Tabla 1). En 76 pacientes se obtuvo cultivos con dos enteropatógenos y en 2 pacientes cultivos con tres enteropatógenos.

Tabla 1. Agentes infecciosos recuperados en el coprocultivo

Agente infeccioso	Número	Porcentaje
<i>Shigella flexneri</i>	327	33.50%
<i>Campylobacter</i> sp.	213	21.82%
<i>Shigella sonnei</i>	138	14.14%
<i>Escherichia coli</i> enteropatógena	89	9.12%
<i>Campylobacter jejuni</i>	84	8.61%
<i>Shigella</i> sp.	39	4.00%
<i>Salmonella enteritidis</i>	33	3.38%
<i>Escherichia coli</i> enteroinvasiva	25	2.56%
<i>Shigella boydii</i>	11	1.13%
<i>Salmonella typhi</i>	4	0.41%
<i>Escherichia coli</i> enterotoxigenica	3	0.31%
<i>Plesiomona shigelloides</i>	3	0.31%
<i>Salmonella</i> Grupo B	2	0.20%
<i>Shigella dysenteriae</i>	2	0.20%
<i>Yersinia enterocolitica</i>	1	0.10%
<i>Salmonella</i> Grupo A	1	0.10%
<i>Salmonella</i> sp.	1	0.10%
Total	976	100.00%

Al relacionar los resultados del coprocultivo con los diferentes umbrales de leucocitos fecales, se observa una relación directamente proporcional; es decir, a medida que aumenta el número de leucocitos en heces, es mayor la probabilidad de obtener un coprocultivo positivo para un enteropatógeno (Tabla 2). La probabilidad de encontrar un enteropatógeno bacteriano en los pacientes con leucocitos fecales de menos de 5 por campo fue de 23%, en tanto para los pacientes con más de 100 leucocitos fecales por campo la probabilidad fue de 68%.

Tabla 2. Resultados de la prueba de leucocitos fecales para diferentes umbrales de positividad para todos los enteropatógenos bacterianos.

Leucocitos por campo	Cultivo positivo	%	Cultivo negativo	%	Total
< 5	60	23%	197	77%	257
5 – 20	44	28%	115	72%	159
21 – 50	120	38%	198	62%	318
51 – 100	127	48%	138	52%	265
> 100	547	68%	253	32%	800

Las Tablas 3-5 muestran la asociación entre el número de leucocitos fecales y el número y porcentaje de coprocultivos positivos para *Shigella*, *Campylobacter* y *Shigella-Campylobacter* combinados, respectivamente. En el caso de *Shigella*, la presencia de menos de 5 leucocitos por campo se asoció con 9% de coprocultivos positivos y la presencia de más de 100 leucocitos por campo con 56% de coprocultivos positivos (Tabla 3). La proporción de cultivos positivos para *Campylobacter* cuando hubo menos de 5 y más de 100 leucocitos por campo fue 9% y 31%, respectivamente (Tabla 4). Cuando se consideró *Shigella* y *Campylobacter* juntos, la presencia de menos de 5 leucocitos por campo se asoció a 16% de coprocultivos positivos y la presencia de más de 100 leucocitos por campo a 63% de coprocultivos positivos (Tabla 5).

Tabla 3. Resultados de la prueba de leucocitos fecales para diferentes umbrales de positividad: *Shigella* (estándar de referencia: coprocultivo).

	Cultivo positivo	%	Cultivo negativo	%	Total
< 5	20	9%	215	91%	235
5 – 20	14	10%	124	90%	138
21 – 50	34	13%	219	87%	253
51 – 100	62	29%	151	71%	213
> 100	351	56%	276	44%	627

Tabla 4. Resultados de la prueba de leucocitos fecales para diferentes umbrales de positividad: *Campylobacter* (estándar de referencia: coprocultivo).

	Cultivo positivo	%	Cultivo negativo	%	Total
< 5	20	9%	215	91%	235
5 – 20	15	11%	124	89%	139
21 – 50	61	22%	219	78%	280
51 – 100	42	22%	151	78%	193
> 100	123	31%	276	69%	399

Tabla 5. Resultados de la prueba de leucocitos fecales para diferentes umbrales de positividad: *Shigella* y *Campylobacter* combinados (estándar de referencia: coprocultivo)

	Cultivo positivo	%	Cultivo negativo	%	Total
< 5	40	16%	215	84%	255
5 – 20	29	19%	124	81%	153
21 – 50	95	30%	219	70%	314
51 – 100	104	41%	151	59%	255
> 100	474	63%	276	37%	750

Tabla 6. Rendimiento diagnóstico de la prueba de leucocitos fecales para todos los enteropatógenos bacterianos y para diferentes umbrales de positividad (estándar de referencia: coprocultivo).

Leucocitos por campo	Cultivo positivo	Cultivo negativo	Sensibilidad (IC 95%)	Especificidad (IC 95%)	VPP (IC 95%)	VPN (IC 95%)	CP (+) (IC 95%)	CP (-) (IC 95%)
>5	838	704	93.32% (91.43-94.82)	21.86% (19.24-24.74)	54.35% (51.82-56.85)	76.65% (70.91- 81.59)	1.19 (1.15-1.24)	0.31 (0.23-0.40)
>20	794	589	88.42% (86.10-90.40)	34.63% (31.54-37.85)	57.41% (54.75-60.03)	75.0% (70.5-79.03)	1.35 (1.28-1.43)	0.33 (0.27-0.41)
>50	674	391	75.06% (72.07-77.83)	56.6% (53.29-59.86)	63.29% (60.3-66.17)	69.48% (65.99-72.77)	1.73 (1.59-1.88)	0.44 (0.39-0.5)
>100	547	253	60.91% (57.63-64.11)	71.92% (68.84-74.81)	68.38% (65.01-71.56)	64.86% (61.8-67.81)	2.17 (1.93-2.44)	0.54 (0.50-0.60)

IC: Intervalo de confianza. VPP: Valor predictivo positivo. VPN: Valor predictivo negativo. CP: cociente de probabilidad.

La Tabla 6 muestra el rendimiento diagnóstico de la prueba para todos los enteropatógenos bacterianos y para los diferentes umbrales de positividad. Cuando se consideró un umbral de positividad de más de 5 leucocitos por campo se observó la más alta sensibilidad (93,32%), con una especificidad muy baja (21,86%), con lo cual el cociente de probabilidad (CP) positivo apenas superó la unidad. Con un

Tabla 7. Rendimiento diagnóstico de la prueba de leucocitos fecales para *Shigella*, con diferentes umbrales de positividad (estándar de referencia: coprocultivo).

Leucocitos por campo	Cultivo positivo	Cultivo negativo	Sensibilidad (IC 95%)	Especificidad (IC 95%)	VPP (IC 95%)	VPN (IC 95%)	CP (+) (IC 95%)	CP (-) (IC 95%)
>5	461	770	95.84% (93.54-97.37)	21.83% (19.31-24.57)	37.45% (34.75-40.23)	91.49% (86.97- 94.59)	1.23 (1.18-1.27)	0.19 (0.12-0.30)
>20	447	646	92.93% (90.17-94.99)	34.42% (31.47-37.49)	40.90% (37.97-43.88)	90.88% (87.38-93.52)	1.42 (1.35-1.49)	0.21 (0.15-0.29)
>50	413	427	85.86% (82.35-88.79)	56.65% (53.48-59.76)	49.17% (45.74-52.6)	89.14% (86.37-91.41)	1.98 (1.83-2.15)	0.25 (0.20-0.31)
>100	357	276	72.97% (68.73-76.85)	71.98% (69.04-74.74)	55.98% (51.99-59.9)	84.51% (81.84-86.85)	2.6 (2.32-2.92)	0.38 (0.32-0.44)

IC: Intervalo de confianza. VPP: Valor predictivo positivo. VPN: Valor predictivo negativo. CP: cociente de probabilidad

Tabla 8. Rendimiento diagnóstico de la prueba de leucocitos fecales para *Campylobacter*, con diferentes umbrales de positividad (estándar de referencia: coprocultivo).

Leucocitos por campo	Cultivo positivo	Cultivo negativo	Sensibilidad (IC 95%)	Especificidad (IC 95%)	VPP (IC 95%)	VPN (IC 95%)	CP (+) (IC 95%)	CP (-) (IC 95%)
>5	241	770	92.34% (88.24-95.14)	21.83% (19.31-24.57)	23.84% (21.27-26.61)	91.49% (86.97- 94.59)	1.18 (1.13-1.24)	0.35 (0.23-0.54)
>20	226	646	86.59% (81.71-90.36)	34.42% (31.47-37.49)	25.92% (23.06-28.99)	90.64% (87.11-93.31)	1.32 (1.24-1.41)	0.39 (0.28-0.54)
>50	165	427	63.22% (57.02-69.02)	56.65% (53.48-59.76)	27.87% (24.33-31.7)	85.32% (82.32-87.9)	1.46 (1.30-1.64)	0.65 (0.55-0.77)
>100	123	276	47.13% (40.97-76.85)	71.98% (69.04-74.74)	30.83% (26.38-35.65)	83.71% (81.01-86.1)	1.68 (1.43-1.98)	0.73 (0.65-0.83)

IC: Intervalo de confianza. VPP: Valor predictivo positivo. VPN: Valor predictivo negativo. CP: cociente de probabilidad

Tabla 9. Rendimiento diagnóstico de la prueba de leucocitos fecales para *Shigella* y *Campylobacter* combinados, con diferentes umbrales de positividad: (estándar de referencia: coprocultivo).

Leucocitos por campo	Cultivo positivo	Cultivo negativo	Sensibilidad (IC 95%)	Especificidad (IC 95%)	VPP (IC 95%)	VPN (IC 95%)	CP (+) (IC 95%)	CP (-) (IC 95%)
>5	702	770	94.61% (92.67-96.07)	21.83% (19.31-24.57)	47.69% (45.11-50.28)	84.31% (79.13- 88.44)	1.21 (1.17-1.26)	0.25 (0.18-0.34)
>20	673	646	90.7% (88.32-92.65)	34.42% (31.47-37.49)	51.02% (48.29-53.75)	83.09% (79.01-86.52)	1.38 (1.3-1.46)	0.27 (0.21-0.34)
>50	578	427	77.9% (74.7-80.8)	56.65% (53.48-59.76)	57.51% (54.38-60.58)	77.29% (74.02-80.26)	1.8 (1.66-1.95)	0.39 (0.34-0.45)
>100	474	276	63.88% (60.29-67.32)	71.98% (69.04-74.74)	63.2% (59.62-66.64)	72.57% (69.63-73.52)	2.28 (2.03-2.55)	0.5 (0.45-0.56)

IC: Intervalo de confianza. VPP: Valor predictivo positivo. VPN: Valor predictivo negativo. CP: cociente de probabilidad

umbral de más de 20 leucocitos por campo como punto de corte para determinar diarrea aguda bacteriana, el CP positivo mejoró, sin alterar significativamente el CP negativo. Las pruebas con más de 50 leucocitos por campo tuvieron una sensibilidad de 75,1% y una especificidad de 56,6%, con un CP positivo discretamente mayor (1.73) y un CP negativo de 0.44. En tanto el umbral de más de 100 leucocitos por campo mostró una sensibilidad de 60,9% y una especificidad de 71,9%, con un CP positivo de 2.17 y uno negativo de 0.54.

En la Figura 1 se muestra el rendimiento diagnóstico de todo el rango de umbrales o puntos de corte evaluados para todos los enteropatógenos bacterianos, es decir, tanto la sensibilidad como la proporción de falsos positivos para cada umbral de positividad. Los puntos de corte de más de 5 y más de 20 leucocitos por campo muestran una sensibili-

dad mayor, pero una proporción de falsos positivos también mayor. Los puntos de corte de más de 50 y más de 100 leucocitos por campo, en cambio, muestran una sensibilidad sustancialmente menor y al mismo tiempo una proporción de falsos positivos menor. El área bajo la curva ROC para todos los enteropatógenos bacterianos y para todo el rango de umbrales de positividad es 0.726 (Figura 1).

En el análisis de sub-grupos, se obtuvieron mejores CPs y una mayor área bajo la curva ROC cuando se analizaron los coprocultivos positivos a *Shigella* por separado (Tabla 7 y Figura 2). Los CPs y las áreas bajo la curva ROC en el caso de *Campylobacter* muestran un menor rendimiento (Tabla 8 y Figura 3), en tanto son intermedios para *Shigella* y *Campylobacter* combinados (Tabla 9 y Figura 4).

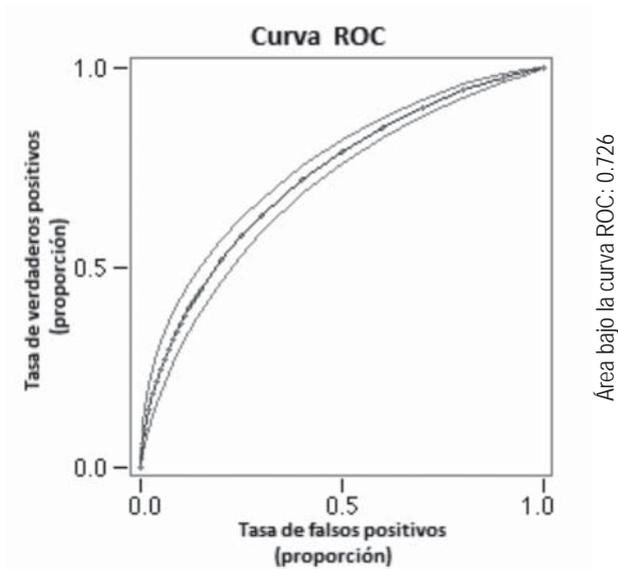


Figura 1. Curva ROC para los diferentes umbrales de positividad de leucocitos fecales (todos los enteropatógenos bacterianos). Área bajo la curva ROC: 0.726

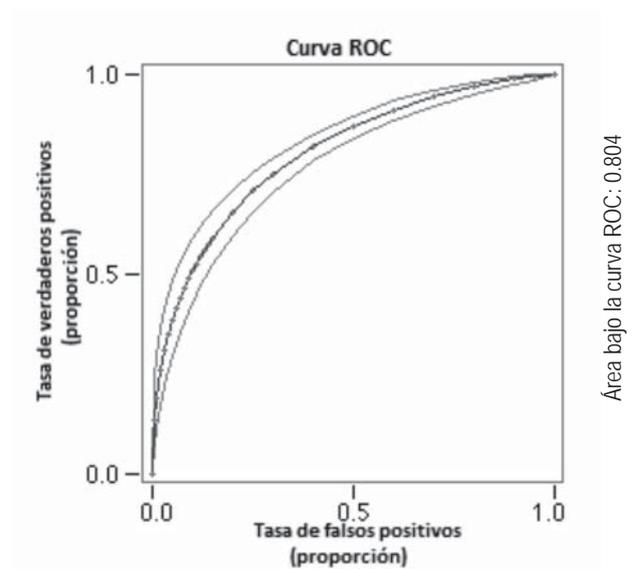


Figura 2. Curva ROC para los diferentes umbrales de positividad de leucocitos fecales (Shigella). Área bajo la curva ROC: 0.804

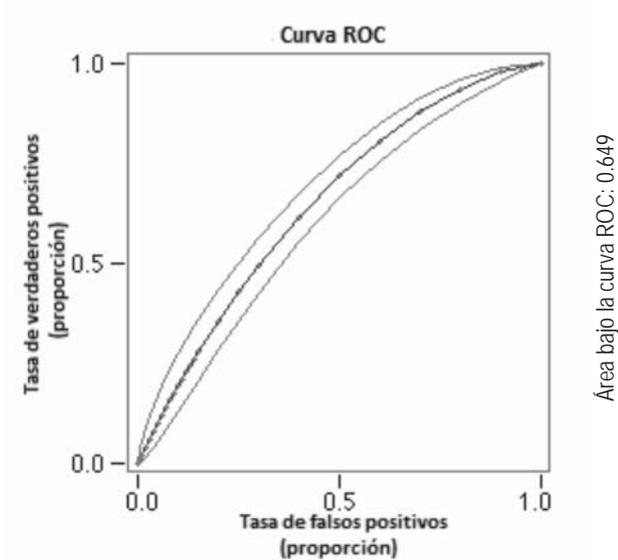


Figura 3. Curva ROC para los diferentes umbrales de positividad de leucocitos fecales (Campylobacter). Área bajo la curva ROC: 0.649

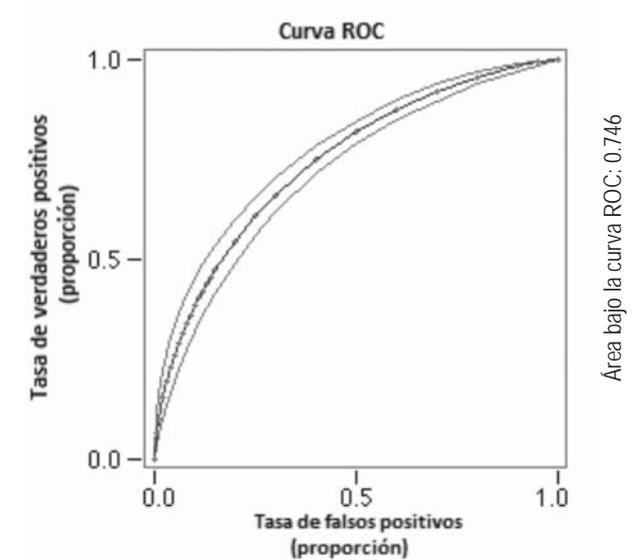


Figura 4. Curva ROC para los diferentes umbrales de positividad de los leucocitos fecales (Shigella y Campylobacter). Área bajo la curva ROC: 0.746

DISCUSIÓN

El rendimiento del coprocultivo en este estudio fue sustancialmente mayor (49,9%) en comparación con otros estudios, como el de Silletti et al,¹⁴ que se realizó en países desarrollados, el mismo que obtuvo un 3% de positividad, en tanto los trabajos de Huicho,^{15,16} y Ruiz-Pelaez y Mattar¹⁷ obtuvieron un rendimiento de 21% y 24% respectivamente, habiendo sido realizados en países en desarrollo.

Pueden existir diversas razones para dicho hallazgo. En primer lugar, la toma de la muestra y el procesamiento de las muestras fecales en un hospital pequeño son más rápidos y confiables que en un hospital grande, el cual tiene una carga de pacientes mayor y un laboratorio ocupado y con mayor

demanda. En estos hospitales el tiempo que transcurre entre la indicación de la prueba y su realización suele ser de varias horas. La muestra es tomada habitualmente por una técnica de enfermería que está encargada de cuidar varios pacientes a la vez y a la que usualmente no se le instruye que debe tomar una muestra recién emitida y de preferencia la porción con moco fecal. Esta muestra debe esperar un tiempo antes de ser llevada al laboratorio central junto con otras muestras solicitadas. En el laboratorio central debe esperar varias horas antes de ser separada para realizar el frotis correspondiente y ser observada al microscopio. Este largo proceso aumenta enormemente el riesgo de falsos negativos. Agentes como Salmonella, Shigella y Campylobacter son muy lábiles y no permanecen viables por muchas horas si las muestras fecales no son cultivadas de inmediato. Otra

razón importante es que muchos laboratorios de microbiología no cuentan habitualmente con los insumos necesarios para buscar sistemáticamente la amplia gama de posible enteropatógenos y entonces el rendimiento del coprocultivo y del examen microbiológico se reducen significativamente.¹⁸

Otra razón plausible que debe haber contribuido al rendimiento comparativamente alto del coprocultivo en nuestro estudio es que en el Hospital de Emergencias Pediátricas se busca sistemáticamente en toda muestra fecal enviada para coprocultivo los enteropatógenos de mayor importancia en la diarrea aguda de los niños, a saber: *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*, *E. coli* enteropatógena, *E. coli* enteroinvasiva, *E. coli* enterohemorrágica, además de otros agentes como *Yersinia enterocolitica* y *V. cholerae*.

A diferencia de otros estudios como el de Larrosa-Haro,¹⁹ en el cual el principal enteropatógeno aislado fue *Campylobacter jejuni*, en este estudio el más frecuente fue *Shigella flexneri*, seguido de *Campylobacter sp* y *Shigella sonnei*, y más atrás de *Campylobacter jejuni*.

Las variaciones reportadas en el rendimiento diagnóstico de la prueba de leucocitos fecales dependen de diversos factores como la condición de pacientes ambulatorios u hospitalizados;²⁰ o del nivel de desarrollo del país en el que se realizó el estudio.¹³ El tipo de estándar de oro utilizado influye también de manera importante, y con el advenimiento de diversas pruebas de biología molecular, ha mejorado sustancialmente la posibilidad de identificar enteropatógenos diversos que el coprocultivo estándar no puede lograr.^{21,22}

Nuestros resultados muestran que el CP positivo para más de 5 leucocitos fecales por campo es muy pequeño, cercano a la unidad (1.19), por lo cual no podríamos usarlo como punto de corte de utilidad clínica, pues no incrementa de manera importante la probabilidad post-prueba de encontrar un enteropatógeno bacteriano. Cuando hay más de 20 leucocitos fecales por campo, el CP positivo aumenta (1.35) pero es todavía un valor muy bajo para ser aceptable clínicamente, y adicionalmente, su CP negativo casi no se modifica. La presencia de más de 50 y más de 100 leucocitos fecales por campo se asocian a mejores CP positivos sin ser óptimos, pero sus CP negativos también aumentan como es de esperar.

El presente estudio corrobora los resultados de estudios previos, en los que el rendimiento diagnóstico de la prueba de leucocitos fecales, tomando en cuenta varios umbrales de positividad, está lejos de ser óptimo para su uso en la práctica clínica, incluso en un hospital pequeño, cuyo procesamiento de muestras fecales es rápido y eficiente, en el que hubiéramos esperado resultados más prometedores. Este bajo rendimiento significa que, por una parte, una prueba positiva no brinda la suficiente certidumbre como para confirmar confiablemente que se está frente a un enteropatógeno bacteriano invasivo que requeriría de tratamiento antibiótico. Por otra parte, un resultado falso negativo no permite descartar la presencia de un enteropatógeno bacteriano invasivo y concentrarse en la rehidratación oral y la alimentación continuada, evitando dar antibióticos. En el primer caso, la tasa comparativamente alta de falso positivos llevaría a utilizar en exceso antibióticos y en el segundo caso, los resultados falso negativos, también

relativamente frecuentes, evitarían el uso de antibióticos en pacientes que los requieren, con los consiguientes riesgos de complicaciones de la diarrea.

Más aún, utilizando pruebas de reacción en cadena de polimerasa y genes de virulencia ad-hoc, hemos demostrado recientemente que cepas de *E. coli* diarreagénica se asocian con una respuesta inflamatoria moderadamente positiva, traducida en presencia de leucocitos fecales entre 11 y 20 por campo de alto poder, reforzando la percepción de la limitada utilidad de la prueba, particularmente en los casos de patógenos que producen una respuesta inflamatoria poco intensa.²³

Incluso en establecimientos de salud como el nuestro, en los que la tasa de falsos negativos es menor, por la mayor rapidez y eficiencia de la toma y procesamiento de las muestras, la prueba de leucocitos fecales no demostró un rendimiento diagnóstico óptimo, y sugiere la necesidad de reconsiderar su uso rutinario en la práctica clínica, investigando al mismo tiempo alternativas más eficientes.

Dentro de esta perspectiva, resulta imperativo llevar a cabo estudios en los que se combine datos epidemiológicos y clínicos simples y relevantes con la prueba de leucocitos fecales y la lactoferrina, para definir cuál es la aproximación más eficiente, puesto que la realización rutinaria del coprocultivo no es viable, por ser una prueba con muy pobre rendimiento y por tanto con muy pobre costo-efectividad.

Por otra parte, es necesaria una mayor investigación para poder explicar el alto número de leucocitos en heces en países en desarrollo, incluso en pacientes sin sospecha de infección bacteriana, es decir con coprocultivo negativo. Posibles explicaciones que requieren de mayor investigación incluyen la posibilidad de que los episodios repetidos de diarrea aguda infecciosa perpetúen un estado de inflamación intestinal persistente, o que la alta prevalencia de parasitosis intestinal y co-infecciones con varios enteropatógenos en poblaciones pediátricas como la nuestra altamente expuestas a dichos agentes contribuyan a dicho estado.^{24,25}

CONCLUSIONES

La prueba de leucocitos fecales no parece un indicador confiable de etiología bacteriana inflamatoria de diarrea aguda infecciosa en niños de países en desarrollo como el Perú, incluso en establecimientos de salud más eficientes en el procesamiento de las muestras fecales.

FUENTE DE FINANCIAMIENTO:

Ninguna fuente externa.

CONFLICTOS DE INTERÉS:

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés

Correspondencia:

Luis Huicho - email: lhuicho@gmail.com

REFERENCIAS

1. MEAD PS, SLUTSKER L, DIETZ V et al. Food – related illness and death in the United States. *Emerg Infect Dis* 1999; 5:607-25.
2. BERN C, MARTINES J, DE ZOYSA I, Glass RI. The magnitude of the global problem of diarrhoeal disease: a ten year update. *Bull World Health Organ* 1992; 70:705-14.
3. BLACK RE, MORRIS SS, BRYCE J. Where and why are 10 million children dying every year? *Lancet*. 2003;361:2226-34.
4. BOSCHI-PINTO C, VELEBIT L, SHIBUYA K. Estimating child mortality due to diarrhoea in developing countries. *Bull World Health Organ* 2008;86:710-7.
5. UNICEF/WHO. Diarrhoea: why children are still dying and what can be done. Geneva, 2009. Disponible en: http://www.who.int/child_adolescent_health/documents/9789241598415/en/index.html. Acceso en 2011 (Setiembre 3).
6. KEUSCH GT. The history of nutrition: malnutrition, infection and immunity. *J Nutr* 2003;133:336S-40S.
7. LORNTZ B, SOARES AM, MOORE SR, PINKERTON R, GANSNEDER B, BOVBJERG VE, GUYATT H, Lima AM, Guerrant RL. Early childhood diarrhea predicts impaired school performance. *Pediatr Infect Dis J*. 2006 Jun;25(6):513-20.
8. KOSEK M, YORI PP, PAN WK, OLORTEGUI MP, GILMAN RH, PEREZ J, et al. Epidemiology of highly endemic multiply antibiotic-resistant shigellosis in children in the Peruvian Amazon. *Pediatrics*. 2008;122:e541-49.
9. Unidad de Estadística, Hospital de Emergencias Pediátricas, Ministerio de Salud, Lima, Perú.
10. GUERRANT RL, WANKE CA, BARRETT LJ, SCHWARTZMAN JD. A cost effective and effective approach to the diagnosis and management of acute infectious diarrhea. *Bull N Y Acad Med*. 1987;63:484-99.
11. CHOI SW, PARK CH, SILVA TM, ZAENKER EI, GUERRANT RL. To culture or not to culture: fecal lactoferrin screening for inflammatory bacterial diarrhea. *J Clin Microbiol* 1996;34:928-32.
12. HUICHO L, CAMPOS M, RIVERA J, GUERRANT RL. Fecal screening tests in the approach to acute infectious diarrhea: a scientific overview. *Pediatr Infect Dis J* 1996;15:486-94.
13. GILL C, LAU J; GORBACH SL, HAMER DH. Diagnostic accuracy of stool assays for inflammatory bacterial gastroenteritis in developed and resource poor countries. *Clin Infect Dis* 2003; 37: 365-75
14. SILLETTI RP, LEE G, AILEY E. Role of stool screening tests in diagnosis of inflammatory bacterial enteritis and in selection of specimens likely to yield invasive enteric pathogens. *J Clin Microbiol* 1996; 34:1161-5.
15. HUICHO L, SANCHEZ D, CONTRERAS M, PAREDES M, MURGA H, CHINCHAY L, GUEVARA G. Occult blood and fecal leukocytes as screening tests in childhood infectious diarrhea: an old problem revisited. *Pediatr Infect Dis J*. 1993;12:474-7.
16. HUICHO L, GARAYCOCHEA V, UCHIMA N, ZERPA R, GUERRANT RL. Fecal lactoferrin, fecal leukocytes and occult blood in the diagnostic approach to childhood invasive diarrhea. *Pediatr Infect Dis J* 1997; 16:644-7.
17. RUIZ-PELAEZ JG, MATTAR S. Accuracy of fecal lactoferrin and other stool test for diagnosis of invasive diarrhea at a Colombian pediatric hospital. *Pediatr Infect Dis J* 1999; 18:342-6.
18. GUERRANT RL, VAN GILDER T, STEINER TS, et al. Practice guidelines for the management of infectious diarrhea. *Clin Infect Dis* 2001;32:331-51.
19. LARROSA-HARO A, RUIZ-PÉREZ M, AGUILAR-BENAVIDES S. Utilidad del estudio de las heces para el diagnóstico y manejo de lactantes y preescolares con diarrea aguda. *Salud Pública de México* 2002;44: 328-3.
20. SAVOLA K, BARON E, TOMPKINS L, PASSARO D. Fecal leukocytes stain has diagnostic value for outpatients but not inpatients. *J Clin Microbiol* 2001;39:266-9.
21. MCIVER CJ, HANSMAN G, WHITE P, DOULTREE JC, CATTON M, RAWLINSON WD. Diagnosis of enteric pathogens in children with gastroenteritis. *Pathology*. 2001;33:353-8.
22. OCHOA TJ, CONTRERAS CA. Enteropathogenic Escherichia coli infection in children. *Curr Opin Infect Dis*. 2011;24:478-83.
23. MERCADO EH, OCHOA TJ, ECKER L, CABELLO M, DURAND D, BARLETTA F, MOLINA M, GIL AI, HUICHO L, LANATA CF, CLEARY TG. Fecal leukocytes in children infected with diarrheagenic Escherichia coli. *J Clin Microbiol*. 2011;49:1376-81.
24. PETRI WA JR, MILLER M, BINDER HJ, LEVINE MM, DILLINGHAM R, GUERRANT RL. Enteric infections, diarrhea, and their impact on function and development. *J Clin Invest*. 2008;118:1277-90.
25. OPINTAN JA, NEWMAN MJ, AYEH-KUMI PF, AFFRIM R, GEPI-ATTEE R, SEVILLEJA JE, ROCHE JK, NATARO JP, WARREN CA, GUERRANT RL. Pediatric diarrhea in southern Ghana: etiology and association with intestinal inflammation and malnutrition. *Am J Trop Med Hyg*. 2010;83:936-43.