



UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR



Diagnostico precoz y tratamiento oportuno en la detección temprana de sangre oculta en heces, orina y superficies inanimadas utilizando micro-biopartículas de *Caesalpinia coriaria* (nacascol) en pacientes ambulatorios.

Msc ANTONIO VASQUEZ HIDALGO

Microbiologo Médico Salubrista

Facultad de Medicina

Universidad de El Salvador



R

esumen

El objetivo principal de la investigación es detectar sangramientos ocultos en orina, heces y superficies inanimadas a partir de secreciones biológicas del cuerpo humano. Para el estudio se procedió en tres fases: la Primera fase en la recolección de las semillas de nacascol Segunda fase extracción y preparación de la semilla; Tercera fase pruebas de laboratorio que consistieron en el preparado de la semilla para extraer microbiopartículas e identificar en muestras de orina, heces y superficies inanimadas si hay presencia de sangre. Resultados. De las semillas de nacascol se descubrió que puede identificar sangre oculta y rastros de sangre en superficies inanimadas. Su rango de detección a sangramientos es desde 0,10 hasta 100 Hb/g de heces, en orina su detección es desde 0.10 hasta 110 Hb/ml, en superficies su detección es de 0.90 hasta 110 Hb/mt². Conclusión. Las microbiopartículas de la semilla puede identificar sangramientos ocultos, y ser utilizado como método de prevención en el diagnóstico precoz y tratamiento oportuno. Para **Orina** tenemos Pearson 1.3820 $p < 0.2400$, Yate's Correction 0.6144 $p < 0.4331$. Para **Heces** Pearson 0.1540 $p < 0.6950$, Yate's Correction $p < 0.0000$, para **Superficies inanimadas** Pearson 2.6100 $p < 0.1060$, Yate's Correction 1.9885 $p < 0.1585$. Si tenemos el valor de X^2 es 3.84 para 2 g l entonces resulta que **no hay diferencias significativas**, entre utilizar este método o ambos.

Palabras clave. Semillas de Nacascol, sangramiento oculto.

INTRODUCCION

En El Salvador las patologías de detección de sangramientos ocultos en los niveles de atención en salud I, II y III puede ampliarse, con el objeto de detectar enfermedades prevenibles por sangramientos a tiempo por el médico de salud y ser tratados oportunamente.

Aunque sin embargo pueden ser otras causas y no ser patológicas, en las que se mencionan: Hemoptisis procedente del aparato respiratorio concomitante con tos. Epistaxis. Sangre procedente de la nariz, que puede ser deglutida y salir al exterior como vómitos. Lesiones de encías o garganta. Ingesta de remolacha, medicamentos como bismuto y hierro, aspirina, antiinflamatorios, vitamina C. carnes rojas.



JUSTIFICACION. La hemorragia digestiva es siempre un cuadro de atención inmediata. En El Salvador la tasa de incidencia de cáncer de colon, gástrico y otros es alta, reportando Tumores malignos en diferentes sitios anatómicos con una tasa de mortalidad de 7,25 %; ocupando el segundo lugar por muertes a tumores malignos en las primeras cinco causas de mortalidad del país¹. (FUENTE. Ministerio de Salud. 2006), al no ser tratado pone en peligro la vida del enfermo. Al ser positiva la prueba es imperativo ingresar al enfermo para hacer su diagnóstico, valoración y tratamiento oportuno.

Otras razones por las que se puede realizar este examen: Detección temprana de cáncer de colon, evaluación de una anemia. Consideramos que es un producto natural biodegradable a un costo bajo con una preparación de laboratorio no dificultosa, que a su vez puede ser utilizada en los niveles I de atención en Salud.

Material y Métodos

El estudio es cuasi experimental, con un nivel alfa del 0.05 y nivel de confianza del 95 %. Se procedió en tres fases: la **Primera fase** en la recolección de las semillas de nacascal **Segunda fase** extracción y preparación de la semilla; **Tercera fase** pruebas de laboratorio que consistieron en el preparado de la semilla para extraer microbiopartículas e identificar en muestras de orina, heces y superficies inanimadas de pacientes ambulatorios que dejan muestras en los laboratorios de microbiología de la Universidad. Para la extracción de las partículas de la semilla se utilizo medidas de bioseguridad de laboratorio.

Descripción del Procedimiento

Muestra: materia fecal recolectada después de realizar una dieta. Recolectar muestras seriadas al menos dos. Recolectar las heces directamente en el recipiente plástico, que no hayan estado en contacto con el agua del sanitario pues el cloro del agua puede causar reacciones falsamente positivas. Orina, se puede recolectar a cualquier hora en un recipiente de plástico, si es niño lactante en bolsa recolectora. Superficies inanimadas con hisopo estéril previo con solución salina 0.85 % estéril se procede a recolectar la muestra. Durante los primeros tres días previos a la recolección de materia fecal. NO INGERIR por 3 a 4 días: Carnes rojas, ni medicamentos que contengan: ácido acetil salicílico No cepillarse los dientes (para evitar el sangrado de encías).

PROCEDIMIENTO

¹ Ministerio de Salud y Asistencia Social de El Salvador. Boletín Estadísticas de Mortalidad. 2006



+	48	45	+	47	46	+	40	48	+
-	2	5	+	3	4	+	10	2	+
Total	50	50	50	50	50	50	50	50	50

Para **Orina** tenemos Pearson 1.3820 $p < 0.2400$, Yate's Correction 0.6144 $p < 0.4331$. Para **Heces** Pearson 0.1540 $p < 0.6950$, Yate's Correction $p < 0.0000$, para **Superficies inanimadas** Pearson 2.6100 $p < 0.1060$, Yate's Correction 1.9885 $p < 0.1585$. Si tenemos el valor de X^2 es 3.84 para 2 g l entonces resulta que **no hay diferencias significativas**, entre utilizar este método o ambos.



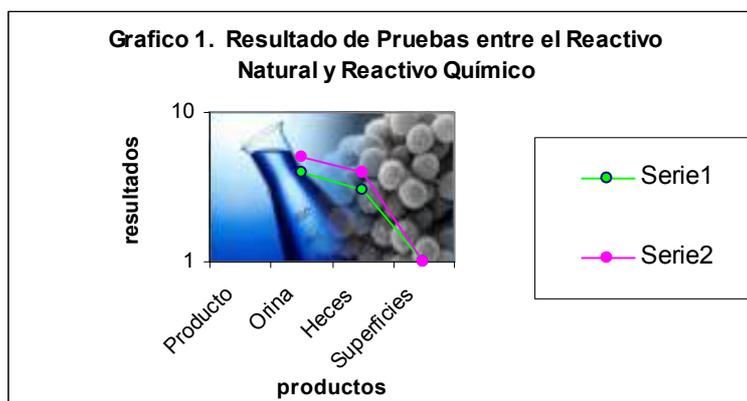
Fot. 1. Prueba positiva con reactivo natural. Observe La mancha al reaccionar con el revelador. En papel de cromatografía.



Fot. 1.1. Prueba positiva, observe la formación de espuma luego formación de mancha en segundos, en papel de glicina.

En la **Fotografía 1 y Fotografía 1.1**. Se Observa formación de grumos y cambio de color de la muestra a color gris blanco debido a la lisis del glóbulo aumentándose de volumen y formando una espumosis en papel de glicina y mancha en papel de cromatografía. Esto indica que la prueba es positiva, porque hay liberación de O_2 y H_2O , uniéndose las partículas del grupo Hem de la hemoglobina con el tanino de la semilla, acelerando la reacción por el peróxido de hidrogeno sobre las partículas de hierro causando oxidación en sinergismo con el hipoclorito de sodio, el citrato de sodio usado como anticoagulante, para evitar la formación de coagulo de la sangre.

En el **Grafico 1**. Se observa resultado de pruebas entre el reactivo natural y reactivo químico, encontrando que entre el reactivo natural compuesto por las semillas del tanino y el reactivo químico no hay diferencias altamente significativas. Ambas pruebas identifican sangramientos ocultos.



CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Sensibilidad: La sensibilidad del test es 96 %. Diluciones diferentes de hemoglobina fueron probadas directamente en la extracción o en muestras negativas de heces para determinar la sensibilidad y especificidad .en comparación con un test para el caso quimioluminiscencia.

Especificidad: El uso de microparticulas asegura un alto grado de especificidad para la detección de hemoglobina humana y no presenta ninguna reacción cruzada con hemoglobina bovina o porcina. La detección de hemoglobina humana con el método obtiene >99% de especificidad en comparación con comercializado de guayaco.

Discusión

Actualmente se utilizan tres tipos de protocolos para el análisis de sangramiento oculto.: 1. El test Guayacol es el más extendido aunque carece de una gran exactitud. La sensibilidad y especificidad de este método es inferior a la de los otros tipos. La baja exactitud de este método está relacionada con las peroxidases que se encuentran la dieta, como por ejemplo la hemoglobina y mioglobina de la carne, frutas o vegetales crudos. 2. El test Hemoporfirina no se ve afectado por las peroxidases de la dieta, pero se pueden dar falsos resultados positivos en pacientes con desórdenes gastrointestinales hemorrágicos superiores, como úlceras duodenales o gástricas, debido a que las porfirinas no son inactivadas por los ácidos biliares 3. Los tests inmunocromatográficos detectan hemoglobina humana no degradada o casi intacta, siendo una técnica muy específica para detectar pérdidas de sangre producidas en la parte final del intestino, ya que la sangre procedente de este lugar sufre menor degradación durante su tránsito. Los resultados del test inmunocromatográfico no se ven afectados por las peroxidases presentes en la dieta, sangre animal o ácido ascórbico. Si el resultado es positivo, una línea de color rojo aparecerá en la zona de resultado de la membrana.



Si la hemoglobina se mezcla con partículas de la semilla se ponen en contacto, el hierro que hay en la hemoglobina acelera una reacción entre el peróxido de hidrógeno más hipoclorito de sodio y, en esta reacción de la oxidación, este pierde los átomos del nitrógeno y del hidrógeno y gana los átomos de oxígeno, es decir se libera oxígeno y agua en el producto final, dando un efecto de formación de grumos.

El método de la orthotoluidina se basa en la actividad peroxidasa de la hemoglobina o de oxidantes no específicos de catalizar la reacción del peróxido y el cromógeno orthotoluidina, para formar ortotoluidina oxidada de color azul. Tiene la gran desventaja de tener muchos falsos positivos. La significancia de este método yace no en una reacción positiva sino en una reacción negativa: un resultado negativo prueba que no existe sangrado digestivo.

En el método del guayaco se basa en una reacción positiva. Si la persona cumple con las restricciones dietéticas y se obtiene un resultado positivo, puede tener un sangrado digestivo oculto.

Los métodos que usan la reacción de la peroxidasa tienen la gran ventaja de ser económicos pero tienen algunas desventajas. El reactivo usado no reacciona específicamente con hemoglobina humana, sino que lo puede hacer con otras sustancias con actividad peroxidasa como ciertos alimentos: carne, pescado, vegetales (verdes y amarillos), preparaciones con hierro, drogas, etc.

Los resultados positivos pueden indicar: Várices esofágicas sangrantes. Úlcera péptica. Tumor de tubo digestivo. Trauma de tubo digestivo. Pólipos de colon o cáncer de colon. Hemorroides. Gastritis. Fisuras. Esofagitis. Enfermedad inflamatoria del intestino.

Referencia Bibliográfica

1. Revista Chilena Enfermedades Respiratorias. 2004;20:30-36
2. Alacala L. et al. *Aspergillus* y aspergilosis. Servicio de Microbiología Clínica. Madrid. 1998
3. Rapaer Kb et al. The genus *Aspergillus*. Tratado de Micología Médica. 3a edic. 1998. pp 668-703
4. Sarria C. et al- *Aspergilosis*. Servicio Clínico de Medicina Interna. Madrid. 2005.
5. Gassiot C. et al. *Aspergilosis* pulmonar: un nuevo enfoque en la reemergencia. Acta Médica. 2000, 9(1-2): 67-72
6. Baker. S. *Aspergillus Níger* genomics: past, present and into the future. Medical Micology September 2006, 44,517-521.
7. Couri, S. et al. Digital Image processing a tool to monitor biomass growth in *Aspergillus niger* 3TSB8 solid state fermentation: preliminary results. Journal of Microscopy vol 224. pt December 2006. pp 290-297.



8. Schaberciter-Gurtner et al. Molecular diagnosis of *Aspergillus* and *Candida* infections. J. clinic Microb. 2006. Doi: 10.1128/jcm-01344-06.
9. Kilich, M. Identification of clinically relevant *Aspergillus*. Medical Micology . September 2006,44,5127-5131.
10. Universidad de El Salvador. Manual de Diagnostico Micologico. Depto de Microbiologia. 2007.
11. Bille, G. et al. *Aspergillus* species isolated from clinical specimens: suggested clinical and microbiological criteria to determine significance. Clini. Microbiology Infect. 1998,4:700-716.
12. Atlas Virtual de Micología Medica. Depto de Microbiología. Universidad de Panamá. 2007.
13. The *Aspergillus* Website. Fungical Reseca trust. 2007.
14. Arenas. R. Micología Médica Ilustrada. 2003. 2ª edición, Interamericana. Mc Graw Hill. México.
15. Rippon. JW. Tratado de Micología Medica. 1990. 3ª edición Interamericana. Mc Graw Hill México.
16. Negroni R. Micosis broncopulmonares del adulto y niño. 1981. 2ª edición. Edit. Beta S.R.L. Buenos Aires.
17. Negroni R. Micosis cutáneas y Viscerales. 1984. 8ª edición. López libero Editores S.R.L. Buenos Aires.
18. Conant, S. et al. Micología. 1972. 3ª edición. Interamericana. México.
19. Torres-Rodríguez JM, Brunet MI. Aspergilosis sistémica. Monografía clínica en Enfermedades Infecciosas. Micosis sistémicas. Doyma. 1991; Cap. 9: 59-69.
20. Arteaga, E. y otros. Aspergilosis pulmonar invasora en el síndrome de inmunodeficiencia. Rev Iberoam Micol 1999; 16: 211-215.
21. Ministerio de Salud Publica. Boletín epidemiológico. 2006