



Bacterias oportunistas y microbiota en niños con leucemia y enterocolitis neutropénica

Guadalupe García-Elorriaga,^a Juan C. Corona-de los Santos,^b Socorro Méndez-Tovar,^b Guillermo del Rey-Pineda,^c Ruy X. Pérez-Casillas^b

Opportunistic bacteria and microbial flora in children with leukemia and neutropenic enterocolitis

Objective: to determine the prevalence of opportunistic microorganisms and microbial flora in neutropenic enterocolitis in oncohematological pediatric patients.

Methods: a prospective and observational study was done. Patients with diagnosis of acute leukemia and neutropenia were included. Stool cultures were taken to identify microorganisms and microbial flora. χ^2 test with Yates corrections and Fisher exact test were used in the statistical analysis.

Results: twenty-one patients were included (12 male, 57.1 %). The stool cultures showed that 68 % of microorganisms were gram negative. The presence of microorganisms gram positive was of 20 %, 6 % for *Candida sp.*; 3 % for *Cryptosporidium sp.*; and in 3 % were observed acid fast bacilli. *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter sp.* and *Escherichia coli* were presented in pure culture. No association was found between microorganisms gram positive and gram negative with the age, white cell count or pure or mixed culture.

Conclusions: although gram negative microorganism were the most frequent, gram positive and other microorganisms that are not detected habitually in feces culture were isolated.

Key words

metagenoma
enterocolitis, neutropenic
hematology

La enterocolitis neutropénica, tiflitis o síndrome ileocecal es la infección gastrointestinal más común relacionada con la neutropenia.¹ Es potencialmente mortal y generalmente ocurre secundaria a quimioterapia, radioterapia y terapia molecular para leucemias agudas, neoplasias sólidas o enfermedades inmunodepresoras.²⁻⁴ Es el resultado del daño a la mucosa intestinal y puede progresar a perforación intestinal, falla orgánica multisistémica y sepsis.⁵

En Estados Unidos y en México, se desconocen la incidencia exacta y el rango de prevalencia de la enterocolitis neutropénica. Con frecuencia se encuentra sangre oculta en heces, los estudios de laboratorio son inespecíficos y no se realiza una tomografía axial computarizada.⁶ El diagnóstico se debe sospechar en los pacientes con fiebre, sintomatología abdominal, neutropenia y que hayan recibido quimioterapia.^{1,7}

En la patogénesis de la enfermedad interviene la neutropenia leve con una cuenta menor de 1000/mm³ y el uso de antibióticos y esteroides puede modificar la flora bacteriana entérica y favorecer el sobrecrecimiento de hongos y dañar la mucosa intestinal.^{8,9} Cuando existe daño intestinal, la barrera de la mucosa se pierde y la invasión por organismos entéricos normales y oportunistas se facilita, particularmente en los pacientes inmunodeprimidos. Posteriormente, la infección de la pared intestinal puede aumentar el daño con necrosis tisular. La importancia de este proceso patológico es la ruta por la que la infección amenaza la vida, la cual ha podido ser observada en necropsias.^{10,11}

Peña *et al.*,¹² en los cortes histológicos obtenidos de 32 autopsias de pacientes con neoplasias hematológicas y tiflitis, encontraron edema, congestión vascular de la mucosa y, en algunos casos, necrosis extensa o focal acompañada de hemorragia de la submucosa y colonización bacteriana o fúngica. En los cultivos de tejido, los principales aislamientos correspondieron a *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus spp.*, *Citrobacter freundii* y *Candida spp.*

Los microorganismos considerados como parte de la microbiota del colon en el niño con una neoplasia hematológica pueden contribuir al desarrollo de la enterocolitis neutropénica después de múltiples procedimientos quimioterapéuticos.¹³ Por ello, *Pseudomonas sp.*, *Staphylococcus sp.*, *Klebsiella sp.*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*, *Escherichia coli* y *Enterobacter sp.*, entre otros, que en pacientes inmunocompetentes no representan riesgos, deberán ser considerados agentes potenciales de la enterocolitis neutropénica.¹⁴⁻¹⁶

Ya que predomina la etiología bacteriana y que la mayoría de las bacterias se origina en el tracto gastrointestinal y a través de la translocación alcanza el torrente sanguíneo, realizamos la determinación de la frecuencia de la microbiota en los pacientes referidos, para que el

Objetivo: determinar la microbiota y la prevalencia de microorganismos oportunistas en niños con leucemia y enterocolitis neutropénica.

Métodos: se realizó un estudio prospectivo observacional en pacientes con leucemia aguda y neutropenia. Se tomaron cultivos de heces para identificar la presencia de bacterias y microbiota. Se aplicó estadística descriptiva para su análisis.

Resultados: fueron incluidos 21 pacientes (12 hombres, 57.1 %). En 68 % de los coprocultivos se observó desarrollo de microorganismos gramnegativos. La presencia de microorganismos grampositivos fue de 20 %, 6 % de *Candida sp.*, 3 % de *Cryptosporidium sp.* y en 3 % se observaron bacilos ácido alcohol resis-

tentes. *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter sp.*, y *Escherichia coli* se observaron en cultivo puro. No se encontró asociación entre microorganismos grampositivos y gramnegativos con la edad, el recuento leucocitario ni el cultivo puro o mixto.

Conclusiones: aunque los microorganismos gramnegativos fueron los más frecuentes, se aislaron de manera importante grampositivos y otros que no se buscan de rutina en el coprocultivo.

Palabras clave

metagenoma
enterocolitis neutropénica
hematología

Resumen

uso de los fármacos se individualice de acuerdo con los signos, síntomas y hallazgos microbiológicos.

Métodos

Se realizó un estudio descriptivo, prospectivo, observacional y transversal, aprobado por el Comité Local de Investigación y Bioética del Hospital General del Centro Médico Nacional La Raza, Instituto Mexicano del Seguro Social. De agosto a noviembre de 2009 se obtuvieron muestras de coprocultivo de 21 niños atendidos en el Servicio de Hematología Pediátrica y con diagnóstico de enterocolitis neutropénica. Las edades fluctuaron entre los cero y 16 años.

Se incluyeron niños con diagnóstico de leucemia aguda que presentaron dolor abdominal, con o sin fiebre, evacuaciones diarreicas agudas o persistentes y con diagnóstico (clínico o confirmado) de colitis neutropénica secundaria a procedimientos quimioterapéuticos, cuyos tutores otorgaron el consentimiento para participar en el protocolo de investigación.

Durante 24 a 48 horas se sembraron muestras fecales en agar Sabouraud, agar McConkey, agar sangre y agar cromogénico. Una vez obtenido el crecimiento de los cultivos se identificaron los microorganismos por medio del sistema automatizado VITEK® (VITEK Industrial Video Products, Inc.), para lo cual se colocó una concentración bacteriana de 0.5 a 0.65 en tubos de ensayo con solución salina a 0.45 % y en tarjetas GNI para bacilos gramnegativos y GPI para cocos grampositivos más GPS-61, para estudio de sensibilidad. Antes de inocular las tarjetas se realizó tinción de Gram y reacción de oxidasa, catalasa o coagulasa, según el microorganismo.

Para la búsqueda de *Cryptosporidium sp.* se realizó tinción de Ziehl-Neelsen para bacilos ácido alcohol resistentes (BAAR), bajo la modalidad de Kinyoun o técnica en frío. Los ooquistes se observaron como esferas con coloraciones que iban del rosa pálido al bri-

llante, con un fondo de color azul intenso y un tamaño de 4 a 6 μm de diámetro, similar al de un eritrocito.

Se utilizó estadística descriptiva para el análisis de las variables nominales, χ^2 con corrección de Yates para valores esperados mayores de 5 y prueba exacta de Fisher para valores esperados menores de 5 en cualquiera de los introducidos en las tablas de contingencia. Se calcularon los valores de p y se identificaron como significativos los < 0.05 .

Resultados

Se incluyeron 12 niños (57 %) y nueve niñas (43 %); nueve (43 %) con leucemia mieloblástica aguda y 12 (57 %) con leucemia linfoblástica aguda. La edad promedio fue de 5.7 ± 3.2 años, la temperatura de 38.01 ± 0.98 °C, la cuenta leucocitaria de $1.17 \times 10^3 \pm 1.06 \times 10^3/\text{mL}$, la cuenta de neutrófilos de $288 \pm 382/\text{mL}$, la de plaquetas de $70.57 \pm 121/\text{mL}$, la hemoglobina de 10.13 ± 1.6 g/dL y la deshidrogenasa láctica de 498 ± 170 U/L.

Las prevalencias de los tipos de microorganismos encontrados se detallan en el cuadro I.

En 57 % de los pacientes se presentaron los aislamientos bacterianos en forma de cultivo mixto y en el resto, en cultivo puro. De los pacientes con cultivo mixto, en 83 % se aislaron dos microorganismos y en los demás, tres. Entre los microorganismos aislados en cultivo puro destacaron *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter sp.* y *Escherichia coli*.

Se encontró relación entre el cultivo puro y la edad mayor de seis años, así como entre el cultivo mixto y la edad menor de seis años.

No se encontró asociación entre microorganismos grampositivos o gramnegativos con cultivo puro, edad o recuento leucocitario.

Al momento del muestreo se utilizaron los siguientes antibióticos: metronidazol (29 %), amikacina

(17 %), ceftazidima (16 %), imipenem (15 %), vancomicina (11 %) y piperacilina (2 %). Los antimicóticos fueron anfotericina B (4 %), boriconazol (4 %) y flucanazol (2 %).

Discusión

La enterocolitis neutropénica sigue siendo un factor de morbilidad y mortalidad importante en los niños con leucemia, a pesar de lo cual en México no existen investigaciones publicadas que determinen la prevalencia.

En el presente estudio se identificaron diferencias con lo informado en la literatura¹⁷ respecto a la relación hombre:mujer, media de edad y frecuencia de la leucemia linfoblástica.

Así mismo, se identificó mayor predominio de microorganismos gramnegativos (68 %), similar a los hallazgos de otros investigadores:¹⁸ *Escherichia coli* representó 44 %, con sensibilidad para imipenem, vancomicina y metronidazol. Lo anterior es importante ya que la enterocolitis neutropénica puede progresar a sepsis y se ha informado que las bacterias gramnegativas comúnmente son responsables de la fiebre en los pacientes neutropénicos.¹⁹

A pesar de haber encontrado una prevalencia de 6 % de *Candida sp.*, 10 % de los pacientes recibió de manera empírica algún antimicótico como anfotericina B, boriconazol o flucanazol, tratamiento acorde con las recomendaciones formuladas para pacientes neutropénicos.²⁵ En otros pacientes con inmunodepresión importante se ha identificado 22 % de prevalencia de *Candida sp.*²⁶

El fármaco más empleado en el presente estudio fue el metronidazol (29 %). Aunque su uso está recomendado,²⁷ resulta contraproducente porque la flora anaerobia residente en el tracto digestivo tiene un papel importante en la resistencia a la colonización junto con los factores del hospedero. Se cree que los anaerobios previenen a largo plazo la colonización intestinal por aerobios. Es importante centrar la atención en este sitio dado que muchas infecciones se originan ahí.²⁸

La información sobre el manejo clínico de la enterocolitis neutropénica es escasa. Generalmente se recomienda el tratamiento conservador: descanso del intestino, líquidos intravenosos, nutrición parenteral, antibióticos de amplio espectro y normalización de las cuentas de neutrófilos.^{29,30}

Conclusiones

Aunque los microorganismos gramnegativos fueron los más frecuentes, se encontraron grampositivos y otros que no se buscan rutinariamente en los coprocultivos. *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter sp.* y *Escherichia coli* podrían ser patógenos potenciales en 43 %, ya que se encontraron en cultivos puros. No hubo relación entre los microorganismos grampositivos y gramnegativos y el tipo de cultivo (puro o mixto), edad del paciente o recuento leucocitario.

El diagnóstico oportuno y la incorporación de protocolos específicos para el estudio microbiológico son fundamentales en el área de hematología pediátrica y en el laboratorio de microbiología. La incorporación de tinciones especiales y medios microbiológicos que no se usan de rutina para el aislamiento de enteropatógenos podría ser de utilidad en la detección de patógenos potenciales en este tipo de pacientes.

La investigación presentada tuvo la limitación de disponer de una muestra pequeña de pacientes, por lo que será importante realizar otra con un mayor número de sujetos.

Declaración de conflicto de interés: los autores han completado y enviado la forma traducida al español de la declaración de conflictos potenciales de interés del Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas, y no fue reportado alguno en relación con este artículo.

Cuadro I Prevalencia de microorganismos

	%		%
Gramnegativos	68	Grampositivos	20
<i>E. coli</i>	44	<i>Enterococcus sp.</i>	71
<i>Enterobacter sp.</i>	31	<i>Enterococcus faecium</i>	
<i>Enterobacter aerogenes</i>		<i>Enterococcus avium</i>	
<i>Enterobacter cloacae</i>		<i>Enterococcus gallinarum</i>	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	19	<i>Staphylococcus sp.</i>	
<i>Serratia fonticola</i>	6	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	
<i>Candida sp.</i>	6	<i>Staphylococcus aureus</i>	
<i>Cryptosporidium</i>	3	Ácido alcohol resistentes	3

Otros resultados importantes fueron la identificación de microorganismos grampositivos en 20 % de los aislamientos (*Enterococcus sp.* fue el más representativo, en 71 % de los casos, si bien su prevalencia fue menor a la registrada por otros autores)²⁰ y la identificación de *Cryptosporidium sp.* (3 %) y *Candida sp.* (6 %). Es importante hacer énfasis en que ambos microorganismos se consideran oportunistas y que su asociación como agentes causales de infecciones en pacientes inmunodeprimidos oscila entre 12 y 6 %.²¹⁻²³ La investigación de oquistes no se realiza rutinariamente en los laboratorios²⁴ (ANOFEL, 2010), por lo que se debe hacer énfasis en que el médico tratante la solicite.

^aComité de Investigación y Bioética, Hospital de Infectología

^bLaboratorio de Análisis Clínicos, Hospital General

^cDepartamento de Infectología, Hospital Infantil de México "Federico Gómez", Secretaría de Salud, Distrito Federal, México

^{a,b}Centro Médico Nacional La Raza, Instituto Mexicano del Seguro Social, Distrito Federal, México

Comunicación con: Guadalupe García-Elorriaga
Correo electrónico: gelorriaga@webtelmex.net.mx

Referencias

- Ullery BW, Pieracci FM, Rodney JR, et al. Neutropenic enterocolitis. *Surg Infect (Larchmt)*. 2009;10(3):307-14.
- Cardona AF, Combariza JF, Reveiz L, et al. Características clínicas y microbiológicas de la colitis neutropénica en adultos con neoplasia hematológicas del Instituto Nacional de Cancerología de Bogotá D.C. (Colombia). *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2004;22(8):462-6.
- Gondal G, Johnson E, Paulsen V, et al. Treatment of neutropenic enterocolitis. *Tidsskr Nor Laegeforen*. 2010;28;130(2):143-45.
- Shafi MA, Bresalier RS. The gastrointestinal complications of oncologic therapy. *Gastroenterol Clin North Am*. 2010;39(3):629-47.
- Cloutier RL. Neutropenic enterocolitis. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2010;24(3):577-84.
- Kirkpatrick ID, Greenberg HM. Gastrointestinal complications in the neutropenic patient: characterization and differentiation with abdominal CT. *Radiology*. 2003;226(6):668-74.
- Thoeni R, Cello J. CT imaging of colitis. *Radiology*. 2006;240(3):623-38.
- Metz H, Tibbles C. Neutropenic patient with fever and abdominal pain. *Intern Emerg Med*. 2008;3(1):49-52.
- Durán-Pérez EG, Rivera-Benítez C, Banda-Lara MI, et al. Enterocolitis neutropénica en el paciente con neoplasia hematológica. *Med Int Mex*. 2008;24(2):89-97.
- Petrosyan M, Estrada J, Mason R. Necrotizing inflammation of the cecum in a neutropenic patient. *Hosp Phys*. 2008;12:31-4.
- Charúa L, Colorado Y, Avendaño O. Colitis neutropénica. *Rev Mex Coloproctol*. 2005;11(1):19-22.
- Peña AY, García GR, Salgado JM, et al. Enterocolitis neutropénica, una serie de casos de autopsias. *Bol Med Hosp Infant Mex*. 2001;58(3):153-62.
- Bagnoli P, Castagna L, Cozzaglio L, et al. Neutropenic enterocolitis: is there a right timing for surgery? Assessment of a clinical case. *Tumori*. 2007;93(6):608-10.
- Marie I, Robaday S, Kerleau JM, et al. Typhlitis as a complication of alemtuzumab therapy. *Haematologica* 2007;92(5):e62-3.
- Cardona ZAF, Reveiz HL, Casasbuenas A, et al. Systematic review of case reports concerning adults suffering from neutropenic enterocolitis. *Clin Transl Oncol*. 2006;8(1):1-8.
- Van de Wetering M, Kuijpers TW, Taminiou JA, et al. Pseudomembranous and neutropenic enterocolitis in pediatric oncology patients. *Support Care Cancer*. 2003;11(9):581-86.
- Li K, Zheng S, Dong K, et al. Diagnosis and outcome of neutropenic enterocolitis: experience in a single tertiary pediatric surgical center in China. *Pediatr Surg Int*. 2011;27(11):1191-5.
- Jeddi R, Ben Amor R, Aissaoui L, et al. Biomarkers of infection and septic shock in neutropenic patients. En: 19th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 2009 May 16-19, Helsinki, Finland. Abstract number: p1761.
- Roongpoovapatr P, Suankratay C. Causative pathogens of fever in neutropenic patients at King Chulalongkorn Memorial Hospital. *J Med Assoc Thai*. 2010;93(7):776-83.
- Reale AL, Depetri ML, Culasso C, et al. Enterococos resistentes a vancomicina: prevalencia y factores asociados a la colonización intestinal en pacientes oncológicos del Hospital de Niños de Córdoba. *Rev Argentin Microbiol* 2009;41:92-6.
- Carreño M, Velasco C, Rueda E. Prevalencia de *Cryptosporidium* en niños menores de 13 años con afecciones oncológicas. *Colomb Med*. 2005;36(2 Supl 1):6-9.
- Moreno-de Veliz N, Barbella S, Pacheco M. *Cryptosporidium* sp. en niños desnutridos graves. *Rev Fac Med Cien Sal*. 2005;9(2):4-7.
- Nahrevanian H, Assmar M. Cryptosporidiosis in immunocompromised patients in the Islamic Republic of Iran. *J Microbiol Immunol Infect*. 2008;41(1):74-7.
- ANOFEL *Cryptosporidium* National Network. Laboratory-based surveillance for *Cryptosporidium* in France, 2006-2009. *Euro Surveill*. 2010;15(33):19642.
- Bennett JE. The changing face of febrile neutropenia—from monotherapy to moulds to mucositis. Management of mycoses in neutropenic patients: a brief history, 1960-2008. *J Antimicrob Chem*. 2009;63 (Suppl 1):i23-6. doi:10.1093/jac/dkp079.
- Sung L, Lange BJ, Gerbing RB, et al. Microbiologically documented infections and infection-related mortality in children with acute myeloid leukemia. *Blood*. 2007;110(10):3532-9.
- Buchheid D, Böhme A, Cornely OA, et al. Diagnosis and treatment of documented infections in neutropenic patients recommendations of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society of Hematology and Oncology (DGHO). *Ann Hematol*. 2003;82(Suppl 2):S127-32.
- Bodey GP. Fever and neutropenia: the early years. *J Antimicrob Chemother*. 2009;63(Suppl 1):i3-13.
- Andreyev HJ, Davidson SE, Gillespie C, et al. Practice guidance on the management of acute and chronic gastrointestinal problems arising as a result of treatment for cancer. *Gut*. 2012;61(2):179-92.
- Sundell N, Boström H, Edenholm M, et al. Management of neutropenic enterocolitis in children with cancer. *Acta Paediatr*. 2012;101(3):308-12.