

## UTILIDAD DE LA TINCION NARANJA DE ACRIDINA EN EL DIAGNOSTICO DE SEPSIS RELACIONADAS A CATETERES

AUTOR: Rosana Quintana;

COAUTORES: María Florencia Prieto; Daniel H. Bagilet; María del Carmen Dalman y Eduardo Gregorini.

Carrera de Especialización en Clínica Médica. Facultad de Ciencias Médicas. UNR

2<sup>da</sup>. Cátedra de Clínica Médica. Hospital Escuela "Eva Perón". San Martín 1645. (2152) Granadero

Baigorria. Argentina. Telefax: 0341-4713815. e-mail: [uti@steel.com.ar](mailto:uti@steel.com.ar)

## RESUMEN

Objetivo: Estudiar la utilidad del método de tinción con naranja de acridina (NDA) de la sangre extraída a través del dispositivo intravenoso (DI) para el diagnóstico de sepsis relacionada a catéter (SRC).

Diseño: Prospectivo y observacional.

Pacientes: Se incluyeron pacientes mayores de 18 años, de ambos sexos, con DI centrales para hidratación parenteral y administración de medicamentos que presentaron cuadro clínico compatible con SRC y aceptaron participar. Se excluyeron todos los pacientes con confirmación de otro foco infeccioso como causa de la sepsis.

Procedimiento: En el momento de la sospecha clínica de SRC y antes de retirar el DI, se extrajeron muestras de sangre de vena periférica y a través del DI para estudio con tinción con NDA. Luego de extraídas las muestras, el catéter fue retirado y los 3 cm distales del mismo se enviaron para su análisis microbiológico mediante las técnicas de Liñares et al. Y de Maki et al. Se definió como SRC al desarrollo significativo en el extremo del catéter (superficie endoluminal con  $\geq 10^3$  UFC/ml y superficie extraluminal  $\geq 15$  UFC/ml.) y en la muestra de sangre periférica del mismo microorganismo.

Estadística: Se efectuaron cálculos de sensibilidad y especificidad para la evaluación del NDA.

Resultados: Se estudiaron 121 pacientes con sospecha de SRC y se diagnosticaron 4. Dos de ellas por *Staphylococcus aureus*, 1 por *Pseudomonas aeruginosa* y 1 por *Candida albicans*. La sensibilidad del NDA fue de 100% (4/4), la especificidad del 93% (109/117) y el valor predictivo negativo de 1.

Conclusiones: Si bien el bajo número de eventos no permite estimar el valor del NDA para el diagnóstico de la SRC, su alto valor predictivo negativo permitiría descartar con cierta seguridad esta complicación infecciosa.

PALABRAS CLAVES: Sepsis relacionada a catéter. Naranja de acridina.

## ABSTRACT

Aims: To analyze if acridine orange (AO) staining method on blood extracted through intravenous device (ID) is a reliable method to diagnose catheter-related sepsis (CRS).

Study Design: Prospective and observational.

Patients Selection: Persons from 18 years old on from both genders were included. Requisites were: they should have central ID for parenteral hydration and administration of drugs which were compatible with CRS and they should voluntarily participate. Patients which confirmed having another infection that caused the sepsis were excluded.

Procedure: When CRS was suspected and before removing the ID, blood samples were extracted from peripheral veins and through the ID to analyze them using AO staining. After extracting the samples, the catheter was removed and the three centimeters distal were sent for their microbiological analyzes with Liñares et al. and Maki et al. techniques. CRS was defined as the significant development in the tip of the catheter (endoluminal surface with  $\geq 10^3$  UFC/ml and extraluminal surface  $\geq 15$  UFC/ml.) and in the peripheral blood of the same microorganism.

Statistics: Calculations on sensitivity and specificity were carried out to evaluate AO.

Results: One hundred and twenty one patients were studied and 4 were diagnosed. Two of them were infected with *Staphylococcus aureus*, one with *Pseudomonas aeruginosa* and one with *Candida albicans*. AO sensitivity was 100% (4/4), specificity was 93% (109/117) and the negative predictive value was 1.

Conclusions: Even though the number of events does not allow estimating the importance of AO to diagnose CRS, its high negative predictive value would constitute it in a reliable method for the exclusion of CRS.

KEYWORDS: Catheter-related sepsis. Acridine orange.

## INTRODUCCIÓN

La sepsis relacionada al catéter (SRC) causa el 25% de las bacteriemias y alrededor del 15% de las muertes por sepsis en pacientes hospitalizados. <sup>1</sup> Ante la sospecha de SRC es habitual que se retire el dispositivo intravenoso (DI) y se cultive el extremo del mismo para el diagnóstico. Sin embargo sólo en el 20% de los casos el catéter es la causa de la infección. <sup>2</sup>

El gran número de catéteres retirados en forma innecesaria, llevó a la búsqueda de métodos alternativos de diagnósticos, que permitan conservar el dispositivo. Uno de los propuestos es el examen directo, en un microscopio de inmunofluorescencia, de sangre obtenida a través del DI y teñida con naranja de acridina (NDA).<sup>3</sup> Este método, rápido y sencillo tiene una sensibilidad del 92% y una especificidad del 98% para excluir la SRC.<sup>4</sup>

El objetivo de este trabajo fue evaluar en nuestro medio, la sensibilidad y especificidad del NDA para el diagnóstico de la SRC.

## MATERIAL Y METODOS

Este estudio prospectivo y observacional se realizó en la Unidad de Terapia Intensiva del Hospital Escuela "Eva Perón" entre el 01/06/2005 y 28/09/2006 y tuvo la aprobación del Comité de Docencia e Investigación.

Se incluyeron pacientes mayores de 18 años, de ambos sexos, con DI centrales para hidratación parenteral y administración de medicamentos que presentaron respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) definida como dos o más de los siguientes: temperatura  $< 36^{\circ}\text{C}$  o  $> 38^{\circ}\text{C}$ , leucocitos  $< 4.000 \text{ mm}^3$  o  $> 12.000 \text{ mm}^3$ , frecuencia respiratoria  $> 20 \text{ c/min}$  o  $\text{PCO}_2 \leq 32 \text{ mmHg}$  y frecuencia cardiaca  $> 90 \text{ l/min}$ . que aceptaron participar y firmaron el consentimiento informado aprobado por el Comité de Docencia del Hospital.

Se excluyeron todos los pacientes con confirmación de otro foco infeccioso como única causa de la SIRS.

### **Procedimiento**

En el momento de la sospecha clínica de SRC y antes de retirar el DI, se extrajeron con técnica estéril, 3 ml. de sangre periférica y 3 ml. de sangre a través del catéter previa antisepsia del sitio de conexión. Las muestras fueron remitidas al laboratorio de microbiología en forma inmediata, en tubos estériles con heparina y debidamente identificadas. Si el paciente recibía antibiótico la muestra era extraída 30 minutos antes de la próxima dosis del antibiótico.

La sangre periférica se procesó según técnica habitual. La sangre obtenida a través del catéter fue examinada mediante la tinción de NDA. Para la misma se tomaron 50  $\mu\text{l}$ . de sangre y se la colocó en un tubo de hemólisis al cual se le agregó 1,2 ml de solución salina hipotónica. Luego de dos minutos se neutralizó con 2,8 ml de solución hipertónica y al producto final se lo centrifugó durante 5 minutos a 3.000 rpm, descartándose el sobrenadante. El botón celular se colocó en un portaobjeto, se teñía con NDA (concentración 0,001%) y se observó en un microscopio de inmunofluorescencia. Luego de extraídas las muestras, el catéter fue retirado y los 3 cm distales del mismo fueron enviados en tubos estériles rotulados al servicio de microbiología. El catéter fue estudiado mediante la técnica propuesta por Liñares et al. <sup>5</sup> para la superficie endoluminal y de Maki et al. para la superficie extraluminal. <sup>6</sup>

Definición de SRC: Desarrollo significativo en el extremo del catéter (superficie endoluminal con  $\geq 10^3 \text{ UFC/ml}$  y superficie extraluminal  $\geq 15 \text{ UFC/ml}$ .) y sangre periférica del mismo microorganismo.

### **Análisis Estadístico**

Las variables cuantitativas fueron expresadas como media  $\pm$  desvío estándar ( $\pm$ DE). Las cualitativas fueron expresadas mediante frecuencias y porcentajes. Para la evaluación de la técnica del NDA se efectuaron cálculos de sensibilidad y especificidad.

## RESULTADOS

En el periodo comprendido entre el 01 de Junio de 2005 y el 28 de Septiembre de 2006 fueron incorporados al estudio 121 pacientes internados en la Unidad de Terapia Intensiva del Hospital Escuela "Eva Perón". La edad promedio de los enfermos fue de 53 años ( $\pm$ 17,31), siendo el 57% varones. La patología de ingreso se detalla en la tabla 1, el APACHE II promedio fue de 16 puntos ( $\pm$ 7,04). Los catéteres Arrow® (Ref. producto CV-50014-BF) de 14 Ga, 2,2 mm. de diámetro y libres de látex fueron colocados para la administración de soluciones o medicamentos parenterales. Se contabilizaron 1.063 días/catéter con un promedio de permanencia de 8,78 ( $\pm$ 5,24) días. Los accesos utilizados fueron: subclavio en el 45,5% de los casos y yugular interno en el 54,5% restante. En el 95% de las oportunidades los dispositivos fueron colocados por un Médico Residente. Se diagnosticaron 4 (3,3%) SRC, 2 de ellas por *Staphylococcus aureus*, 1 por *Pseudomonas aeruginosa* y 1 por *Candida albicans*. Las características de los enfermos con SRC y los hallazgos microbiológicos se detallan en la tabla 2 y los resultados del NDA en la tabla 3.

## DISCUSION

La introducción de un DI en la vena cava superior por vía percutánea es uno de los procedimientos invasivos más utilizados en las Unidades de Cuidados Intensivos. Se emplean a diario para la infusión de fluidos, nutrición parenteral y medición de la presión venosa central.

Este procedimiento no está exento de riesgos y en el 3 al 6% de los casos pueden surgir complicaciones serias como: neumotórax, hemotórax, hidrotórax, embolismo gaseoso o SRC.<sup>7,8</sup> Las complicaciones infecciosas provocan un significativo aumento en la morbilidad, costo sanitario y mortalidad.<sup>9</sup>

La SRC se produce cuando los microorganismos acceden y colonizan la capa de fibrina que recubre la superficie del dispositivo intravenoso a partir del segundo día de implantado. La vía por la cual los mismos acceden a dicha capa depende del tiempo de permanencia del DI.<sup>10</sup>

En los de corta duración penetran desde el sitio de inserción y migran por la superficie externa hasta el extremo.<sup>11</sup> En los DI de larga duración el ingreso habitualmente se produce desde los sitios de conexión y la migración a través de la luz.<sup>11</sup> Menos frecuentemente los microorganismos pueden acceder y colonizar el DI luego de una bacteriemia originada en un foco distante.<sup>11</sup>

Los microorganismos habitualmente relacionados con la SRC son *Staphylococcus coagulasa negativo* (39%), *Staphylococcus aureus* (26%), Bacilos Gram negativo (14%) y *Candida albicans* (11%).<sup>12</sup>

Ante la sospecha de SRC la conducta diagnóstica puede diferir de acuerdo a la necesidad de conservar el DI o no.

En el caso de los DI para hemodiálisis, administración de medicación antineoplásica, etc. se emplean técnicas diagnósticas que permiten conservarlos.

Una de ellas es la toma de muestras pareadas de sangre periférica y a través del DI para la determinación cuantitativa del número de UFC en cada una de ellas. El desarrollo 3 a 5 veces mayor en la sangre extraída del DI es indicativa de SRC. Este método tiene una sensibilidad del 87% y una especificidad del 98%.<sup>13</sup>

Otra técnica es la que toma la diferencia de tiempo para el desarrollo bacteriano. En este caso ambos cultivos son positivos, pero el de la sangre del DI lo es por lo menos 2 horas antes que el de la periférica. La sensibilidad es del 85% y la especificidad del 81%.<sup>14</sup>

En los DI de corta duración el diagnóstico y la probable vía de acceso del microorganismo pueden establecerse estudiando la sangre periférica y el extremo del catéter con la técnica de Maki y col. para superficie externa y la de Cleri modificada por Liñares y Brun-Buisson para la superficie interna. La utilización de ambas técnicas en forma conjunta aumenta el rédito diagnóstico de un 10-15%.

El hallazgo del mismo germen en la sangre periférica y en el extremo del catéter confirma el diagnóstico de SRC.

Sin embargo la evidencia indica que más del 70% de los DI retirados por sospecha de SRC son estériles. La extracción innecesaria del catéter implica la colocación de uno nuevo, riesgo innecesario para el paciente y mayor gasto. Para evitar esto, diversos autores han propuesto técnicas alternativas de fácil acceso y rápidas para descartar SRC sin la necesidad de retirar el DI.

Una de ellas es la tinción con NDA de la sangre obtenida a través del DI con una sensibilidad 87-96% y una especificidad 92-97%.<sup>15</sup>

Para la realización esta técnica, se utiliza 50-100 ul de sangre, las células son lisadas y centrifugadas, luego se realiza la tinción y se observa en un microscopio de inmunofluorescencia. La forma de procesar la muestra aumenta el rendimiento diagnóstico cuando es recuento de microorganismos es bajo.<sup>15</sup>

Este método diagnóstico es accesible, sencillo, rápido y económico, pero a pesar de ello su utilización en adultos no está ampliamente difundido.<sup>15</sup>

Debido a que no existe evidencia suficiente para que este método pueda recomendarse de manera formal para el diagnóstico o la exclusión de la SRC, decidimos llevar adelante el presente trabajo.

Los pacientes incluidos en este estudio tenían mediana edad, gravedad intermedia y la mayoría se encontraban internados por patologías médicas.

La totalidad de los DI fueron colocados para la administración de soluciones o medicamentos parenterales y la permanencia promedio de los mismos fue de aproximadamente una semana lo que explica el bajo número de SRC hallado.

La tinción con NDA fue positiva en todos los casos de SRC demostrando una sensibilidad del 100% y una especificidad del 93%. No obstante, debido al bajo número de eventos, es necesaria la realización de nuevos trabajos de investigación al respecto. Es importante destacar que todos los pacientes libres de infección tuvieron NDA negativa (VPN=1).

Los resultados obtenidos sugieren que el NDA podría ser un método de diagnóstico accesible, rápido y de bajo costo para excluir la presencia de SRC. Este dato permitiría adoptar una conducta conservadora con respecto al DI siempre que no haya evidencia de infección local o de bacteriemias por *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona* o *Candida*.

AGRADECIMIENTOS: Estadísticas Marta Quaglino y Marisa Flury por su asesoramiento en el procesamiento de los datos.

## BIBLIOGRAFIA

1. Liñares J, Dominguez MA, Martin R. Current laboratory techniques in the diagnosis of catheter – related infections. *Nutrition*. 1997 Apr; 13 (4 Suppl): 10S-14S.
2. Siegman-Igra Y, Anglim A , Shapiro D , Adal K , Strain B , Farr B. Diagnosis of Vascular Catheter-Related Bloodstream Infections: A Meta-Analysis. *J Clin Microbiol*. 1997 Apr; 35(4): 928-36
3. Kit P, Dobbins BM, Wilcox MH, McMahon MJ. Rapid Diagnosis of central-venous catheter-related bloodstream infection without catheter removal. *Lancet* 1999 Oct 30; 354 (9198):1504-07.
4. Tighe MJ, Kite P, Thomas D, Fawley WN, McMahon MJ. Rapid diagnosis of catheter-related sepsis using the acridine orange leukocyte cytospin Test and an endoluminal brush. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* 1996 May- Jun; 20 (3):215-218.
5. Liñares J, Sitges-Serra A, Garau J, Perez JL, Martin R. Pathogenesis of catheter sepsis: A Prospective Study with Quantitative and Semiquantitative Culture of Catheter Hub and Segments. *J. Clin. Microbiol* 1985 Mar; 21(3):357-60.
6. Maki DG, Weise CE, Sarafin HW. A Semiquantitative Culture Method for Identifying Intravenous Catheter-related Infection. *New Engl J Med* 1977 Jun 9; 296(23):1305-9.
7. Walters MB, Stanger HA, Rotem CE. Complications with Percutaneous Central Venous Catheter. *JAMA* 1972; 220:1455-1457.
8. Bagilet D, Soriano F, Goiburu J, Fein L, Guercetti E, Valtorta E, Dip O. *Rev Clin Esp* 1988; 183:502
9. Luque Gómez A, Simonet Huertas N, Ramos Viciano MI , Palacios Moreno M , Pardo Hernández PE . Profilaxis de las complicaciones infecciosas de los catéteres venosos centrales. *Rer Esp Anestesiol Reanim* 2002; 49 (1):17-33.
10. León C, Ariza J. Guías para el tratamiento de las infecciones relacionadas con catéteres intravasculares de corta permanencia en adultos: conferencia de consenso SEIMC-SEMICYUC. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2004 Feb; 22(2):92-101.
11. Safdar N, Fine P, Maki MG. Meta-Analysis: Methods for diagnosing intravascular device-related bloodstream infection. *Ann Intern Med*. 2005 Mar 15; 142(6):451-66.
12. Soloaga R, Tokumoto M, Fernández A, Ángel C, Gutfraind Z, Procopio A. The clinical microbiology laboratory in the diagnosis of catheter related bacteremia. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2000; 18:62-65.
13. Catton JA ,Dobbins BM , Kite P, Wood JM , Eastwood K , Sugden S , Sandoe JA , Burke D , McMahon MJ , Wilcox MH. In situ diagnosis of intravascular catheter-related bloodstream infection: A comparison of quantitative culture, differential time to positivity, and endoluminal brushing. *Crit Care Med*. 2005 Apr; 33 (4):787-791.
14. Worthington T, Elliott TS. Diagnosis of central venous catheter related infection in adult patients. *J Infect*.2005 Nov; 51(4):267-80.
15. Bong JJ, Kite P, Ammori BJ, Wilcox MH, McMahon MJ. The use a Rapid in situ test in the detection of central venous catheter-related bloodstream infection: A prospective study. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*. 2003 Mar- Apr; 27 (2):146-150.

Tabla 1. Frecuencia de patología.

	Frecuencia	Porcentaje	
Infeciosa	31	25,6%	
Postoperatoria	17	14,0%	
Neurológica	16	13,2%	
Trauma	15	12,4%	
Respiratoria	10	8,3%	
Nefrológica	9	7,4%	
Shock-Sepsis-F.O.M	9	7,4%	
Cardiovascular	7	5,8%	
Digestiva	3	2,5%	
No Definida	2	1,7%	
Endocrinológica	1	0,8%	
Toxicológica	1	0,8%	
<b>Total</b>	<b>121</b>	<b>100,0%</b>	

Tabla 2. Características de los enfermos con SRC y hallazgos microbiológicos

Paciente	UI	RD	DE	AS
Edad	71	55	82	60
Sexo	F	F	F	F
Patología	Shock-Sepsis-F.O.M	Digestiva	Respiratoria	Infeciosa
Apache II	11	10	-	23
Días/Catéter	7	10	5	17
Acceso	SC	SC	SC	SC
Operador	Residente	Residente	Residente	Residente
Sangre Periférica	<i>S aureus</i>	<i>Ps aeruginosa</i>	<i>S aureus</i>	Candida Albicans
Luz del Catéter	<i>S aureus</i>	<i>Ps aeruginosa</i>	<i>S aureus</i>	Candida Albicans
Superficie del Catéter	<i>S aureus</i>	<i>Ps aeruginosa</i>	<i>S aureus</i>	Candida Albicans
Signos inflamatorios	Si	No	No	No
NDA	Cocos	Bacilos	Cocos	Levaduras

Tabla 3. NDA en SRC

NDA	SRC (+)	SRC (-)	
(+)	4	8	12
(-)	0	109	109
	4	117	121

Sensibilidad 100%. Especificidad 93%