



Universidad Nacional Autónoma de México

DIVISION DE ESTUDIOS SUPERIORES

FACULTAD DE MEDICINA

**UTILIDAD DEL HEMOCULTIVO POR LA
TECNICA DEL MICROMETODO EN EL
RECIEN NACIDO.**

TESIS DE POST-GRADO

CURSO DE ESPECIALIZACION EN PEDIATRIA

DR. JUAN IGNACIO SUAREZ Y BASAVE

HOSPITAL DE PEDIATRIA.

CENTRO MEDICO NACIONAL

I. M. S. S.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A mi esposa Margarita
por su abnegación y estímulo
para mi superación profesional.

A mi hijita Margarita

A mis padres y hermanos

A mi familia

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Luis Jasso Gutiérrez
por su asesoría y ayuda en
el presente trabajo.

Al Dr. Francisco Resano Pérez
por su colaboración técnica.

A la Srta. Q.F.B.
Norma Alarcón Olivares,
por su compañerismo y valiosa
ayuda en la tesis.

Al personal de enfermería

A mis compañeros.

C O N T E N I D O

	Página
1. INTRODUCCION	1
2. MATERIAL Y METODOS	2
3. RESULTADOS	5
4. COMENTARIOS	7
5. TABLAS	13
6. RESUMEN	14 A
7. BIBLIOGRAFIA	15

I N T R O D U C C I O N

En el recién nacido infectado se ha demostrado - la utilidad del cultivo de la sangre para identificar la - bacteria causante de la septicemia (1,2,3,4,5). A pesar de lo anterior existen dificultades técnicas en la obtención de la sangre en suficiente cantidad en los neonatos y de éstos en los prematuros, a los que se les agrega la formación de hematomas e incluso artritis piógenas (6,7).

Debido a la necesidad de establecer el diagnóstico de certeza de septicemia en el recién nacido, tanto para fines de diagnóstico como de tratamiento, se hace necesario contar con un método que utilice pequeñas cantidades de sangre para su cultivo, el cual a su vez ofrezca menos riesgos para el paciente. Para lo anterior se ha descrito (8) recientemente un método (microhemocultivo) en el que se utilizó sangre para el cultivo tomada del talón del neonato, con el que se demostró un número similar de aislamientos cuando se comparó con el método tradicional (macrohemocultivo). En base a este trabajo se planteó la hipótesis de que el número de aislamientos bacterianos en niños infectados es similar cuando se compara el microhemocultivo con el macrohemocultivo.

MATERIAL Y METODOS

Se estudiaron un total de 200 recién nacidos con sospecha de septicemia ingresados a los servicios de Neonatología y Urgencias del Hospital de Pediatría entre los meses de Febrero a Noviembre de 1978. En relación a la probabilidad de septicemia se establecieron en dos grupos. El grupo I, lo constituyeron neonatos con presencia de uno o más focos infecciosos, en los que podían o no existir antecedentes de ruptura prematura de membranas, instrumentación durante el parto, maniobras de reanimación, aunado a datos indirectos de septicemia como plaquetopenia (9), velocidad de sedimentación globular acelerada (10) y leucopenia o leucocitosis (4). El grupo II fueron recién nacidos sin localización clínica de infección, pero con signos específicos de infección sistémica como distermia, reactividad disminuida, coloración terrosa, rechazo al alimento, quejido, etc., con o sin antecedentes de ruptura prematura de membranas, instrumentación durante el parto, maniobras de reanimación y todo esto aunado a datos indirectos de septicemia como plaquetopenia, velocidad de sedimentación globular acelerada y leucopenia o leucocitosis. La edad gestacional de los niños se calculó por la fecha de la última menstruación y la valoración de Dubowitz (11).

Para el método del macrohemocultivo se tomó sangre de ambas regiones inguinales en cantidad de 1 a 3 ml - cada hora en 3 ocasiones, previa limpieza de la región con agua y jabón seguida de la impregnación de merthiolate, -- así como la utilización de guantes estériles y cubreboca.- El método de aislamiento de la bacteria fue el recomendado por Ruiz Castañeda modificado por Scott y Rosner (12). - - Veinticuatro horas después de la siembra inicial se realizó un subcultivo en gelosa sangre y en caso de positividad (identificación de colonias) se siguieron los métodos convencionales bacteriológicos hasta la completa identifica-- ción de las bacterias; en caso de negatividad (ausencia de colonias) los cultivos de la botella de Ruiz Castañeda fue ron observados por 21 días vigilando crecimiento bacteria- no, al término de los cuales se hizo un nuevo subcultivo y si no hubo desarrollo se consideró negativo.

Para el método del microhemocultivo se tomó san- gre simultáneamente a la del macrohemocultivo, del borde - externo de ambos talones con una lanceta estéril cada hora en 3 ocasiones, previa limpieza de la región con agua y ja- bón seguido de la impregnación con merthiolate, así como - la utilización de guantes estériles y cubrebocas. Para es- te método se realizaron seis modificaciones distintas al - original (8) que consistieron en una limpieza diferente de

la piel del talón, en la obtención de una mayor cantidad de sangre (en lugar de 0.02ml se tomaron 0.2ml), en la utilización de tubos capitales estériles para punto de fusión, con una capacidad de 100 microlitros cada uno, en la impregnación de estos capilares con el anticoagulante polianetol sulfonato de sodio en vez de heparina, en la agitación magnética con una varilla metálica estéril introducida en el interior del capilar y en la siembra con tubos que contienen 2 ml de caldo de soya tripticasa al que se le agregó sacarosa al 15%. Una vez hecho esto se les puso en una estufa a 37°C y 24 horas después se realizó subcultivo en gelosa sangre, en caso de positividad se siguieron realizando los métodos convencionales para la completa identificación de las bacterias; en caso de negatividad los cultivos fueron observados por 21 días vigilando el crecimiento bacteriano, al término de los cuales se hizo un nuevo subcultivo y si no hubo desarrollo se consideró negativo.

El análisis estadístico de los datos se efectuó con la X^2 para varias proporciones y la prueba de Fischer (13).

RESULTADOS

De los 200 niños estudiados, 52 (26%) tuvieron aislamiento de bacterias en sangre por macro o microhemocultivo. En 27 niños se aisló la misma bacteria en ambos métodos, en 18 más, sólo por el macrométodo y en 7 por el micrométodo. En un solo paciente se aisló en el micro y en el macrométodo bacterias diferentes.

De los 52 pacientes con aislamiento bacteriano, 14 no recibieron antibióticos previo a la toma de los hemocultivos, 24 más recibieron de 1 a 3 dosis y 13 de 4 a 5 dosis, la mayoría de los casos fueron combinaciones de penicilina-kanamicina o ampicilina-kanamicina.

De los 52 niños con aislamiento bacteriano, 34 fueron de término de los cuales 28 correspondieron al grupo I y 6 al grupo II. Los 18 restantes fueron niños pretérminos de los cuales 7 correspondieron al grupo I y 11 al grupo II. El número de niños que tuvieron la misma bacteria en el macro y en el microhemocultivo resultó similar (no significativo estadísticamente) tanto al comparar los niños de término contra los pretérmino, como los del grupo I contra los del grupo II.

En la tabla 1 se consignan el total de aislamientos de los 600 macro y de los 600 microhemocultivos. Puede observarse que no existió diferencias significativas en la eficiencia de ambos métodos para aislar la misma bacteria y que solo hubo diferencia significativa en la que el aislamiento de *Klebsiella*, *P.mirabilis* y *S.paratyphi B* fueron más frecuentes solo en el macrohemocultivo y solo *St.aureus* se aisló con mayor frecuencia solo en el microhemocultivo.

La eficiencia de aislamiento por paciente de al menos una e de dos bacterias resultó mayor por el macro -- que por el microhemocultivo y no existió diferencia en la eficiencia de aislamiento de tres bacterias como se muestra en la tabla 2.

En el macrométodo hubo un total de 26 aislamientos de *St.epidermidis* y 18 por el micrométodo, que se consideraron como contaminación tomando en cuenta el aislamiento de otra bacteria conocida como patógena en el mismo paciente, así como por haberse demostrado en la evolución posterior que el *St.epidermidis* no fue el causante de la infección.

COMENTARIOS

Debido a que en el presente estudio se trató de corroborar los resultados obtenidos por Mangurten (8), todos los comentarios que se mencionan a continuación son enfocados a resaltar las diferencias. En primer lugar en el presente estudio se tomaron 600 muestras del macrohemocultivo con una positividad del 14.5% y 600 del microhemocultivo con una positividad del 12.3%; estos porcentajes fueron superiores a los comunicados en el trabajo original -- (8) que fue del 5.4 y 5.6% para el macro y microhemocultivo respectivamente; esta situación posiblemente se explica por las diferencias en el tamaño de la muestra entre ambos estudios, así como por las características de la infección que padecieron los pacientes aquí estudiados y por el uso tanto en el macro como en el microhemocultivo de polianetol sulfonato de sodio y sacarosa que no se utilizaron en el estudio previo, además de que la cantidad de sangre para el cultivo por el micrométodo fue mucho mayor (0.2ml en vez de 0.02ml) (8), los cuales proporcionan una mayor cantidad de aislamientos cuando se adicionan al medio básico de cultivo (14,15,16,17,18,19).

En relación a la confiabilidad del micro compara

do con el macrohemocultivo en el presente trabajo resultó ser de 59% (52 de 87) porcentaje más bajo que el del estudio previo(8) que resultó del 73% (8 de 11). La posible explicación para esta diferencia tal vez esté en relación con el mayor número de aislamientos del presente estudio, ya que por efectos del azar en una muestra tan pequeña como la obtenida por Mangurten (8) se hubiese encontrado -- una mejor eficiencia del microhemocultivo.

Otro hallazgo importante a destacar es que en el presente trabajo el 40.2% (35 de 87) de los aislamientos fueron positivos solo en el macrohemocultivo, lo que contrasta con el 27.2% (3 de 11) de los obtenidos en el estudio original (8). Esto posiblemente esté nuevamente -- relacionado con el mayor número de aislamientos obtenidos por nosotros, así como por el uso del polianetol sulfonato de sodio y sacarosa adicionados al medio básico de cultivo (soya tripticasa).

La diferencia fundamental del presente estudio -- comparada con el de Mangurten (8) radicó en que mientras -- este autor no tuvo ningún aislamiento solo por el microhe -- mocultivo, nosotros obtuvimos 22 de un total de 74 que re -- presenta el 29.7%. Para esta situación una explicación -- plausible sería la condicionada por el mayor número de --

aislamientos de este trabajo comparados con el otro, así como por el uso de polianetol sulfonato de sodio en vez de heparina y la adición de sacarosa, además del uso de una mayor cantidad de sangre (20,21). Otra explicación podría ser que tomando en consideración la gravedad de muchos de nuestros pacientes con solo el microhemocultivo positivo esto hubiese condicionado cambios circulatorios periféricos acompañantes del choque séptico y de esta manera se propiciaría atrapamiento de bacterias a nivel del talón (20). Por último en el estudio original no se tomaron en todos los casos 3 muestras simultáneas del macro y del microhemocultivo, situación que sí se realizó en el presente estudio, lo que posiblemente influye en los resultados, ya que de esta manera se le permite igualdad de posibilidades para ambos métodos de cultivo.

Una situación no contemplada en el estudio previo (8) es que al parecer la posibilidad de aislamiento de *Klebsiella*, *P.mirabilis* y *S.parathypi* B únicamente por el macrohemocultivo es mayor comparada con el microhemocultivo y que una situación contraria parece existir para el aislamiento de *St.aureus* que fue mayor en el micro que en el macrohemocultivo, hallazgo para lo cual no tenemos una explicación.

En cuanto a la eficiencia de aislar en 3 hemocultivos consecutivos en el mismo paciente la misma bacteria en 1 o 2 de los cultivos, es mayor en el macro que en el microcultivo, diferencia la cual desaparece para el aislamiento de la misma bacteria en 3 hemocultivos consecutivos por ambos métodos. Este hallazgo posiblemente esté relacionado con la cantidad de bacterias circulantes, ya que de los 14 niños que en los 3 hemocultivos se le aisló en cada uno de ellos la misma bacteria, todos correspondieron al grupo I que fueron aquellos en que la posibilidad de septicemia fue mucho mayor.

El porcentaje de contaminación resultó en un 4.3% para el macrohemocultivo y en un 3% para el microhemocultivo lo cual está en límites aceptables con el porcentaje de contaminación obtenido por Mangurten (8), y otros (20,22,23).

Debido a que varias de las diferencias encontradas en el presente trabajo comparadas con el original radicaron en el uso del polianetol sulfonato de sodio y de la sacarosa adicionadas al medio básico de cultivo (soya - tripticasa) así como la obtención de una mayor cantidad de sangre por el micrométodo (0.2ml en vez de 0.02ml), vale la pena mencionar algunas de las ventajas que estos cambios pudieron producir en los resultados. El polianetol sulfonato

de sodio ha sido bien demostrada su superioridad sobre - - otros anticoagulantes en cultivos de sangre por varios investigadores, ya que además de su acción como anticoagulante se ha demostrado que tiene actividad antifagocítica, anticomplementaria y neutralizadora de la acción bactericida de la sangre fresca (14,15,16,17,18,19), lo que propicia - sin lugar a dudas un mayor porcentaje de aislamientos cuando se compara con otros anticoagulantes. Por otra parte el uso de la sacarosa aunado al del polianetol sulfonato de - sodio incrementa el número de aislamientos a través de producir una estabilización osmótica y de esa manera condiciona un mejor ambiente para las bacterias que pudieran tener su pared dañada (16,18). Por último está bien demostrado - que la cantidad mínima de sangre para cultivos de la misma oscila de 2.0 a 0.2ml con la condición de que esta última-cantidad solo será positiva cuando 10 o más bacterias por-mililitro de sangre estén presentes (20,21).

De todo lo anteriormente mencionado se puede concluir que la hipótesis original de este trabajo se comprobó parcialmente y se puede agregar como recomendación general que aunque el microhemocultivo no es un sustituto del-macrohemocultivo puede ser utilizado con relativa confianza en recién nacidos gravemente enfermos en los que la toma de sangre por el macrométodo sea técnicamente difícil -

como es el caso de algunos niños prematuros en los que se sospecha septicemia o en aquellos con problemas de coagulación intravascular diseminada.

T A B L A 1

COMPARACION DEL MACRO Y EL MICROHEMOCULTIVO TOMADOS SIMULTANEAMENTE

TOTAL DE AISLAMIEN TOS

BACTERIAS	MACRO(n=600)	MICRO(n=600) POSITIVOS	Misma bacte ria en ambos Métodos	Solo en Macro Núm.	Solo en Micro Núm.	p*	p**
Klebsiella	36	24	20	16	4	N.S.	<0.01
E. Coli	24	25	19	5	6	N.S.	N.S.
Pseudomonas	6	8	4	2	4	N.S.	N.S.
P. mirabilis	8	4	3	5	1	N.S.	<0.05
S. paratyphi B	7	2	2	5	0	N.S.	<0.05
Providencia	1	0	0	1	0	N.S.	--
ST. aureus	5	11	4	1	7	N.S.	<0.01
TOTALES	87	74	52	35	22	N.S.	

* Comparación del Macro con el Microhemocultivo en cuanto la eficiencia de ambos para aislar la misma bacteria en sangre.

**Comparación del tipo de bacteria aislada solo en el macro o solo en el micro--hemocultivo.

N.S.: No significativo.

T A B L A 2

RELACION DE AISLAMIENTO POR PACIENTE DE LA MISMA BACTERIA EN TRES HEMOCULTI
VOS CONSECUTIVOS

<u>AISLAMIENTO POR MUESTRA</u>	<u>TOTAL</u>	<u>MACROHEMO- CULTIVO</u>	<u>MICROHEMO- CULTIVO</u>	<u>P</u>
En una	16	15	7	<0.01
En dos	22	19	12	<0.05
En tres	14	11	9	N.S.

N.S.: No significativa

RESUMEN.

Partiendo de la hipótesis de que el número de aislamientos bacterianos en niños infectados es similar cuando se compara el macrohemocultivo con el microhemocultivo, se hace un estudio comparativo de ambos métodos en 200 recién nacidos con sospecha de septicemia, realizándose en el último método mencionado 6 modificaciones del trabajo original de Mangurten.

Los resultados obtenidos mostraron que de los 200 niños estudiados, 52 (26%) tuvieron aislamientos de bacterias en sangre por macrohemocultivo. En 27 niños se aisló la misma bacteria en ambos métodos, en 18 más, solo por el macrométodo y en 7 por el micrométodo. Catorce casos no habían recibido antimicrobianos previamente. No existió diferencia significativa en la eficiencia de ambos métodos para aislar la misma bacteria, pero si la hubo en el aislamiento de *Klebsiella*, *P. mirabilis* y *S. paratyphi B.* que fueron -- más frecuentes en el macrohemocultivo y *St. aureus* que fue más frecuente por el microhemocultivo. El porcentaje de contaminación resultó 4.3 % para el macrohemocultivo y en un 3% para el microhemocultivo.

Se puede concluir que la hipótesis original de este trabajo se comprobó parcialmente, recomendándose que aunque el microhemocultivo no es un sustituto del macrohemocultivo, puede ser utilizado con relativa confianza en el recién nacido gravemente enfermo en que la toma de sangre por el macrométodo sea técnicamente difícil.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Eitzman, D.V., y Smith, R.T.: The significance of blood culture in the newborn period. *Am. J. Dis. Chil.* 94:601, 1957.
- 2.- Gotoff, S.P., y Behrman, R.E.: Neonatal Septicemia. *J. Pediatr.* 76:142, 1970.
- 3.- Franciosi, R.A., y Favara, B.E.: A single blood culture for confirmation of the diagnosis of neonatal septicemia. *Am. J. Clin. Pathol.* 57:215, 1972.
- 4.- Jasso, G.L.: Septicemia Neonatal. En *Avances en Perinatología*. Diaz del Castillo, E. y Urrusti, S.J. Méndez Oteo. México, 1974. pág. 425.
- 5.- Dietzman, D.E.; Fischer, G.W., y Schoenknecht, F.D.: Neonatal *Escherichia coli* septicemia-bacterial counts in blood. *J. Pediatr.* 85:128, 1974.
- 6.- Asnes, R.S., y Arender, M.G.: Septic arthritis of the hip: a complication of the femoral venipuncture. *Pediatrics.* 38:837, 1966.
- 7.- McKay, R.J. Jr.: Diagnosis and treatment: Risks of obtaining samples of venous blood in infants. *Pediatrics.* 38:906, 1966

- 8.- Mangurten, H.H., y Le Beau, L.J.: Diagnosis of neonatal bacteremia by microblood culture technique. *J. Pediatr.* 90: 990, 1977.
- 9.- Jasso, G.L., y Vargas, O.A.: Trombocitopenia como índice de septicemia en el recién nacido. *Gac. Med.* 111: 317, 1976.
- 10.- Abdo, B.F.; Jasso, G.L., y RAMIREZ, V.L.: Velocidad de sedimentación globular como índice de infección en el recién nacido. *Bol. Med. Hosp. Infan. Méx.* 35: 507, 1978.
- 11.- Dubowitz, L.M.S.; Dubowitz, V., y Goldberg, C.: Clinical assesment of gestational age in the newborn infant. *J. Pediatr.* 77: 1, 1970.
- 12.- Resano, P.F., y Zuñiga, T.V.: Hemocultivo: consideraciones acerca del aislamiento microbiológico en un hospital para niños. *Gac. Med. Méx.* 109: 269, 1975.
- 13.- Ipsen, J., y Feigl, P.: Bancroft's introduction to biostatistics. Harper and Row. New York, 1970.
- 14.- Ellner, P.D., y Stoessel, C.J.: The role of the temperature and anticoagulant on the in vitro survival of bacterial blood. *J. Infect. Dis.* 116: 238, 1966.
- 15.- Rosner, R.: Effect of various anticoagulants and no anticoagulants on ability to isolate bacteria directly from parallel clinical blood specimens. *Am. J. Clin. Pathol.* 49: 216, 1968.

- 16.- Rosner, R.: Comparison of a blood culture system containing liquid and sucrose with system containing either reagent alone. *Appl. Microbiol.* 19:281, 1970.
- 17.- Rosner, R.: A quantitative evaluation of three blood culture systems. *Am. J. Clin. Pathol.* 57:220, 1972.
- 18.- Hall, M.; Warren, E., y Washington, A.: Detection of bacteremia with liquid media containing sodium polyanethol sulfonate. *Appl. Microbiol.* 27:187, 1974.
- 19.- Scott, E.G., y Bailey, W.R.: Role of anticoagulants and osmotic stabilizers in blood culturing. In *Diagnostic Microbiol.* Quinta ed. Ed. Mosby Co. St. Louis, U.S.A. 39, 1978.
- 20.- Jennings, P.B.; Crumrine, M.H., Carthy, G.W., y Cunningham, T.: A modified peripheral blood culture method for identification of bacteria in central arterial and peripheral blood. *Appl. Microbiol.* 27:297, 1974.
- 21.- Fischer, G.W.; Crumrine, M.H., y Jennings, P.B.: Experimental *Escherichia coli* sepsis in rabbits. *J. Pediatr.* 85:117, 1974.
- 22.- Holt, R.J.; Frankcombe, C.H., y Newman, R.L.: Capillary blood cultures. *Arch. Dis. Child.* 49:318, 1974.
- 23.- Jennings, P.B.; Dixon, R.S.; Mc Carthy, M.K., y Mettler, P.R.: A modified peripheral capillary blood culture sampling technique. *Pediatrics.* 57:966, 1976.