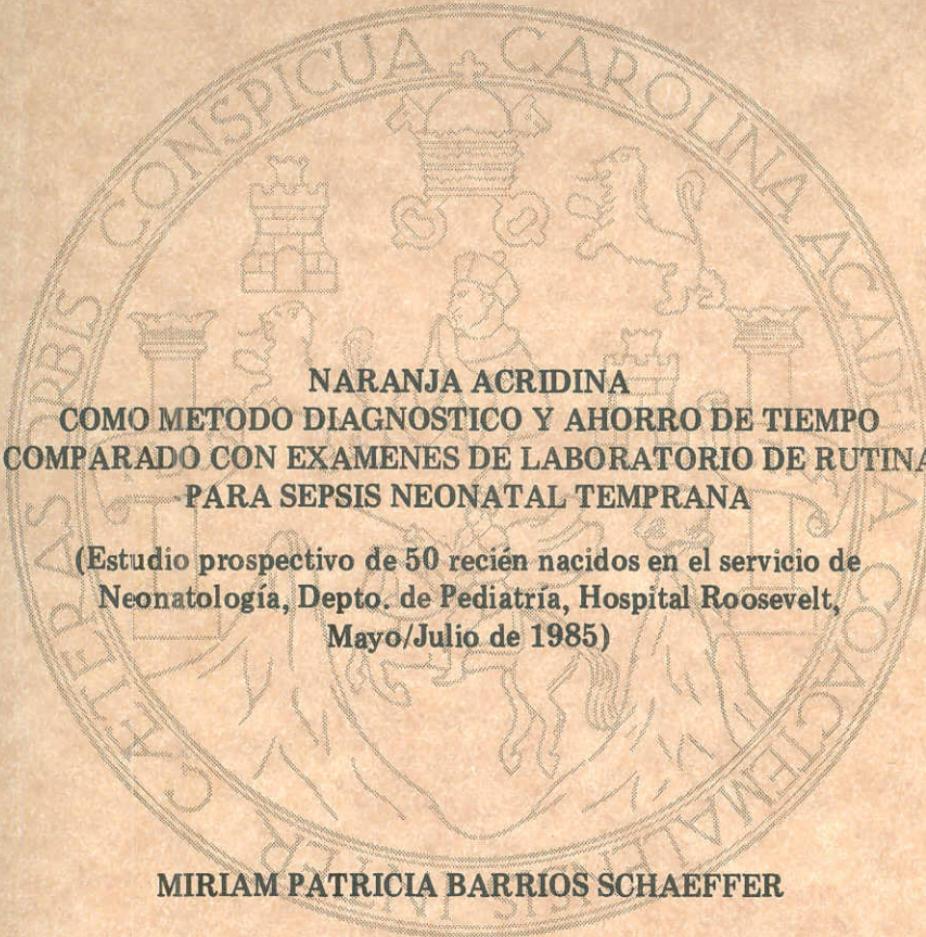


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS



NARANJA ACRIDINA

COMO METODO DIAGNOSTICO Y AHORRO DE TIEMPO
COMPARADO CON EXAMENES DE LABORATORIO DE RUTINA
PARA SEPSIS NEONATAL TEMPRANA

(Estudio prospectivo de 50 recién nacidos en el servicio de
Neonatología, Depto. de Pediatría, Hospital Roosevelt,
Mayo/Julio de 1985)

MIRIAM PATRICIA BARRIOS SCHAEFFER

GUATEMALA, SEPTIEMBRE DE 1985

CONTENIDO

	Página
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	3
DEFINICIÓN Y ANÁLISIS DEL PROBLEMA	5
REVISIÓN BIBLIOGRAFICA	7
MATERIALES Y MÉTODOS	21
PRESENTACIÓN DE RESULTADOS	27
ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	39
CONCLUSIONES	45
RECOMENDACIONES	47
RESUMEN	49
REVISIÓN BIBLIOGRAFICA	51
ANEXOS	55

INTRODUCCION

La septicemia neonatal es uno de los principales problemas que afectan a la población infantil, e influyen en gran medida la morbimortalidad de los servicios de neonatología. Por esto mismo es de vital importancia el desarrollo de cualquier metodología que pueda ayudar a detectar tempranamente dicho proceso y orientar el tratamiento inicial.

En el Hospital Roosevelt los exámenes de laboratorio utilizados para establecer el diagnóstico de septicemia neonatal incluyen proteína C reactiva, hemograma con sedimentación y cultivos sangre, orina y líquido cefalorraquídeo, presentando estos últimos la desventaja de llevar mucho tiempo para conocer el resultado. Esto hace que los neonatos sospechosos sean tratados antes de que conozca el germen causal, lo que acarrea riesgos importantes en que no tienen la enfermedad, debido a que el tratamiento predispone a la invasión de microorganismos y puede ocasionar generación de cepas resistentes.

El propósito del presente estudio es demostrar que el método de coloración de Naranja Acridina, permite una mejor visualización de los microorganismos patógenos fagocitados, en el menor tiempo posible, proporcionando una gran ayuda para el diagnóstico temprano de sepsis en comparación con los exámenes de laboratorio de rutina.

Para el efecto se estudiaron 50 recién nacidos de 0 a 28 días con diagnóstico de sospecha o riesgo de sepsis, a quienes se les efectuaron exámenes de laboratorio de rutina y además se examinó frote del estrato leucocitario con coloración de Naranja Acridina y con los resultados se hizo un análisis comparativo.

Los resultados obtenidos en nuestro trabajo reportan lo siguiente: Superioridad de la Naranja Acridina sobre los exámenes de rutina, por presentar una positividad de 42% y los cultivos de 24% - del total de los casos estudiados, además presentó una positividad de 100% en pacientes con cultivos positivos. También se demostró el ahorro de tiempo ya que sólo se necesitan en promedio 15 minutos para comprobar la infección, mientras la hematología y proteína C reactiva necesitan un promedio de 4 horas y sólo orientan al diagnóstico, y los cultivos un promedio de 3 días.

- osilitu oñotomelal ab zanemóxa eni flevesoñi latiquoñi la ná
- tnequlóni lotonoso nimeñitase ab oñitlongoñi la recelde la moñu a
- ab zevitlu oñi y nöloñthembéz nos nimeñorad, qvitacor. O oñitlonq
- zomitlu - zotra abnairasq, oñilupomolosq abilupi y onliu qvige
- q. abelutore le recelde la moñu qmeliit orbum rovelli ab oñotneval. ol
- se sup ab zefro zobetor nosz zanibeqes entiñan zot sup escoñi
- zot ne zetnollogmi zogesq nimeñor sup el jecito nimeñig la zanibeq
- -ibeqiñ oñelotot la sup a oñibeq, zanibeqes el nanchi on sup
- el nöloñzoo abeq y zanibeqesq nimeñor ab nöloñpni ul - zanib
- zetnollogmi, zonos ab nöloñzoo

abotem la sup ventanuñb ze cibules elnacinq lab nöloñpni. 13
- oñitlonq rojor onu elnacinq qvibitoñi oñitlonq ab nöloñpni ab
- zanem la ne zanibeqesq zanegóñq zanibeqesq nimeñorad zot el nölo
- nöloñpni la moñu nöloñpni onu elnacinq qvibitoñi oñitlonq oñitlonq
- oñitlonq ab zanemóxa zot nos nöloñpni nimeñorad zot onu elnacinq
- oñitlonq ab zanemóxa zot nos nöloñpni nimeñorad zot onu elnacinq

zot 85 o 0 ab zanibeqesq nöloñpni 02 nöloñpni ab zanibeqesq nöloñpni
- zot onu elnacinq oñitlonq ab zanibeqesq ab oñitlonq ab
- nöloñpni ab zanibeqesq ab zanibeqesq ab zanemóxa nöloñpni
- qvibitoñi oñitlonq ab nöloñpni nos oñitlonqesq elnacinq zot 13
- oñitlonqesq zetnollogmi on osiñ ab zanibeqesq zot nöloñpni

OBJETIVOS

1. Conocer la utilidad que la naranja acridina tiene en el diagnóstico y determinación temprana de la bacteremia en el período neonatal.
2. Demostrar la especificidad, sensibilidad y certeza predictiva, y ahorro de tiempo de la naranja acridina en el diagnóstico de sepsis neonatal, sobre los exámenes de laboratorio de rutina (hematología, proteína C reactiva y cultivos de sangre y líquido Cefalorraquídeo).
3. Conocer que microorganismos son los más frecuentemente encontrados en sepsis neonatal con éste método.
4. Establecer la importancia que tiene un diagnóstico precocé de sepsis neonatal, para mejorar la supervivencia de los recién nacidos.

DEFINICION Y ANALISIS DEL PROBLEMA

En nuestro medio, la sepsis neonatal es una patología de alta frecuencia, el recién nacido con su inmadurez al entrar a un nuevo ambiente, es el más susceptible de invasión rápida y diseminación de gérmenes a todos los órganos, siendo ésto la causa del alto grado de mortalidad en éste período de vida; donde juegan un papel importante, factores maternos (infección), factores propios del recién nacido (prematures) y factores ambientales (colonización bacteriana diferente del neonato normal). (12, 16, 17, 18)

No se dispone de datos estadísticos seguros, pero se estima que en el Hospital Roosevelt, en el servicio de Alto Riesgo, el índice de mortalidad es de 13 por mil nacidos vivos en 1984, y del total de muertes reportadas en el mismo año, los casos de sepsis representaron el 33%. (*)

La septicemia es documentada por uno o más hemocultivos positivos, durante las primeras semanas de vida y por un estado clínico no específico que conlleva a sospecharla ayuda que nos brindan los exámenes de laboratorio es tardía e incompleta, existiendo mayor peligro y peor pronóstico para el neonato si el tratamiento se retira. (16, 18)

Para determinar el pronóstico de vida de los neonatos con sepsis, hay tres factores importantes: 1) El diagnóstico precoz, 2) La identificación del agente causal, 3) El inicio rápido de un tratamiento específico. En el recién nacido con sepsis neonatal ninguna de estas condiciones se cumple a cabalidad. Por ser el diagnóstico

(*) Cabrera, M. Gerardo, Datos estadísticos de neonatología del Depto. de Pediatría, Hospital Roosevelt, 1984.

etiológico la base de una manejo antimicrobiano adecuado es importante el desarrollo de métodos que permitan establecer el diagnóstico de manera temprana y específica. Por ello se decidió investigar la tinción con Naranja Acridina para establecer su utilidad temprana, ya que los métodos hasta ahora utilizados son muy tardíos e inespecíficos.

La Naranja Acridina es un colorante básico químicamente parecido a la acriflavina, es a la vez fluorescente y metacromático y es utilizado en el laboratorio para colorear especímenes clínicos. Su característica es que colorea los ácidos nucleicos de las células somáticas, bacterias y otros microorganismos de naranja brillante, facilitando su identificación. (13,14,15)

En este estudio se utilizó el colorante para la visualización directa de bacterias en el estrato leucocitario de la sangre periférica de neonatos con sospecha o riesgo de sepsis.

REVISION BIBLIOGRAFICA

SEPSIS NEONATAL:

Sepsis se deriva del griego Septikos: que corrompe y Haima: sangre. Sepsis neonatal se refiere a la infección generalizada comprobada por uno o mas cultivos positivos en sangre, o a la condición tóxica de cualquier causa infecciosa en el primer mes de vida, o también a la enfermedad bacteriana en el período neonatal que involucra una diseminación hematogena y frecuentemente a meningitis, sea cual sea su definición todas conllevan al mismo fin, que es aumento en el índice de mortalidad de los neonatos. (11,15,17)

Aproximadamente un 60% de los neonatos admitidos en las unidades de cuidados intensivos reciben antimicrobianos como parte de su manejo; a pesar de esto, el porcentaje de sepsis se mantiene en 3-5%, meningitis 1%, la infección nosocomial comprende de 10-20%, pudiendo observar que aún se mantienen altos. (2,16)

Hay que tomar en cuenta que los cambios clínicos más importantes, son sutiles y de gran variedad, por lo que el diagnóstico temprano de la infección y determinación de factores de riesgo maternos y fetales adquieren vital importancia, juntamente con los métodos para identificación de la infección bacteriana, que son la base del diagnóstico.

La expresión clínica de la bacteremia no suele ser específica y así el diagnóstico en vida depende sólo de sospecha, de esta manera se describen dos cuadros septicémicos que pueden ayudar un poco: el primero de inicio temprano, el cual se adquiere in útero o durante el parto y se manifiesta en las primeras 48 horas de vida; el segundo, que es de inicio tardío, se adquiere por el medio ambiente manifestándose en las setenta y dos horas después de nacido. (15, 18)

Deben incluirse dos razones importantes para el diagnóstico precoz de sepsis neonatal: 1) Las consecuencias severas de la infección y su evolución tan rápida tomando en cuenta la edad; 2) La presentación clínica inespecífica, por ser factores que predisponen a una alta mortalidad y por no tener los medios para hacer un diagnóstico adecuado. (2)

ETIOLOGIA:

Cuando no se disponía de agentes antimicrobianos en las primeras décadas de este siglo, fueron las bacterias gram positiva las que predominaban, Streptococcus pyogenes y Staphylococcus aureus; después fueron el S. agalactiae (mayor de 40% de casos), seguido por E. coli y S. aureus (en 25% de casos), para luego predominar los coliformes gram negativo y concomitantemente el aparecimiento de enfermedades nosocomiales con S. aureus, Pseudomonas, Klebsiella y Enterobacter. A pesar de estos cambios tan marcos y bruscos, la frecuencia por bacilos gram negativo ha permanecido constante en algunos hospitales. (11, 15, 18)

Actualmente en nuestro medio los gérmenes más frecuentes son gram negativo (E. coli, Klebsiella y Pseudomonas), y gram positivo (S. aureus y streptococos).

El Streptococcus agalactiae y E. coli son los agentes infecciosos más frecuentes en la primera semana de vida. El E. coli capsular tipo K-1 produce aproximadamente el 80% de meningitis y cerca del 40% de casos con bacteremia. El S. aureus y S. epidermidis, a menudo causan abscesos localizados, forunculosis, onfalitis y muy raramente bacteremia. (23)

PATOGENIA:

Hay tres vías de infección en el feto: a) Transplacentaria, b)

Ascendente, c) Intraparto.

La vía transplacentaria es poco corriente y se comprueba por bacteremia materna. A pesar de esto, se cree que hay microorganismos que atraviesan la placenta infectando al feto como lo son: Listeria monocytogenes que se observa en recién nacidos con sepsis temprana y frecuentemente fulminante, acompañándose de focos necróticos nucleares extensos en el tejido placentario. El Campylobacter es transplacentario, pero no está claro el mecanismo por el cual atraviesa la placenta. El Treponema pallidum es transplacentario - después de las 20 semanas de gestación. (3, 6, 15, 16)

La infección ascendente es más frecuente que la anterior y ocurre cerca de la fecha de parto, como en el caso de corioamniotitis; trabajo prolongado de parto y ruptura prolongada de membranas son indicadores de ésta.

Cuando es intraparto ocurre durante el paso del feto por el conducto del parto; este es el caso más frecuente de bacteremia, ya que implica contacto directo con la microbiota materna en áreas como el ano, vagina, perianal y dermis. (6, 16)

También debe tomarse en cuenta que los niños asistidos en salas de cuidados especiales, presentan mayor riesgo de infección, ya que el neonato empieza una vida con un estado bacteriano limpio, y el medio ambiente y sus factores contribuyen a la colonización normal o infección de éste. Un estudio realizado en el Massachusetts General Hospital, reportó que el 15.3% de los niños en cuidado intensivo adquirieron infección nosocomial, siendo el mayor causante un bacilo gram negativo (Klebsiella, Enterobacter y Citrobacter). (8, 24)

Se cree que muchas veces el bacilo es transmitido por el personal hospitalario (médicos y enfermeras). Además observaron que los

neonatos con colonización en faringe por *S. alfa hemolítico* estaban protegidos de la invasión con el bacilo gram negativo en el mismo lugar y la presencia de *Bifidobacterium* (lactobacilos) en el intestino jugaban un papel importante en la regulación de la colonización intestinal. (8,24)

Además, los niños que reciben lactancia materna y colostro tienen mayores defensas que los que reciben fórmula artificial porque su banco de flora es más complejo esto quiere decir que la leche de pecho desata una serie de factores protectores como en el caso de la IgA con actividad notable contra agentes gram negativo (*E. coli* K-1 principalmente); tal IgA es eficaz principalmente en el tubo digestivo del lactante. Hay también un factor de crecimiento que favorece al (*Lactobacillus bifidus*), la lisozima que rompe los peptoglicanos de la pared de la célula bacteriana y la lactoferrina, esta última fija el hierro y es bacteriostática para *E. coli*. Finalmente la leche humana tiene un número considerable de leucocitos que contribuyen al mismo fin y el *Lactobacillus* que ayuda a inhibir el crecimiento de los gérmenes gram negativo y anaerobios al reducir el pH colónico a más o menos 4: (8,11,15)

FACTORES MATERNOS:

Las infecciones maternas aumentan el riesgo al igual que las enfermedades de la colágena, cardiovasculares, ruptura prematura de membranas de más de 24 horas, trabajo de parto prolongado y parto en condiciones sépticas. Recientemente el coito ha sido un factor predisponente de infección, se reportó 156 casos de mil nacimientos con contaminación, y 117 de mil con infección a pesar de no haber tenido contacto anteparto. (11,16)

Por otro lado hay influencias benéficas maternas para el neonato, como IgG placentaria, complemento, efecto antibacteriano del líquido amniótico, efecto protector de las membranas amnióticas

y lactancia materna, pero no son suficientes para la inmadurez del sistema de defensa del neonato. (6,18,20,23)

FACTORES DEL HUESPED:

La inmunocompetencia del recién nacido está en relación con la edad gestacional y función inmunológica post natal. La transmisión transplacentaria de anticuerpos, la producción de inmunoglobulinas, la fagocitosis y la actividad bacteriana intracelular, son precarias y la respuesta es lenta después del nacimiento, todo esto hace que no pueda localizar las bacterias invasoras y permite su rápida diseminación y multiplicación. (2,6,16)

En ocasiones el suero materno no contiene anticuerpos para algunos抗原s y esto hace que el neonato se convierta en huésped susceptible. Se ha observado que la susceptibilidad del neonato a la infección por el estreptococo del grupo B depende de anticuerpos adquiridos a través de la placenta. Aunque hay observaciones que las inmunoglobulinas A y M no atraviesan la placenta y que son las que brindan anticuerpos bactericidas específicos contra gram negativo, siendo esto la explicación del por qué la predisposición mayor a estos gérmenes. (11,16,23)

La microbiota del recién nacido normal, se empieza a desarrollar a los pocos días del nacimiento, al exponerse al medio ambiente, principalmente del contacto con la madre y el hospital. En la garganta predomina el estreptococo alfa hemolítico; en la nariz y ombligo el *S. epidermidis*, pueden estar presentes pero en menor cantidad anaerobios y *E. coli* sin provocar daño alguno. Además, la microbiota bacteriana puede estar relacionada con factores como: el trabajo de parto, la ruta del nacimiento, asfixia perinatal, aspiración de líquido amniótico y materno, secreciones y maniobras de resucitación. (6,8,16,24)

Muchas infecciones que ocurren luego de una larga estancia en alto o mínimo riesgo reflejan que su colonización ha sido adquirida endogenamente. Adicionalmente numerosos reportes de infección por bacilos gram negativo han atribuido a Klebsiella como culpable de esta microbiota anormal. En un estudio de 63 neonatos admitidos a intensivo se demostró que del tercero a cuarto día de estancia en el hospital, los recién nacidos presentaban crecimiento de bacilos patógenos con mayor tendencia a mayor resistencia antimicrobiana; esta colonización se encontró directamente relacionada con el lavado inadecuado de las manos del personal. (8,16,24)

FACTORES IATROGENICOS:

La cateterización umbilical representa el 10% de casos con bacteremia. Las bacterias transitorias han sido reportadas después de circuncisiones, succión endotraqueal y otros procedimientos de urgencia. El uso de antibióticos profilácticos han influenciado a las infecciones. (2,16)

Es importante mencionar que el paciente puede desarrollar una infección con organismos endógenos portados por él o con organismos que están en el ambiente animado o inanimado del hospital. Cuando el paciente ya tiene identificada una infección, puede presentar dos situaciones consideradas como nosocomiales: 1) El surgimiento de una infección en un sitio nuevo o diferente, a pesar de tener los mismos organismos; 2) El surgimiento de nuevos y diferentes organismos en cultivos del sitio descrito previamente, especialmente si coincide con deterioro del paciente. (9)

Los lineamientos específicos para infecciones nosocomiales según el Comité de Infecciones Nosocomiales del Hospital Roosevelt, son: Infección urinaria con bacteriuria asintomática, donde el conteo de colonias es más de 100,000 organismos por mililitro; otras infecciones del tracto urinario con sintomatología; infección respira-

ria inferior y superior con sintomatología, rayos X y cultivos; infección gastrointestinal con período de incubación menor al de hospitalización; infección de la piel, quemaduras con drenaje purulento y evidencia de bacteremia; infecciones de vías quirúrgicas con material purulento, cultivo positivo o negativo; cualquier bacteremia confirmada en el tiempo de hospitalización sin dicha evidencia a su ingreso; catéteres y agujas intravenosas con drenaje purulento; flebitis por canalización. (9)

HALLAZGOS CLINICOS:

La característica de su inespecificidad y gran variedad no permite diferenciarse de otros desórdenes neonatales. La madre o enfermera puede detectar el problema pero sólo superficialmente, pueden agruparse de la siguiente forma: gastrointestinales, falta de succión, vómitos, diarrea, hepatomegalia, anorexia, regurgitación, tensión abdominal. Respiratorios: dificultad respiratoria, taquipnea, apnea, cianosis. Cutáneos: ictericia, impétigo, coagulación intravascular diseminada, rash, celulitis, abcesos y disturbios termoreguladores (hipotermia, hipertermia). (17,18)

Deben tomarse estos signos en conjunto, ya que sólo uno no sería indicativo de sepsis.

DIAGNOSTICO

El diagnóstico de sepsis neonatal es uno de los más difíciles en medicina clínica, ya que los hallazgos clínicos no son específicos y la historia materna y fetal sólo pueden dar base para sospechas. Con respecto a los métodos utilizados en nuestro medio para detección de infecciones no todos están al alcance de cualquier centro y si se efectuan es en forma inadecuada. (10,20)

Los exámenes de laboratorio que se realizan regularmente en

estos pacientes en todos los centros hospitalarios son, hematología, -frote periférico, proteína C reactiva, cultivos de sangre y líquido cefalorraquídeo, conteo de globulos blancos en aspiración gástrica y otros dependiendo de la sintomatología que presente el paciente.

El cultivo de sangre es de gran ayuda teniendo el suficiente cuidado de extraer la sangre y con buena técnica de preparación del mismo, con el inconveniente que el reporte del tipo del germen que está creciendo, está disponible al menos 24 a 48 horas después del inicio de la infección, cuando el recién nacido corre mayor riesgo. (3,10)

El conteo de globulos blancos en el aspirado gástrico es una técnica indirecta donde la presencia de más de cinco polimorfonucleares y de bacterias es índice de contaminación intrauterina, pero sólo se encuentra en el 20% de pacientes con sepsis. (11,20)

La hematología es un método que puede ayudar en el diagnóstico presuntivo, ya que el primer día puede ser normal un conteo de 35,000 leucocitos por μL . Observaciones de Brazy *et al.*, notaron anomalías de índices hematológicos en neonatos de embarazos inducidos por hipertensión. (4)

Otros cambios en la hematología son: el conteo de neutrófilos totales, inmaduros y relación de neutrófilos I/T que puede ser de utilidad, pero esto condiciona otras enfermedades diferentes a la sepsis, que son comunes en el período neonatal, debilitando su utilidad. Un estudio en la Universidad de Texas reportó anomalías en la cuenta de neutrófilos totales inmaduros, en niños con sepsis en un 82%, de madres hipertensas 59% y niños con asfixia en 25%, de donde el valor predictivo para sepsis por sí sólo no se encontró fidedigno. En el mismo estudio incluyen otras causas de neutropenia, las cuales son: neutropenia secundaria al intercambio de

transfusión o ingestión de drogas, hiperglicemia cetónica, metabólica y acidémica, síndrome de Schwachmann, confirmando su poca utilidad. (4)

La tasa de eritrosedimentación se usa frecuentemente pero tiene el inconveniente de que la elevación ocurre después de varios días de infección, por lo que puede dar falsos positivos y falsos negativos. (3,10)

La proteína C reactiva representa el efecto inmediato del tratamiento, convirtiéndose en una medida para el uso racional de la antibióticoterapia. Estudios realizados en el hospital del Debrousse and Faculté Lyon Nord, de 29 pacientes neonatos con infección, sobre la evolución de proteínas séricas pre-albúmina, proteína C reactiva y orosomicoide, observaron que los cambios más rápidos fueron en el examen de proteína C reactiva y pre-albúmina, estas fueron medidas en artritis séptica, meningitis y septicemia, ningún paciente con infección temprana a estreptococo beta demostró valores anormales de éstas, mientras que, en infección tardía estuvieron presentes. Deduciendo que la proteína C reactiva junto con otras proteínas puede ayudar a guiar el tratamiento pero por sí sola no. (1,22)

Sann *et al.* sugirieron que la disminución y aumento de pre-albúmina, inverso a la proteína C reactiva puede ser un medio para chequear esta última, adicional al estado nutricional del paciente. *E. coli* produce incrementos consistentes de la proteína C reactiva mientras una infección de inicio rápido, como aquella por estreptococo beta es menos frecuente. Observaron que una sola proteína no puede ser confiable, ya que introduce problemas de interpretación. Aquí mismo, se mencionan otras proteínas de ayuda, la alfa ácido-glicoproteína, alfa uno antitripsina y fibrinógeno, sugiriendo su introducción a la práctica clínica. Gewurtz, propuso como punto final que la proteína C reactiva debe considerarse una herramienta

tencial para terapia o profilaxis de sepsis siempre y cuando se compare con las otras proteínas. (1,22)

El frote periférico puede determinar si existe trombocitopenia, granulaciones tóxicas o cuerpos de inclusión de Döhle, siendo sólo una prueba indirecta para detección de bacteremia, con el problema que hay otras entidades patológicas con las mismas características, considerandolo específicamente limitado. (3,11)

El examen de la capa leucocitaria de sangre periférica con tinción de Gram, es útil para el diagnóstico de bacteremia y en su realización no se requiere de equipo especial de laboratorio; tiene el inconveniente de no detectar gérmenes gram negativo intracelulares. (13)

Un estudio hecho por la doctora Verónica Gaitán en el Hospital Roosevelt, demostró que de 80 neonatos estudiados el 5% presentaron cultivos positivos y de éstos en el 25% la prueba de frotis del estrato leucocitario positiva, llegando a un 10% de positividad de la prueba en el total de recién nacidos, aclarando que esta positividad microbiológica baja podría atribuirse al manejo inadecuado de la misma. La especificidad del método fué del 94%, la sensibilidad de 25% y la certeza predictiva de 12%, éstos parámetros únicos fueron bajos en comparación con la literatura, debido a la baja positividad de los cultivos bacteriológicos. (5)

Hasta la fecha no hay ningún método de laboratorio que pueda identificar enfermedad bacteriana temprana ni ninguna otra técnica excluye la infección bacteriana.

La Naranja Acridina ha sido utilizada para colorear una gran variedad de microorganismos con superioridad demostrada sobre el tinte de Gram y otros métodos para detectar microorganismos gram-negativo en sangre, líquido cefalorraquídeo y otros tejidos. (12)

Estudios realizados en 120 pacientes indicaron que los resultados morfológicos de los preparados fueron compatibles con microorganismos aislados de los hemocultivos, coincidiendo la positividad de el fluorocromo de Naranja Acridina. (12)

El fluorocromo de Naranja Acridina colorea el ácido nucleíco de las células somáticas, bacterias y otros microorganismos, a un pH bajo (de 3.5 a 5), logrando ver a la bacteria naranja brillante y el fondo amarillo verdoso pálido. Además hace diferencia entre bacilos y cocos identificándolos por sus características bacteriológicas ya que la bacteria conserva su detalle morfológico exacto, pudiendo visualizarse el germen en tamaño, forma y compatibilidad de los organismos de su misma especie y diferente a ella. (14)

En un estudio de 97 recién nacidos, comparando Naranja Acridina con otros métodos obtenidos del estrato leucocitario, los resultados indicaron que estos últimos eran indicativos de una bacteremia severa y de mal pronóstico, y más sensitivos en septicemia fulminante, fallando en bacteremia de pequeña y moderada intensidad, Además el gram no era sensible para detectar organismos gram-negativo intracelulares. Las muestras de Naranja Acridina mostraron 8 de 9 episodios de bacteremia, siendo rápido y requiriendo poca cantidad de sangre, de donde se deduce que usando este colorante puede ser de ayuda a la rápida evaluación de un recién nacido con posibilidades de sepsis. (12,13,14)

El fluorocromo en Naranja Acridina es una técnica de tinción de especímenes clínicos, rápida (6 min. para prepararla y 3-4 min. para observarla), simple (un sólo tinte), superior (97% sobre azul de metileno) y barata en comparación con otros métodos. Para la visualización de estos frotis preparados con naranja acridina, se necesita un microscopio de fluorescencia, por las características del tinte. (13,19)

En 1979-80 demostraron que la naranja acridina es una técnica de ayuda para la detección temprana de bacteremia, por tener cultivos negativos macroscópicamente antes de las 24 horas y ésta positiva. (19)

TRATAMIENTO:

A parte del tratamiento de mantenimiento de cada neonato debe tomarse en cuenta la selección de antibióticos.

Para ésto hay que incluir: -Incidencia estadística del germe causal, -Factores epidemiológicos, -Edad del recién nacido, -Enfermedades asociadas (piel, post-operatorio, etc.)

Por lo regular el tratamiento del recién nacido con diagnóstico presuntivo de bacteremia se inicia antes de la identificación del agente etiológico. La edad del recién nacido al momento que se presume el diagnóstico es muy importante porque si se trata de septicemia temprana, aquella que se sospecha en las primeras 24 horas de vida lo más seguro es que la haya adquirido en el momento del parto, y los microorganismos implicados van a ser los que habitan en la vagina de la madre en este caso el antibiótico de elección será penicilina cristalina y aminoglicósidos. Si se trata de septicemia tardía aquella que se sospecha pasadas las 72 horas de vida y por consiguiente pudo haberse adquirido en los servicios de neonatología, puede sospecharse como posibles patógenos: estafilococo productor de penicilinasa, Pseudomonas y Salmonella. (18)

En el Hospital Roosevelt el uso de tratamiento rutinario para sepsis temprana es penicilina y gentamicina, y para sepsis tardía, cloranfenicol y amikacina.

El tratamiento debe controlarse con hemocultivos para comprobar si el paciente está respondiendo adecuadamente, porque a las 48 horas después de iniciado, los cultivos deben ser negativos; si no

es así, se debe proceder a cambiar el plan terapéutico. (7,10)

PRONOSTICO:

Depende del tiempo de evolución de sepsis, agente causal del proceso séptico, madurez del niño y enfermedades asociadas, a demás de las medidas de sostén que se le ofrezcan al paciente.

Con la ayuda de la antibioticoterapia, han mejorado el índice de mortalidad de un 90% a un 40%, pero podemos notar que éste aún sigue alto, por lo que hay mucha deficiencia en los centros hospitalarios y falta de métodos adecuados para detectar tempranamente la bacteremia. (10,11,18)

En el caso del Hospital Roosevelt se ha podido observar que el índice de mortalidad para los servicios de alto riesgo, en 1983 fué de 17 por 1,000 nacidos vivos y en 1984 de 13 por 1,000 nacidos vivos, indicando una mejoría notable a pesar de que continúa siendo una cifra significativa. Además se ha estimado que la septicemia en el servicio de alto riesgo del Hospital Roosevelt, varía de 2 por 1,000 nacidos vivos a término y 16 por 1,000 nacidos vivos pretérmino; y la mortalidad por sepsis es del orden de 33% de todos los recién nacidos ingresados al servicio por diferentes entidades patológicas. (*)

(*) Cabrera M. Gerardo. Datos estadísticos de neonatología del Depto. Pediatría, Hospital Roosevelt. 1984.

MATERIAL Y METODOS

A. FISICOS:

1. Sala de Alto y Mínimo Riesgo del Hospital Roosevelt.
2. Fichas clínicas correspondientes a cada paciente.
3. Tubos de Wintrobe para centrifugar.
4. Pipetas de Pasteur
5. Laminillas
6. Colorante de Naranja Acridina
7. Centrífuga de la Clínica de Unidad de Enfermedades Infecciosas, Hospital Roosevelt.
8. Microscopio de fluorescencia, Leitz, modelo SM-LUX, - del Depto. de Citología del Hospital Roosevelt.

B. HUMANOS:

1. Pacientes con sospecha o riesgo de sepsis que ingresaron a los servicios de Alto y Mínimo Riesgo del Hospital Roosevelt.
2. Personal especializado del Depto. de Microbiología y Citología para preparar los frotres y observarlos al microscopio.

METODOLOGIA:

Los recién nacidos en estudio fueron 50 pacientes comprendidos en las edades de 0 a 28 días sin tomar en cuenta el sexo y edad gestacional, que fueron hospitalizados en los servicios de Alto y Mínimo Riesgo, ya sea con sospecha o riesgo de sepsis, individualizando cada recién nacido.

Los pacientes se seleccionaron en dos categorías:

Grupo I con riesgo de sepsis.

Los criterios para la selección de pacientes con riesgo de sepsis fueron los siguientes:

	Puntos
1. Infección materna reciente (diarrea, infección urinaria, IRS, etc.)	1
2. Fiebre materna	3
3. Manipuleo (tacto vaginal por comadrona)	2
4. Ruptura prematura de membranas (mayor de 24 horas)	2
5. Líquido amniótico fétido	3
6. Parto en condiciones sépticas (calle etc.)	2
7. Trabajo de parto prolongado (primigesta más de 24 horas y múltípara más de 12 hrs.)	1
8. Premadurez o bajo peso	2
9. Reanimación	2
10. Meconio en traquea	2

Se incluyeron en el presente estudio aquellos recién nacidos con riesgo de sepsis de 4 ó más puntos.

Grupo II con sospecha de sepsis:

Los criterios para seleccionar a pacientes con sospecha son:

1. Historia (historia positiva si el recién nacido nació en su casa o algún lugar donde habían focos sépticos o si estuvo en contacto con algún foco de contagio).

Distermia (Hipotermia o hipertermia)

Hipoactividad

Ictericia más hepatomegalia o esplenomegalia
un foco séptico o más

Manifestaciones de sangrado

Para la recopilación de datos se utilizó una boleta la cual se adjuntó a la ficha clínica de cada paciente, esta incluyó lo siguiente: Datos personales (nombre, fecha de nacimiento, hora, edad, número de registro, cuna, servicio, peso y punteo de Apgar); signos y síntomas que presentó, puntaje de sepsis, exámenes de laboratorio realizados (hematología, proteína C reactiva, cultivos de sangre y Líquido cefalorraquídeo y Naranja Acridina), y si se trataba de paciente con riesgo del grupo I y sospecha grupo II, se hacía la diferencia.

La técnica de obtención de la muestra y preparación fue la siguiente: Se obtuvieron 2ml de sangre venosa de cada paciente por venopunción de vena periférica; se llenó un tubo de Wintrobe, el cual se centrifugó a 10,000 RPM por dos minutos.

Para hacer los frotres, se retiró la capa superior de leucocitos de los tubos de Wintrobe con una pipeta de Pasteur estéril, y se prepararon extensiones en la forma habitual.

Para la coloración con Naranja Acridina se procedió de la manera siguiente:

(Cabrera M. Gerardo-Depto. de Pediatría. Hospital Roosevelt 1981)

(Valenzuela, C.; 1982-Ref. 50)

1. El colorante de Naranja Acridina fué preparado por la adición de 1 gm. de ésta, en 100 mL. de agua destilada, esta solución fué protegida de la luz al guardarla en un frasco de color café obscuro y a temperatura de 4°C (se conserva por dos años).

2. Para trabajar la solución fué preparada mediante la adición de 1 mL. de la solución anteriormente descrita, a 100 mL. de 0,2M - Acetato Buffer (manteniendo un pH 4), la cual se guardó en una pizeta oscura.

Para preparar los frotos se procedió así:

- Se dejó secar el frote
- Se fijó con metanol puro por 2 minutos
- Se lavó rápidamente con agua de chorro
- Se coloreó abundantemente con el preparado de Naranja Acridina por 2 minutos
- Se lavó con agua de chorro
- Se procedió a observar en el microscopio de fluorescencia, con ayuda de personal especializado (Dr. Claudio Ramírez)

Se consideró positivo un frote cuando se observaron dos o más microorganismos en un campo, reportados como cocos o bacilos.

El hemograma se clasificó de la siguiente manera: de 2,000 a 5,000 globulos blancos, leucopenia (l); y de 5,000 a 10,000 globulos blancos, orienta (o), los cuales se interpretaron como positivos para sepsis; y de 10,000 a 20,000 globulos blancos, normal (n) interpretándose como negativo para sepsis.

Los métodos estadísticos, utilizados fueron: Sensibilidad, especificidad y certeza predictiva, los cuales se calcularon por fórmulas standard (descritas en la discusión y análisis de resultados), además se aplicó el χ^2 para comprobar las proporciones de significancia de

los resultados positivos y negativos entre los exámenes de laboratorio - rio de rutina y Naranja Acridina.

CUADRO No. 1

PARAMETROS DE RIESGO DE SEPSIS MAS FRECUENTES
EN LOS PACIENTES CON SEPSIS NEONATAL

PARAMETROS DE RIESGO	FRECUENCIA	(%)
FIEBRE MATERNA	17	(34)
R. P. M. MAYOR DE 24 HORAS	17	(34)
MANIPULACION	13	(26)
PREMADUREZ	12	(24)
LIQUIDO AMNIOTICO FETIDO	11	(22)
TRABAJO DE PARTO PROLONGADO	6	(12)
PARTO EN CONDICIONES SEPTICAS	5	(10)
REANIMACION	4	(8)
MECONIO EN TRAQUEA	1	(2)

Fuente: Boleta elaborada por el Investigador. Mayo/Julio 1985.

CUADRO No. 2

RECIEN NACIDOS CON SEPSIS Y FROTES DE NARANJA ACRIDINA POSITIVOS
COMPARADOS CON RESULTADOS DE CULTIVOS Y ESTADO AL SALIR

CRITERIOS No. DE SEPSIS	NARANJA ACRIDINA	CULTIVOS	MICROORGANISMOS	ESTADO
1 R/8 pts.	Cocos	Pos.	Estaf. Aureus	Vivo
2 R/8 pts.	Cocos	Neg.	-----	Muerto*
3 R/9 pts.	Bacilos	Neg.	-----	Vivo
4 R/9 pts.	Bacilos	Pos.	K. Pneumonae	Vivo
5 R/11 pts.	Bacilos	Neg.	-----	Vivo
6 Sospecha	Cocos	Neg.	-----	Muerto*
7 Sospecha	Bacilos	Pos.	K. Pneumonae	Vivo
8 Sospecha	Cocos	Pos.	Estaf. Aureus	Vivo
9 Sospecha	Cocos	Neg.	-----	Vivo
10 Sospecha	Bacilos	Pos.	P. Aeruginosa	Muerto*
11 Sospecha	Bacilos	Neg.	-----	Muerto*
12 Sospecha	Bacilos	Pos.	E. Coli	Vivo
13 Sospecha	Cocos	Pos.	Estaf. Epid.	Vivo
14 Sospecha	Cocos	Neg.	-----	Vivo
15 Sospecha	Cocos	Pos.	Estaf. Epid.	Vivo
16 Sospecha	Bacilos	Neg.	-----	Muerto*
17 Sospecha	Cocos	Pos.	Estaf. Epid.	Muerto*
18 Sospecha	Bacilos	Pos.	K. Pneumonae	Vivo
19 Sospecha	Cocos	Pos.	Estaf. Epid.	Vivo
20 Sospecha	Bacilos	Pos.	K. Pneumonae	Vivo
21 Sospecha	Cocos	Neg.	-----	Muerto*

Fuente: Boleta elaborada por el Investigador. Mayo/Julio 1985.

CUADRO No. 3

RECIEN NACIDOS CON SEPSIS COMPROBADA POR CULTIVOS Y
NARANJA ACRIDINA

No.	CULTIVOS	MICROORGANISMOS	NARANJA ACRIDINA
1	Sangre	K. Pneumonae	Bacilos Grandes
2	Sangre	Estaf. Aureus	Cocos
3	Sangre	K. Pneumonae	Bacilos Grandes
4	Sangre	Estaf. Epid.	Cocos
5	Sangre L.C.R.	P. Aeruginosa	Bacilos
6	Sangre	E. Coli	Bacilos Cortos
7	Sangre	Estaf. Epid.	Cocos
8	Sangre	Estaf. Epid.	Cocos
9	Sangre	Estaf. Aureus	Cocos
10	Sangre	K. Pneumonae	Bacilos Grandes
11	Sangre	Estaf. Epid.	Cocos
12	Sangre	K. Pneumonae	Bacilos Grandes

Fuente: Boleta elaborada por el Investigador. Mayo/Julio 1985.

CUADRO No. 4

PACIENTES CON CULTIVOS POSITIVOS COMPARADOS CON NARANJA ACRIDINA,
HEMATOLOGIA, PROTEINA C REACTIVA Y CRITERIOS DE SEPSIS

No.	CRITERIOS DE SEPSIS	HEMATOLOGIA	PROTEINA C REACTIVA	CULTIVOS	NARANJA ACRIDINA
1	R/8 pts.	8,542 (o)	Negativa	+	+
2	R/9 pts.	11,150 (n)	+	+	+
3	Sospecha	2,600 (1)	Negativa	+	+
4	Sospecha	6,400 (o)	Negativa	+	+
5	Sospecha	11,400 (n)	+	+	+
6	Sospecha	1,300 (1)	+	+	+
7	Sospecha	5,200 (o)	Negativa	+	+
8	Sospecha	8,300 (o)	Negativa	+	+
9	Sospecha	10,194 (n)	Negativa	+	+
10	Sospecha	10,500 (n)	Negativa	+	+
11	Sospecha	6,300 (o)	+	+	+
12	Sospecha	10,130 (n)	Negativa	+	+

Fuente: Boleta elaborada por el Investigador. Mayo/Julio 1985.

CUADRO No. 5

PACIENTES CON CULTIVOS NEGATIVOS COMPARADOS CON NARANJA ACRIDINA,
HEMATOLOGIA, PROTEINA C REACTIVA Y CRITERIOS DE SEPSIS

No.	CRITERIOS DE SEPSIS	HEMATOLOGIA	PROTEINA C REACTIVA	CULTIVOS	NARANJA ACRIDINA
1	R/4 pts.	17,250 (n)	-	-	-
2	R/4 pts.	3,900 (1)	-	-	-
3	R/4 pts.	10,750 (n)	-	-	-
4	R/4 pts.	10,500 (n)	-	-	-
5	R/4 pts.	12,000 (n)	-	-	-
6	R/4 pts.	11,200 (n)	-	-	-
7	R/4 pts.	16,450 (n)	-	-	-
8	R/4 pts.	20,350 (n)	Positiva	-	-
9	R/4 pts.	8,000 (o)	-	-	-
10	R/5 pts.	10,650 (n)	Positiva	-	-
11	R/5 pts.	8,500 (o)	-	-	-
12	R/5 pts.	12,400 (n)	-	-	-
13	R/5 pts.	17,600 (n)	-	-	-
14	R/5 pts.	13,750 (n)	-	-	-
15	R/5 pts.	12,000 (n)	-	-	-
16	R/6 pts.	3,000 (1)	-	-	-
17	R/6 pts.	7,800 (o)	-	-	-
18	R/7 pts.	24,500 (n)	-	-	-
19	R/7 pts.	6,600 (o)	-	-	-
20	R/7 pts.	11,000 (n)	-	-	-
21	R/8 pts.	12,000 (n)	-	-	-
22	R/8 pts.	9,750 (o)	-	-	Positivo
23	R/8 pts.	4,200 (1)	-	-	Positivo
24	R/8 pts.	8,350 (o)	-	-	Positivo
25	R/9 pts.	14,000 (n)	Positiva	-	Positivo
26	R/11 pts.	1,600 (1)	-	-	Positivo
27	Sospecha	15,550 (n)	Positiva	-	-
28	Sospecha	16,850 (n)	-	-	-
29	Sospecha	10,000 (n)	-	-	-
30	Sospecha	15,400 (n)	Positiva	-	Positivo
31	Sospecha	16,952 (n)	-	-	-
32	Sospecha	4,750 (1)	-	-	Positivo
33	Sospecha	3,600 (1)	-	-	Positivo
34	Sospecha	4,000 (1)	-	-	Positivo
35	Sospecha	4,300 (1)	-	-	-
36	Sospecha	4,300 (1)	-	-	-
37	Sospecha	1,300 (1)	Positiva	-	-
38	Sospecha	6,500 (o)	-	-	Positivo

Fuente: Boleta elaborada por el Investigador. Mayo/Julio 1985.

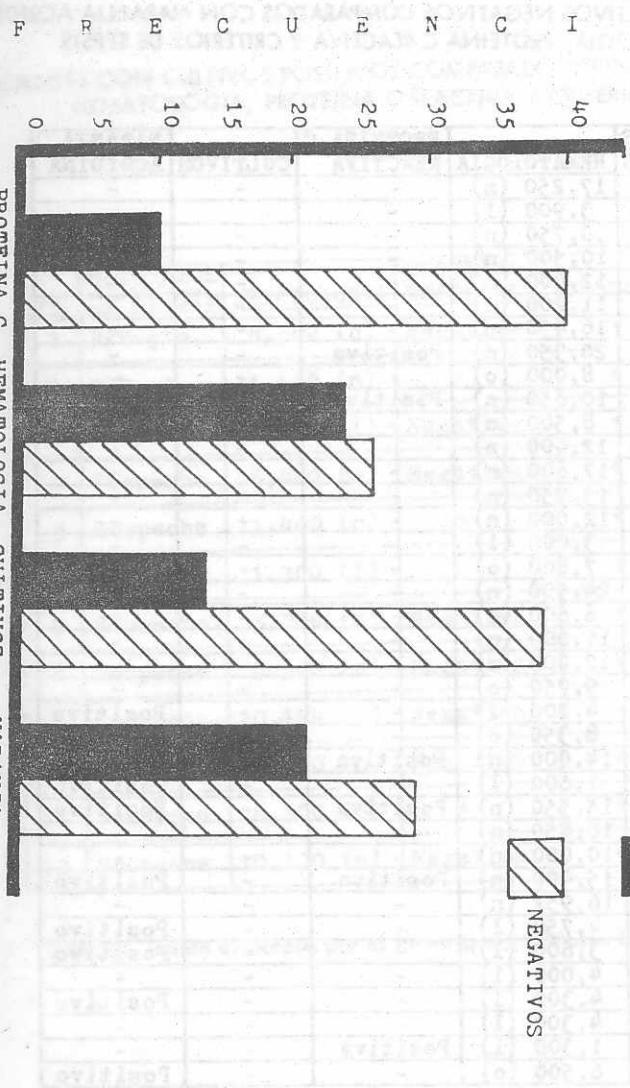
CUADRO No. 6

PACIENTES CON SEPSIS QUE FALLECIERON, RELACIONANDO RESULTADOS DE CULTIVOS CON FROTOS DE NARANJA ACRIDINA

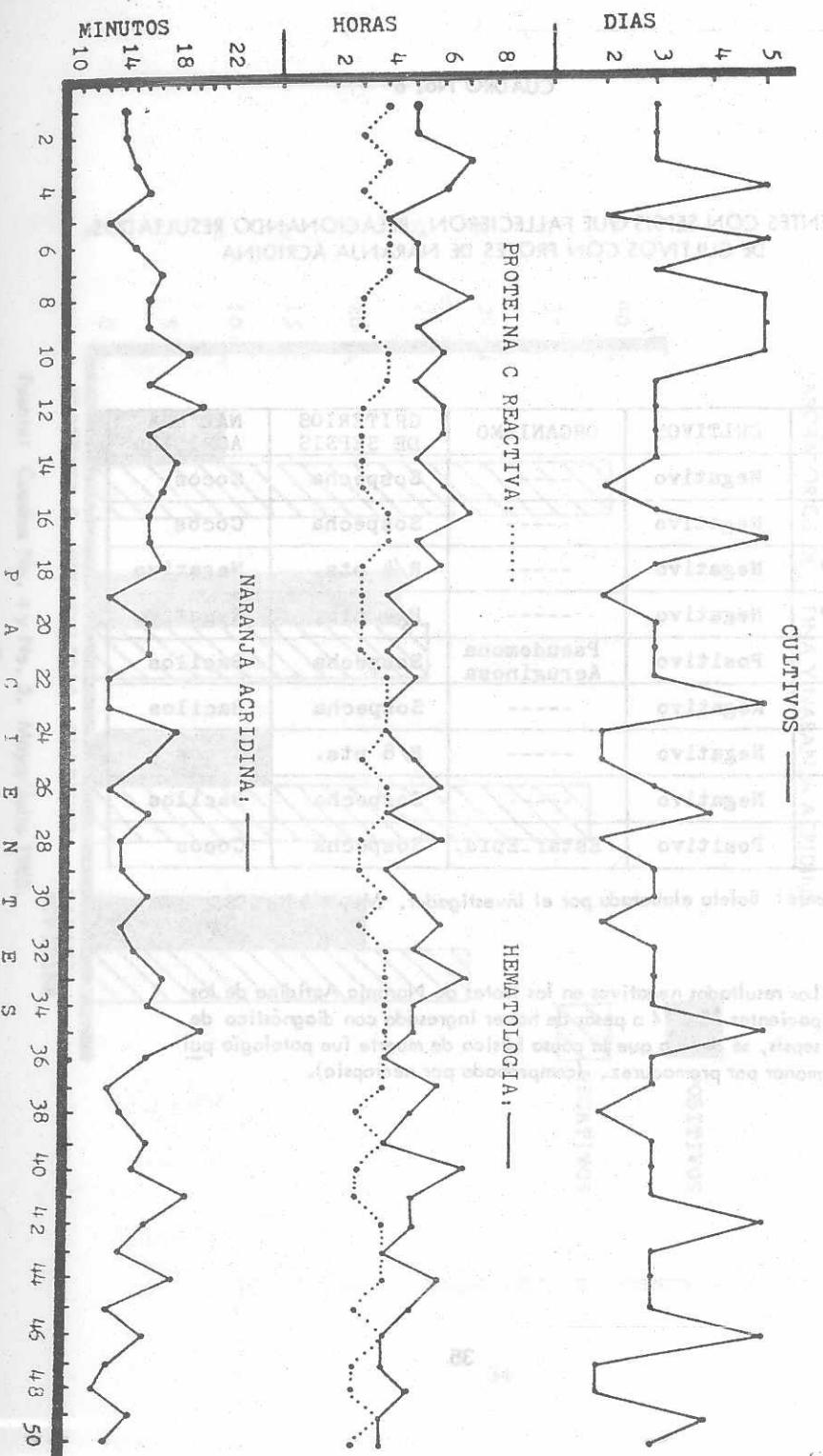
No.	CULTIVOS	ORGANISMO	CRITERIOS DE SEPSIS	NARANJA ACRIDINA
1	Negativo	-----	Sospecha	Cocos
2	Negativo	-----	Sospecha	Cocos
3*	Negativo	-----	R/4 pts.	Negativo
4*	Negativo	-----	R/4 pts.	Negativo
5	Positivo	Pseudomonas Aeruginosa	Sospecha	Bacilos
6	Negativo	-----	Sospecha	Bacilos
7	Negativo	-----	R/8 pts.	Cocos
8	Negativo	-----	Sospecha	Bacilos
9	Positivo	Estaf. Epid.	Sospecha	Cocos

Fuente: Boleta elaborada por el Investigador. Mayo/Julio 1985.

* Los resultados negativos en los frotos de Naranja Acridina de los pacientes #3 y #4 a pesar de haber ingresado con diagnóstico de sepsis, se debe a que la causa básica de muerte fue patología pulmonar por premadurez. (comprobado por necropsia).



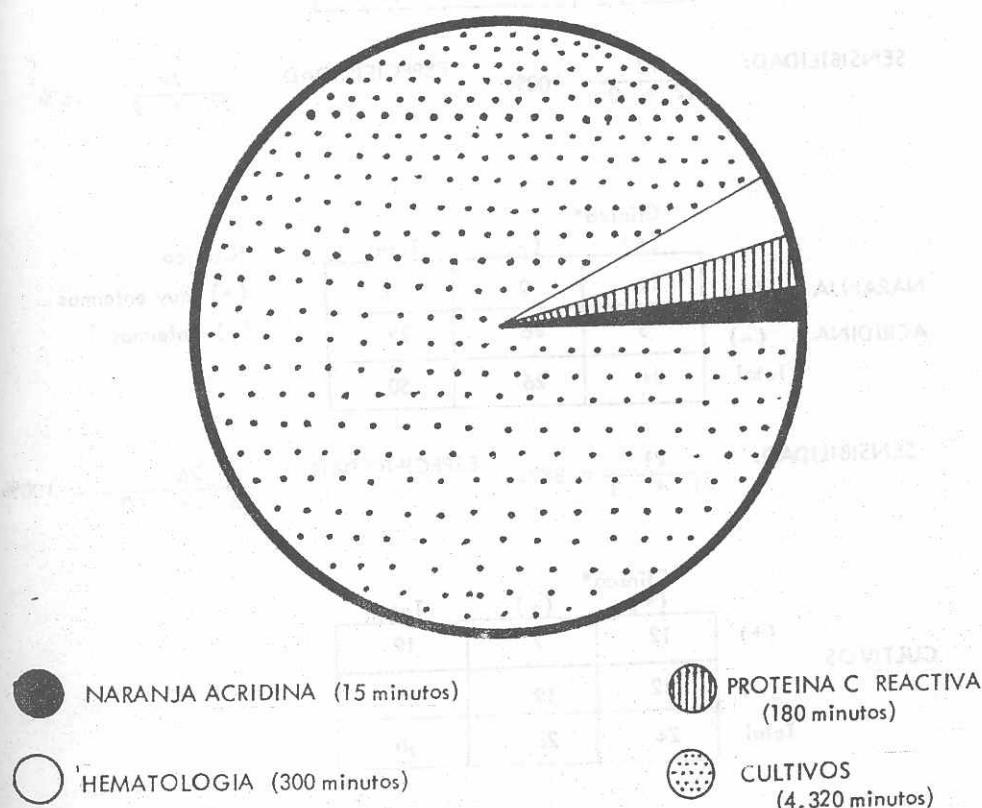
Fuente: Cuadros No. 4 y No. 5. Mayo/Julio 1985.



COMPARACIÓN DEL TIEMPO PARA OBTENER RESULTADOS DE LOS LABORATORIOS DE RUTINA
Y NARANJA ACRIDINA

GRAFICA No. 3

RELACION DEL TIEMPO PROMEDIO PARA OBTENER RESULTADOS DE LABORATORIOS DE RUTINA Y NARANJA ACRIDINA



Fuente: Gráfica No. 2. Mayo/Julio 1985.

SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD

		Cultivos		Total
		(+)	(-)	
NARANJA	(+)	12	9	21
ACRIDINA	(-)	0	29	29
Total		12	38	50

$$\text{SENSIBILIDAD: } \frac{12}{12 + 0} = 100\%$$

$$\text{ESPECIFICIDAD: } \frac{29}{29 + 9} = 76\%$$

		Clínica*		Total
		(+)	(-)	
NARANJA	(+)	21	0	21
ACRIDINA	(-)	3	26	29
Total		24	26	50

$$\text{SENSIBILIDAD: } \frac{21}{21 + 3} = 88\%$$

$$\text{ESPECIFICIDAD: } \frac{26}{26 + 0} = 100\%$$

*Clínica
(+) muy enfermos
(-) enfermos

		Clínica*		Total
		(+)	(-)	
CULTIVOS	(+)	12	7	19
(-)	12	19		31
Total		24	26	50

$$\text{SENSIBILIDAD: } \frac{12}{12 + 12} = 50\%$$

$$\text{ESPECIFICIDAD: } \frac{19}{19 + 7} = 73\%$$

ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS

Para clasificar a los neonatos con sepsis, se utilizaron los parámetros de riesgo, que se enumeran en el cuadro No. 1, de donde se observó que en orden de frecuencia, la fiebre materna y la ruptura prematura de membranas ocuparon el primer lugar presentándose en 17 ocasiones cada una, con 34% casos respectivamente, los cuales pueden haber jugado un papel importante en el alto índice de positividad de los frotos, luego siguió manipulación con 13 casos en 26%, y el más raro observado fué el de meconio en traquea en un solo caso representando el 2%.

En el cuadro No. 2, se observa que de los 50 pacientes estudiados y a quienes se les efectuó el examen de naranja acridina, 21 frotos fueron positivos representando el 42% del total, y comparados con los resultados de cultivos que fueron 12 pacientes correspondientes al 24% apenas del total de pacientes estudiados, nos podemos dar cuenta del bajo porcentaje de positividad de los cultivos bacteriológicos en nuestro hospital, comprendiendo así la ayuda limitada que brinda este examen de laboratorio en el diagnóstico temprano de sepsis. Resalta también que el 76% de los pacientes que tuvieron la naranja acridina positiva, tenían un diagnóstico de sospecha de sepsis, mientras el 24% era riesgo de sepsis.

En el cuadro No. 3, notamos que del total de pacientes estudiados, solamente el 24% presentaron cultivos positivos, y de estos la naranja acridina demostró un 100% de positividad. Además se comprobó una total y perfecta correlación bacteriológica, ya que cuando el cultivo reportó Pseudomonas o Klebsiella, se observaron bacilos en el froté, y cuando era estafilococo, lo que se observó fueron cocos, coincidiendo con la literatura que reporta una correlación bacteriológica de 100%. Se puede decir que lo anteriormente descrito es comparable con la literatura, ya que se reporta una posi-

tividad mayor de naranja acridina, comprobada en un estudio de 9 episodios de bacteremia neonatal, donde 8 fueron positivos y compatibles con resultados de hemocultivos, reportando el caso negativo como contaminación del medio de cultivo, además los resultados morfológicos de los frotos de naranja acridina fueron del mismo microorganismo de los hemocultivos. (13,14)

En los cuadros No. 4 y 5 donde se comparan los resultados de exámenes de laboratorio de rutina con naranja acridina, se dividió en dos grupos para su mayor expresión comparativa; en el primero se anotaron los pacientes con cultivos positivos (cuadro No. 4) en el segundo con cultivos negativos (cuadro No. 5); aquí pudimos observar que la hematología fué positiva para sepsis en un 48%, la proteína C reactiva en 20%, los cultivos bacteriológicos en un 24% - mientras que la naranja acridina fué positiva en un 42% del total de los pacientes estudiados; también se pudo observar que solamente dos pacientes tuvieron una correlación de resultados positivos, lo que correspondió a un 4%; con respecto a los criterios de sepsis, se pudo observar que con riesgo arriba de 7 puntos y sospecha de sepsis, - la positividad de los cultivos y por ende de la naranja acridina fué mayor.

En la gráfica No. 1, se representa el total de casos positivos y negativos de los exámenes de laboratorio y naranja acridina. (para hematología se tomó como positivo los casos que orientaban y leucopenias). Es demostrable que la naranja acridina tiene mayor positividad.

De los pacientes que fallecieron, representó el total de 9 correspondiente al 18%, de éstos solamente 2 pacientes tuvieron cultivos bacteriológicos positivos correspondiéndole el 22%, mientras que la naranja acridina fué positiva en un 78% (7 pacientes); también podemos asegurar que los dos pacientes que fallecieron y tuvieron el frote de naranja acridina negativo no tenían infección - ya

que la causa de muerte fué síndrome de dificultad respiratoria tipo I debido a su premadurez, comprobado por necropsia (cuadro No. 6).

En las gráficas No. 2 y No. 3, donde se representa la relación del tiempo requerido para obtener los resultados de los exámenes de laboratorio de rutina y naranja acridina se puede observar que la hematología y proteína C reactiva necesitan un promedio de 5 y 3 horas respectivamente para conocer un resultado que sólo orienta a un diagnóstico y no es definitivo, mientras que con el frote de naranja acridina sólo se necesitan 15 minutos en promedio para obtener un resultado, que nos dará la seguridad de una bacteremia; si bien es cierto que los cultivos bacteriológicos nos dan el nombre del germen causante de la infección, pero se tiene el inconveniente que hay que esperar un promedio de 3 días, cuando ya es demasiado tarde para iniciar una antibioticoterapia eficaz.

Con respecto a la habilidad de examen microscópico de los frotos de naranja acridina, en magnificación de 400 x en seco, fué fácil de identificar donde habían bacterias, sin embargo difícil de distinguirlas y diferenciarlas, pero al colocarlas en el lente de inmersión a 1,000X, no hubo dificultad para diferenciarlos y detectarlos, además en los frotos positivos no se requirió más de 1-2 minutos de tiempo para localizarlos a los microorganismos y cuando los frotos eran negativos el máximo de tiempo fué de 5-9 minutos, ya que se vió todo el frote para estar seguros de su negatividad, esto coincide con lo reportado en la literatura, ya que sólo tomaban 2 minutos para observar el frote cuando era positivo. Con esto se comprueba la rapidez, y facilidad de observación de la naranja acridina.

La SENSIBILIDAD: es una probabilidad que un test sea positivo cuando existe la enfermedad (verdadero positivo).

El resultado obtenido en el estudio fué de 100% dato que difiere con la literatura extranjera la cual indica 82% demostrado que la prueba en el estudio es bastante sensible.

La ESPECIFICIDAD: es la probabilidad que un test sea negativo, dado el caso que la enfermedad no exista (verdadero negativo). Se obtuvo un resultado de 76% variando mucho de la literatura reportada de 100%.

La CERTEZA PREDICTIVA POSITIVA: es el número de pacientes con pruebas positivas que tienen la enfermedad dividido en el total de pruebas positivas. En el estudio se obtuvo un porcentaje de 57% comparado con la literatura es bajo ya que reporta 100%.

Estas diferencias tan marcadas en la sensibilidad especificidad y certeza predictiva, se deben a que en nuestros hospitales, la tasa de positividad de los cultivos es muy baja, probablemente por una recolección muy poca o demasiada de sangre, dilusiones incompletas, mala preparación del medio y otros factores coadyuvantes que se pueden sumar, provocando esto, una cantidad de cultivos positivos menor aún en pacientes clínicamente enfermos o que murieron, en comparación con la naranja acridina que fué mayor en positividad.

La CERTEZA PREDICTIVA NEGATIVA: Es igual a la positividad sólo que con pruebas negativas y pacientes que no tienen la enfermedad. Esta fué de 100% mayor que la reportada por la literatura de 91%.

Es importante mencionar, que a pesar de que algunos pacientes tenían cultivos negativos, se presentaron clínicamente muy enfermos, y otros murieron por causa de septicemia y quienes tuvieron la prueba de naranja acridina positiva; con esto se pueden aclarar las dudas surgidas al leer los datos anteriores.

También se comparó la sensibilidad y especificidad de naranja acridina con cultivos, demostrando superioridad de ésta ya que los resultados fueron de 88% y 100% respectivamente para naranja acridina y 50%, 70% respectivamente para cultivos.

Con los resultados obtenidos la comparación entre los exámenes de laboratorio de rutina y la tinción con Naranja Acridina de la capa leucocitaria, se obtuvo un $\chi^2 = 12.2$ Nivel de distribución = 5% y un intervalo de confianza del 95%, de donde se dedujo que la proporción para diagnóstico positivo y negativo de sepsis es igual con Naranja Acridina, cultivos y hematología pero inferior con proteína C reactiva; aclarando que la igualdad de Naranja Acridina con los laboratorios mencionados anteriormente es superior, ya que se pudo comprobar que los pacientes que estaban clínicamente enfermos o que murieron tuvieron frotos de Naranja Acridina positivos, mientras la hematología y cultivos fueron normales o negativos, por lo que la confiabilidad para ayuda diagnóstica es atribuible en mayor cantidad para Naranja Acridina.

Se analizó juntamente los resultados de positividad y negatividad, de Naranja Acridina y cultivos, con respecto al total de pacientes con sospecha y riesgo de sepsis, demostrando que tanto la Naranja Acridina con un $\chi^2 = 13.06$ lo cual es altamente significativo, igual que los cultivos que presentaron un $\chi^2 = 7.92$.

También se comparó los resultados positivos y negativos de Naranja Acridina y cultivos con respecto al total de pacientes que vivieron y fallecieron, donde la Naranja Acridina fue significativa con un $\chi^2 = 4.12$, mientras los cultivos no fueron significativos para ningún caso con un $\chi^2 = 0.085$, demostrando este examen de laboratorio un margen de error mayor.

CONCLUSIONES

1. La naranja acridina es más eficaz para detectar bacteremia tempranamente en pacientes con sepsis neonatal, que los exámenes de laboratorio de rutina (hematología, proteína C reactiva y cultivos bacteriológicos).
2. En los pacientes con riesgo de sepsis menor de 7 puntos, se puede concluir, que no tenían infección ya que los cultivos y los frotos de naranja acridina fueron negativos.
3. El ahorro de tiempo para el diagnóstico de sepsis con naranja acridina es significativo, ya que sólo se necesitan 15 minutos para comprobar la infección mientras en los cultivos 3 días en promedio.
4. La naranja acridina tiene una sensibilidad de 88%, especificidad de 100% y una certeza predictiva de 51% para una prueba positiva, y 100% para una prueba negativa, lo que demuestra su eficiencia como método de diagnóstico.
5. De la mortalidad (18% del total de casos), la naranja acridina representó el 78% de frotos positivos en pacientes fallecidos, mientras los cultivos sólo el 22% de positividad.

RECOMENDACIONES

1. Utilizar la Naranja Acridina como método de ayuda diagnóstica y establecerlo como laboratorio de rutina.
2. Hacer nuevos estudios sobre métodos nuevos que ayuden al diagnóstico tempranamente, así como la utilización de Naranja Acridina en otros líquidos corporales (líquido cefalorraquídeo, orina, líquido pleural, etc.), y así poder substituir los métodos actualmente usados.
3. Investigar en futuros estudios la sensibilidad y especificidad de los exámenes de laboratorio bacteriológicos del Hospital, para comprobar la seguridad de los métodos y técnicas utilizadas.
4. Es de vital importancia la disponibilidad de un Microscopio de Fluorescencia y el entrenamiento de personal calificado para la implementación de rutina de la técnica de Naranja Acridina, - por el beneficio que conlleva la utilidad de éste.

RESUMEN

RECOMENDACIONES

Siendo la sepsis neonatal una de las principales causas de morbi-mortalidad en los servicios de neonatología, todo estudio que ayude a la orientación de un diagnóstico temprano y ahorro de tiempo para iniciar una terapia antimicrobiana eficaz, justifica por sí mismo todo trabajo como el presente.

Con este fin se estudiaron 50 neonatos con sospecha o riesgo de sepsis, a quienes se les efectuó además de los exámenes de laboratorio de rutina (hematología, proteína C reactiva, hemocultivo y cultivo de LCR), un frote del estrato leucocitario teñido con Naranja Acridina, que es un colorante básico, a la vez fluorescente y metacromático, siendo su característica especial que colorea los ácidos nucleicos de las células somáticas, bacterias y otros microorganismos.

Los resultados demuestran una superioridad de la Naranja Acridina sobre los exámenes de laboratorio de rutina, ya que presentó una positividad del 42% y los cultivos bacteriológicos de sólo 24% del total de los pacientes estudiados, y una correlación del 100% en pacientes con cultivos positivos. Además se demostró que sólo se necesitan 15 minutos para comprobar la infección ya que la hematología y proteína C reactiva tardan un promedio de 4 horas, y sólo orientan al diagnóstico, y los cultivos en promedio de 3 días, lo cual representa una diferencia marcada y significativa de ahorro de tiempo.

La sensibilidad fue de 88%, especificidad de 100% y certeza predictiva para prueba positiva de 57%, y para prueba negativa de 100%, aclarando que los resultados bajos se deben a la tasa de positividad baja de los cultivos en el Hospital, ya que los pacientes que estaban clínicamente enfermos o que murieron, presentaron Na-

ranja Acridina positiva, mientras los resultados de cultivos, fueron negativos.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Alistair, G.S.P. Acute phase proteins in neonatal infection. *J Pediatr* 1984 Dec; 105(6):940-942
2. Avery, G.B. Infecciones bacterianas en el recién nacido. En su: *Enfermedades del neonato*, 2da. ed. Barcelona, Salvat, 1982. 800p. (pp. 723-746)
3. Daun, R. y A. Smith. Sepsis bacteriana en el recién nacido. *Clínicas Médicas de Norteamérica* 1978 Ene; 92(1):163-164
4. Engle, W.D. et al. Neutropenia in high risk neonate. *J Pediatr* 1984 Dec; 105(6):982-986
5. Gaitán, Silvia. Sepsis neonatal, diagnóstico temprano por frotis del estrato leucocitario; estudio prospectivo en 80 recién nacidos, Depto. Pediatría Servicio Neonatología, - Hospital Roosevelt. Tesis (Médico y Cirujano)-Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Médicas, Guatemala, 1984. 62p.
6. Gemme, J.W. et al. Perinatal bacterial infection after prolonged rupture of amniotic membranes and analysis of risk and management. *J Pediatr* 1984 Apr; 104(4):603-608
7. Gnehm, H.P. et al. Management of septicemia neonatal and meningitis. *Pediatr Ann* 1983 Mar; 12(3):195-204
8. Goldmann, D.A. Bacterial colonization and infection in the neonate. *Am J Med* 1983 Feb; 70(2):417-422

9. Guatemala. Hospital Roosevelt. Comité de infecciones nosocomiales. Lineamientos para determinar la presencia y clasificación de infecciones nosocomiales. 1984. s.p. (mimeografiado)
10. Kempe, C.H. Sepsis neonatal. En su: **Diagnóstico y tratamiento pediátrico**. 4ta. ed. México, Manual Moderno, 1981. 940p. (p.78)
11. Klaus, M.H. y A.A. Fanaroff. Sepsis neonatal. En su: **Asistencia del recién nacido de alto riesgo**. 2da. ed. Buenos Aires, Panamericana, 1981. 416p. (pp. 275-297)
12. Kleiman, M.B. et al. Rapid diagnosis of neonatal bacteremia with acridine orange stain buffy coat smears. **J Pediatr** 1984 Sept; 105(3):419-421
13. Kleiman, M.B. et al. Superiority of acridine orange stain versus gram stain in partially treated bacterial meningitis. **J Pediatr** 1984 Mar; 104(3):401-404
14. Kronvall, G. et al. Differential staining of bacteria in clinical specimens using acridine orange buffered at low pH. **Acta Pathol Microbiol Scand sect(B)** 1977 Aug; 85B(4): 249-254
15. Krugman, S. Septicemia del recién nacido. En su: **Enfermedades infecciosas**. 6ta. ed. México, Interamericana, 1979. 2110p. (pp. 178-199)
16. Markf, M.I. et al. Bacterial infection in the newborn infants. **Clin Perinatol** 1981 Oct; 8(3):537-557
17. Mc Cracken, G.H.J. Neonatal septicemia and meningitis. **Hosp Pract** 1976 Jan; 11(1):89-97
18. Meneses, L.F. **Infección neonatal**. Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Médicas, Fase III 1979. 5p. (mimeografiado)
19. Mirret, S. et al. Comparison of acridine orange, methylene blue and gram stains for blood cultures. **J Clin Microbiol** 1982 Apr; 15(4):562-566
20. Philip, A.G.S. et al. Early diagnosis neonatal sepsis **Pediatrics** 1980 May; 65(5):1036-1040
21. Rivera, G.J.A. **Exanguinotransfusión en sepsis**: estudio prospectivo sobre exanguinotransfusión como coadyuvante del tratamiento de 30 neonatos con sepsis, con grupo comparativo histórico en el Depto. de Pediatría Hospital General San Juan de Dios. Tesis (Médico y Cirujano)-Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Médicas. Guatemala, 1984. 44p.
22. Sann, L. et al. Evaluation of serum prealbumin, C. reactive protein and orosomucoid in neonates with bacterial infection. **J Pediatr** 1984 Dec; 105(6):977-981
23. Schaeffer, A.L. Infecciones bacterianas específicas. En su: **Enfermedades del recién nacido**. 2da. ed. Barcelona, - Salvat, 1974. 1023p. (pp. 670-721)
24. Welliver, R.C. et al. Unique epidemiology of nosocomial infection in a children's hospital. **Amer J Dis Child** 1984 Feb; 138(2):131-135

Estudiodelos

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS
HOSPITAL ROOSEVELT
DEPARTAMENTO DE PEDIATRIA

NARANJA ACRIDINA EN SEPSIS NEONATAL

Nombre del paciente: _____ R.M. _____

Cuna #: _____ Sexo: _____ Servicio: _____

Fecha y hora de nacimiento: _____

Edad gestacional: _____ APGAR: _____

Peso: _____ Edad al inicio de signos y síntomas: _____

SIGNOS Y SINTOMAS:

Temperatura: _____ Vómitos _____ Cianosis: _____ Ictericia: _____

Decaimiento: _____ Dif. Resp. _____ Dist. Abd. _____

Diarrea: _____ Dism. de reflejos de R.N. _____

Otros: especificar: _____

RIESGO DE SEPSIS: _____ PUNTOS

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS
HOSPITAL SOOSERET
DEPARTAMENTO DE
LABORATORIOS

Hematología: No. _____ Fecha: _____

Proteína C reactiva No.: _____ Fecha: _____

Hemocultivo: No. _____ Fecha: _____

Cultivo de LCR. No. _____ Fecha: _____ Resultado: _____

NARANJA ACRIDINA: _____

CENTRO DE INVESTIGACIONES DE LAS CIENCIAS

DE LA SALUD

(C I C S)

CONFORME:



Los conceptos expresados en este trabajo
son responsabilidad únicamente del Autor.
(Reglamento de Tesis, Artículo 23).