

GACETA MEDICA

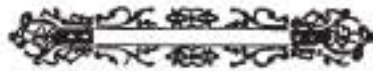
DE CARACAS

Fundada el 13 de marzo de 1893

por el

DR. LUIS RAZETTI

Organo de la Academia Nacional de Medicina
y del Congreso Venezolano de Ciencias Médicas



VOLUMEN 130 - Supl 4

Agosto 2022

Caracas - Venezuela

Indizada en

AMELYCA, AURA, BASE, BASE DE DATOS PERIODICA, BIBLAT,
BIREME, CABELLS SCHOLARLY ANALYTICS, CROSS REF, DIRECTORY
OF OPEN ACCESS JOURNAL(DOAJ), Elsevier Scopus, EuroPub, GOOGLE
ANALYTICS, GOOGLE SCHOLAR, Latindex, LILACS, MIAR, ORCID,
PUBLONS, PubMed, REDIB, Research Gate, REPOSITORIO SABER UCV,
SCIELO, SCIMAGO, WEB OF SCIENCE, WORLDCAT

Gaceta Médica de Caracas

Órgano oficial de la Academia Nacional de Medicina
y del Congreso Venezolano de Ciencias Médicas

Fundada el 13 de marzo de 1893

por el

Dr. Luis Razetti

Primer número publicado el 15 de abril de 1893

Editor en Jefe

Enrique Santiago López-Loyo

Volumen 130

Suplemento 4

Agosto 2022

Editor Invitado

Huníades Urbina-Medina

EDITORIAL

Consenso Venezolano sobre Hemocultivos: indicaciones, técnicas e interpretación.
Huníades Urbina-Medina

S791

Sepsis, Bacteriemia y Fungemia en pediatría. Conceptos actuales
Huníades Urbina-Medina, Yolanda América Lupi Acevedo

S795

Hemocultivo: fase pre-analítica
María Graciela López, Miguelangel Nexans-Navas, Lourdes Morillo

S808

Hemocultivo: técnica de recolección
Angela Troncón, Tibisay Triana

S821

Hemocultivo: transporte, conservación, recepción, criterios de rechazo y bioseguridad
Jacqueline De Izaguirre, Gerardine García Oronoz, Roque Aouad

S825

Contenido de frascos y métodos para realizar Hemocultivos
Elio Jesús Núñez Tamayo

S830

Procesamiento de hemocultivos
Heidi Mago de Querales, Marlinka Moya

S836

Procesamiento de hemocultivos positivos
Mariela del Socorro Acevedo Pedroza

S845

Lectura interpretada del antibiograma
Tatiana Drummond-Suinaga, Benny Rodríguez-Anderson, María Eugenia Galíndez-Landaeta,
Mariana Stanchieri-Andueza

S856

Gaceta Médica de Caracas

Official Journal of the National Academy of Medicine
and The Venezuelan Congress of Medical Sciences

Founded March 13, 1893

By

Dr. Luis Razetti

First number published on April 15, 1893

Editor in Chief

Enrique Santiago López-Loyo

Volume 130

Supplement 4

August 2022

Guest Editor

Huníades Urbina-Medina

INDEX

EDITORIAL

Venezuelan Consensus on Blood Cultures: Indications, techniques, and interpretation Huníades Urbina-Medina	S791
Sepsis, Bacteremia and Fungemia in pediatrics. Current concepts Huniades Urbina-Medina, Yolanda America Lupi Acevedo	S795
Blood culture: pre-analytical phase Maria Graciela Lopez, Miguelangel Nexans-Navas, Lourdes Morillo	S808
Blood culture: collection technique Angela Troncone, Tibusay Triana	S821
Blood culture: Transport, conservation, reception, rejection criteria and biosafety Jacqueline De Izaguirre, Gerardine Garcia Oronoz, Roque Aouad	S825
Bottle content and methods for blood cultures Elio Jesus Nunez Tamayo	S830
Blood culture processing Heidi Mago de Querales, Marlinka Moya	S836
Processing of positive blood cultures Mariela del Socorro Acevedo Pedroza	S845
Interpretative reading of the antibiogram Tatiana Drummond-Suinaga, Benny Rodriguez-Anderson, Maria Eugenia Galindez-Landaeta, Mariana Stanchieri-Andueza	S856

Academia Nacional de Medicina

Junta Directiva

2022-2024

Presidente: Dra. Isis Nézer de Landaeta

Vicepresidente: Dr. Huníades Urbina-Medina

Secretario: Dr. Dr. Marco Sorgi Venturoni

Tesorero: Dra. Lilia Cruz de Montbrun

Bibliotecario: Dr. Guillermo Colmenares Arreaza

Individuos de Número

Sillón I:	Dra. Aixa Müller de Soyano	Sillón XXI:	Dra. Claudia Blandenier de Suárez
Sillón II	Dr. Miguel José Saade Aure	Sillón XXII:	Dr. Huníades Urbina-Medina
Sillón III	Dr. Marco Sorgi Venturoni	Sillón XXIII:	Dr. José A. O'Daly Carbonell
Sillón IV:	Dr. Rafael Muci Mendoza	Sillón XXIV:	Vacante
Sillón V:	Vacante	Sillón XXV:	Dr. Felipe Martín Piñate
Sillón VI:	Dr. Saúl Krivoy	Sillón XXVI:	Dr. Claudio Aoün Soulie
Sillón VII:	Dr. Guillermo Colmenares A	Sillón XXVII:	Dr. Mauricio Goihman Yahr
Sillón VIII:	Vacante	Sillón XXVIII:	Dr. Luis Ceballos García
Sillón IX:	Dr. Otto Rodríguez Armas	Sillón XXIX:	Dr. Julio Borges Iturriza
Sillón X:	Dr. José Ramón Poleo	Sillón XXX:	Dr. Félix José Amarista
Sillón XI:	Dr. Saúl Kizer Yorniski	Sillón XXXI:	Dr. Enrique López Loyo
Sillón XII:	Vacante	Sillón XXXII:	Dra. Ofelia Uzcátegui U.
Sillón XIII:	Dr. José Francisco	Sillón XXXIII:	Vacante
Sillón XIV:	Dr. Oscar Beaujón Rubín	Sillón XXXIV:	Vacante
Sillón XV:	Dr. Víctor Ruesta	Sillón XXXV:	Vacante
Sillón XVI:	Dr. Harry Acquatella M	Sillón XXXVI:	Dr. Antonio Clemente H
Sillón XVII:	Dra. Isis Nézer de Landaeta	Sillón XXXVII:	Dr. Juan Antonio Yabur Tarrazzi
Sillón XVIII:	Dr. José M Guevara Iribarren	Sillón XXXVIII:	Dr. Rafael Apitz Castro
Sillón XIX:	Dra. Lilia Cruz de Montbrun	Sillón XXXIX:	Dra. Doris Perdomo de Ponce
Sillón XX:	Dr. Pedro Faneite Antique	Sillón XL:	Dr. Horacio Vanegas

Miembros Correspondientes Nacionales

1. Dra. Eddy Verónica Mora (Carabobo)
2. Dr. José Alberto Briceño Polacre (Trujillo)
3. Dr. Jorge García Tamayo (Zulia)
4. Dr. José Luis Cevallos (Caracas)
5. Dr. Israel Montes de Oca (Caracas)
6. Dr. Carlos Rojas Malpica (Carabobo)
7. Dra. Laura C Vásquez de Ricciardi (Trujillo)
8. Dr. Jesús Enrique González Alfonso (Caracas)
9. Dr. Oswaldo Guerra Zagarzazu (Carabobo)
10. Vacante
11. Dr. José Alejandro Corado Ramírez (Carabobo)
12. Dra. Evelyn Figueroa de Sánchez (Carabobo)
13. Dr. Sergio Osorio Morales (Zulia)
14. Dr. Rafael María Rosales Acero (Táchira)
15. Dra. Myriam del Valle Marcano Torres (Carabobo)
16. Dr. Carlos Cabrera Lozada (Caracas)
17. Dr. Wilmar de Jesús Briceño Rondón (Barinas)
18. Dra. Emely Zoraida Karam Aguilar (Caracas)
19. Dr. Jesús Eduardo Meza Benítez (Carabobo)
20. Dra. Elsa Báez de Borges (Caracas)
21. Dr. Jesús Alfonso Osuna Ceballos (Mérida)
22. Dr. Felipe de Jesús Díaz Araujo (Zulia)
23. Dra. Nelly Petit (Zulia)*
24. Dr. César Blanco Rengel (Caracas)*
25. Dr. Alberto Paniz-Mondolfi (Lara)
26. Dra. Marianella Herrera Cuenca (Caracas) *
27. Dr. Raúl Díaz Castañeda (Trujillo)
28. Dr. Mariano Álvarez Álvarez (Monagas)
29. Dr. José Rodríguez Casas (Caracas)
30. Vacante
31. Dr. Nelson Urdaneta (Caracas)
32. Dr. Gastón Silva Cacavale (Caracas)
33. Dr. Eduardo Morales Briceño (Caracas)
34. Dra. Laddy Casanova de Escalona (Carabobo)
35. Dr. José Ramón Guzmán (Zulia)
36. Dra. Mercedes López de Blanco (Caracas)
37. Dr. José T. Nuñez Troconis (Zulia)
38. Dra. Enriqueta Sileo Giuseffi (Caracas)
39. Dr. Marino José González Reyes (Caracas)
40. Dr. Luzardo Canache Campos (Aragua)
41. Dr. Franco Calderaro Di Ruggiero (Caracas)
42. Dra. Susana Banco Sobrino (Caracas)*
43. Dr. José Manuel De Abreu D'Monte (Caracas)
44. Dr. José Andrés Octavio Seijas (Caracas)
45. Dr. Antonio De Santolo (Caracas)
46. Vacante
47. Dr. Andrés Soyano López (Caracas)
48. Dra. Janice Fernández de D'Pool (Zulia)
49. Dra. Rosa Cedeño de Rincón (Zulia)
50. Dr. Raúl Fachin Viso (Carabobo)

Miembros Correspondientes Extranjeros

1. Dr. Vladimir Hachinsky (Canadá)
2. Dr. Remigio Vela Navarrete (España)
3. Dr. Zoilo Cuellar Montoya (Colombia)
4. Dr. Alvaro Rodríguez González (Colombia)
5. Dr. Pedro Grases (Costa Rica)
6. Dr. Igor Palacios (Estados Unidos)
7. Dr. Otto Gago (Estados Unidos)
8. Dr. Francisco López Muñoz (España)
9. Dr. Eduardo Pretell Zárate (Perú)
10. Dr. Harold Zur Hausen (Alemania)
11. Dr. Henry Lynch (Estados Unidos)
12. Dr. Vicente Gutiérrez Maxwell (Argentina)
13. Dr. J. Aurelio Usón Calvo (España)
14. Dr. José Augusto Da Silva Messias (Brasil)
15. Dr. Gianfranco Parati (Italia)*
16. Dr. Juan del Rey Calero (España)
17. Dr. Jean Civatte (Francia)
18. Dra. Carmen Luisa García de Insausti (España)
19. Dr. Andrew V. Schally (Estados Unidos)
20. Dr. Terence J Ryan (Inglaterra)
21. Dr. Jean Pierre Delmont (Francia)
22. Vacante
23. Dr. Jörg G.D. Bikmayer (Austria)
24. Dr. John Uribe M. (Estados Unidos)
25. Dr. José Esparza (Estados Unidos)
26. Dr. Augusto Bonilla Barco (Ecuador)
27. Dr. Kenneth Kenyon (Estados Unidos)
28. Dr. Gabriel Carrasquilla (Colombia)*
29. Dr. Janis V. Klavins (Estados Unidos)
30. Vacante

Invitados de Cortesía

(Dado su carácter todavía no son Académicos)

Dra. Belkysyolé Alarcón de Noya
Dr. Rafael Arteaga Romero
Dra. Elvia Irene Badell Madrid
Dra. Alba Cardozo
Dr. Antonio Cartolano
Dr. Pedro Ignacio Carvallo
Dr. Jaime Díaz Bolaños
Dra. Maritza Durán
Dr. Antonio A Eblen Zaijjur
Dr. Mariano Fernández S.
Dr. Cutberto Guarapo Rodríguez
Dr. Peter Gunczler
Dra. Marienalla Herrera Cuenca
Dr. David Lobo
Dr. Aderito De Sousa
Dra. Ana María Martínez

Dr. Sigfrido Miranda
Dra. María Eugenia Mondolfi Gudat
Dr. José Félix Oletta López
Dr. Saúl Peña Arciniegas
Dr. Omar Reyes Morales
Dr. Francisco Alejandro Rísquez
Dra. Ingrid Rivera
Dr. Jesús Rodríguez Ramírez
Dr. Germán Rojas Loyola
Dr. Jesús Romero Guarecuco
Dr. Rafael Romero Reverón
Dr. Tomás José Sanabria Borjas
Dr. Daniel Sánchez
Dr. Herbert Stegemann
Dr. Joselit Torres
Dra. María Yanes Herrera

IV

* (Electo)

Comité Editorial de la Gaceta Médica de Caracas (Editorial Board)

Editor en jefe (Editor in Chief)

Dr. Enrique Santiago López Loyo (ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA, Venezuela)

Editor Gerente (Senior Editor)

Dra. Anita Stern de Israel (UCV, Venezuela)

Editores Honorarios (Honorary Editors in Chief)

Dr. Antonio Clemente (ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA, Venezuela)

Dr. Rafael Muci Mendoza (ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA, Venezuela)

Dra. Doris Perdomo de Ponce (ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA, México)

Editores Asociados (Associate Editors)

Dr. Harry Acquatella (ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA, Venezuela)

Dra. Lissé Chiquinquirá Angarita Dávila (Universidad Andres Bello: Talcahuano, Concepción, Biobio, CL Chile)

Dr. Claudio Aoín (ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA, Venezuela)

Dr. Gustavo Aroca (Universidad Simón Bolívar, Colombia)

Dr. Franco Calderaro di Ruggiero (ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA, Clínica Razetti, Venezuela)

Dra. Lilia Cruz (ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA, Venezuela)

Dr. Jorge Escobedo (UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MÉXICO, México)

Dr. Mariano Fernández (UCV, Venezuela)

Dr. José Francisco (ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA, Venezuela)

Dr. José María Guevara (ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA, Venezuela)

Dr. Saúl Kízer (ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA, Venezuela)

Dr. Saúl Krivoy (ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA, EE. UU)

Dr. Felipe Martín Piñate (ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA, Venezuela)

Dr. José Parra (Universidad de Guadalajara, México)

Dra. Diana Marcela Rojas (Universidad Andrés Bello: Talcahuano, Concepción, Biobio, CL, Chile)

Dr. Tomas Sanabria (ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA, Venezuela)

Dra. Enriqueta Sileo (ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA, Venezuela)

Dr. Gastón Silva (ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA y Policlínica Metropolitana, Caracas, Venezuela)

Dr. Marco Sorgi (ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA, Venezuela)

Dr. Andrés Soyano (ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA, Venezuela)

Dr. Huníades Urbina (ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA, Venezuela)

Dra. Ofelia Uzcátegui (ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA, Venezuela)

Dr. Horacio Vanegas (ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA, Venezuela)

Dr. Juan Yabur (ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA, Venezuela)

Comité Editorial de la Gaceta Médica de Caracas (Editorial Board) Continuación

Editores Ejecutivos (Executive Guest Editors)

Dr. Luis Alcocer (Universidad Autónoma de México, México)
Dr. Ezequiel Bellorin Font (Universidad de Cleveland, EE. UU)
Dr. Raúl Carlini (Hospital Universitario, Caracas, Venezuela)
Dr. Guillermo Colmenares (ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA, Venezuela)
Dr. Manuel Guzmán Blanco (Centro Médico de Caracas, Venezuela)
Dr. Zafar Israili (Universidad de Emory, EE. UU)
Dra. Isis Nézer de Landaeta (ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA, Venezuela)
Dra. Alicia Ponte Sucre (IME-UCV, Venezuela)
Dr. Heberto Suarez Roca (LUZ, EE. UU)
Dr. Herbert Stegeman (ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA, Venezuela)

Editores de Sección (Section Editors)

Dr. Oscar Aldrey (Instituto Médico, La Floresta, Venezuela)
Dr. Valmore Bermúdez (USB, Colombia)
Dra. Claudia Blandenier de Suárez (ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA, Venezuela)
Dr. Claudio Borghi (Universidad de Bologna, Italia)
Dr. Juan De Sanctis (Universidad de Olomouc, República Checa)
Dr. José Esparza (ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA, EE.UU)
Dr. Luis Juncos (J Robert Cade Foundation, Argentina)
Dr. Carlos Ferrario (Universidad de Carolina del Norte, EE. UU)
Dr. Claudio Ferri (Università degli Studi dell'Aquila, Italia)
Dr. Patricio López Jaramillo (Universidad Autónoma de Bucaramanga (UNAB), Colombia)
Dr. Héctor Marcano (Hospital Universitario de Caracas, Venezuela)
Dr. Oscar Noya (Instituto de Medicina Tropical, UCV, Venezuela)
Dr. José Andrés Octavio (Hospital de Clínicas Caracas, Venezuela)
Dr. José A O'Daly (ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA, Venezuela)
Dr. Stefano Omboni (Italian Institute of Telemedicine, Italia)
Dr. Gianfranco Parati (University of Milano-Bicocca, Italia)
Dr. José Ramón Poleo (ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA, Venezuela)
Dr. Bernardo Rodríguez Iturbe (Instituto Nacional Ignacio Chávez, México)
Dr. Félix Tapia (Instituto de Biomedicina-UCV, Venezuela)

Editores Asistentes (Assistant Editors)

Dr. Henry Collet Camarillo (Clínica Ávila, Venezuela)
Dr. Freddy Contreras (UCV, Venezuela)
Dr. Giuseppe Crippa (Unidad de Hipertensión Arterial Piacenza, Italia)
Dra. Maricarmen Chacín (USB, Colombia)
Dra. María Sofía Martínez Cruz (Universidad de Virginia, EE. UU)
Dra. Dolores Moreno (Instituto de Biología Molecular -UCV, Venezuela)
Dr. Alexis García (Instituto de Inmunología, UCV, Venezuela)
Dra. Jenny Garmendia (Instituto de Biología Molecular-UCV, Venezuela)
Dr. Edward Rojas (Universidad de Virginia, EE. UU)
Dr. Juan Salazar (La Universidad del Zulia, Venezuela)
Dr. Francisco Tortoledo (España)

Comisiones Científicas para el bienio 2020-2022

Los miembros de las Comisiones son **árbitros de la Gaceta Médica de Caracas**

1. CREDENCIALES

Antonio Clemente Heimerdinger	clementea2@gmail.com
Claudio Aoñin Soulie	caouns@gmail.com
Rafael Muci-Mendoza	rafaelmuci@gmail.com
Harry Acquatella Monserrate	hacquatella@gmail.com
Oscar Beaujon Rubín	obr9773582mbb@gmail.com
Luis Ceballos García	luisceballosg@gmail.com
Miguel Saade Aure	miguelsaade@yahoo.com

Presidente: Dr. Claudio Aoñin S

Secretario: Dr. Miguel Saade

2. MEDICINA GENERAL Y ESPECIALIDADES MÉDICAS

Eduardo Morales Briceño	eduardomoralesb@gmail.com
Marino González Reyes	marinojgonzalez@gmail.com
Aixa Müller	asoyano@gmail.com
Herbert Stegemann	hstegema@gmail.com
José Rodríguez Casas	rodriguezcasasjose@yahoo.com
Maritza Durán	maritzamanueladaniela@gmail.com

Presidente: Dr.

Secretario: Dr.

3. CIRUGÍA, ESPECIALIDADES QUIRÚRGICAS Y ANATOMÍA PATOLÓGICA

Felipe Martín Piñate	felipemartinp@yahoo.es
Claudio Aoñin Soulie	caouns@gmail.com
Enrique S. López Loyo	lopezloyoe@gmail.com
Miguel Saade Aure	miguelsaade@yahoo.com
Saúl Krivoy	alfabeta38@gmail.com
José A. O'Daly Carbonell	jaocjesus@hotmail.com
Marco Sorgi Venturoni	marcosorgiv@gmail.com
Claudia Blandenier de Suárez	bds.ca18@gmail.com
Eddy Verónica Mora	eddyveronica@gmail.com
José Manuel De Abreu	josemanueldeabreu@gmail.com
César Blanco Rengel	ceblanco1@hotmail.com
Jaime Díaz Bolaños	Jaime.diazbolaos@gmail.com
Franco Calderaro	francocalderarod@hotmail.com

Presidente: Dr. José Manuel D'Abreu

Secretaria: Dra. Eddy Verónica Mora

4. PEDIATRÍA Y PUERICULTURA

Hunfades Urbina-Medina	urbinamedina@gmail.com
Enriqueta Sileo	enriquetasileo6@gmail.com
María Eugenia Mondolfi	memondolfi@gmail.com
Mercedes López de Blanco	checheta75@gmail.com
Luis Ceballos García	luisceballosg@gmail.com

Comisiones Científicas para el bienio 2020-2022

José Manuel Francisco
Rafael Arteaga Romero
Elvia Badell Madrid

chenofra@gmail.com
radar25@gmail.com
elvirenebadell@hotmail.com

Presidente Dra. Mercedes López de Blanco **Secretaria Dra. Enriqueta Sileo**

5. OBSTETRICIA Y GINECOLOGÍA

Ofelia Uzcátegui Uzcátegui
Pedro Faneite Antique
Juan Antonio Yabur
Saúl Kizer
Carlos Cabrera Lozada
Franco Calderaro

ofeluz135@gmail.com
faneitep@hotmail.com
jayabur@gmail.com
kizeres@gmail.com
carloscabreralozada@gmail.com
francocalderarod@hotmail.com

Presidente: Dr. Saúl Kizer

Secretario: Dr. Carlos Cabrera Lozada

6. MEDICINA SOCIAL, SALUD PÚBLICA Y EDUCACIÓN MÉDICA

Antonio Clemente Heimerdinger
José Francisco
Marino González Reyes
Juan Yabur
Eduardo Morales Briceño
Herbert Stegemann
Mariano Fernández
Saúl Peña Arciniegas
José Félix Oletta
María Yanes

clementea2@gmail.com
chenofra@gmail.com
marinojgonzalez@gmail.com
jayabur@gmail.com
eduardomoralesb@gmail.com
hstegema@gmail.com
marianofernandez@ucv.ve
saulpena09@gmail.com
jofeole@hotmail.com
cridan2009@hotmail.com

Presidente: Dr. Antonio Clemente H

Secretario: Dr. Saúl Peña Arciniegas

7. CIENCIAS BÁSICAS

Harry Acquatella Monseratte
José A. O'Daly Carbonell
Mauricio Gohman
Lilia Cruz
Horacio Vanegas
Andrés Soyano López
Rafael Romero Reverón
Jesús Rodríguez Ramírez

hacquatella@gmail.com
jaocjesus@hotmail.com
mgoihmanyahr@yahoo.com
lcr13118@gmail.com
horaciovan@gmail.com
soyanolop@gmail.com
rafa1636@yahoo.es
drjmrodriguezr@yahoo.es

Presidente: Dr. Harry Acquatella M

Secretario: Dr. José O'Dally Carbonell

Comisiones Científicas para el bienio 2020-2022

8. BIOÉTICA Y PRAXIS MÉDICA

José María Guevara
Felipe Martín Piñate
Julio Borges Iturriza
Isis Nézer de Landaeta
Rafael Apitz
Mauricio Goihman
Enriqueta Sileo
Andrés Soyano López

josemaguir@gmail.com
felipemartinp@yahoo.es
jriturriza@gmail.com
landaetanezer@yahoo.com
rapitz@gmail.com
mgoihmanyahr@yahoo.com
enriquetasileo6@gmail.com
soyanolop@gmail.com

Presidente: Dr. Rafael Apiz Castro

Secretario: Dr. Andrés Soyano

9. CULTURA Y HUMANISMO

Enrique López Loyo
Lilia Cruz Rodríguez
Mauricio Goihman
Jesús Rodríguez Ramírez
Rafael Romero Reverón
Maritza Durán

lopezloyoe@gmail.com
lcr13118@gmail.com
mgoihmanyahr@yahoo.com
drjmrodriguezr@yahoo.es
rafa1636@yahoo.es
maritzamanueladaniela@gmail.com

Presidente: Dr.

Secretario: Dr.

10. COMISIÓN EDITORA DEL PORTAL WEB

Lila Cruz
Maritza Durán (Medicina Interna)
María Eugenia Landaeta (Infectología)
Germán Rojas Loyola (Pediatría)
José Luis Cevallos (Endocrinología)
Carlos Cabrera Lozada (Obstetricia)
José Manuel De Abreu (Cirugía)

lcr13118@gmail.com
maritzamanueladaniela@gmail.com
mariaeugenialandaeta1@gmail.com
grojasloyola@gmail.com
cevallosj1@gmail.com
carloscabreralezada@gmail.com
josemanueldeabreu@gmail.com

Coordinadora: Dra. Lilia Cruz

Normas para los autores de publicaciones en la “Gaceta Médica de Caracas”

La revista Gaceta Médica de Caracas (GMC) es una publicación periódica, órgano oficial de la Academia Nacional de Medicina y del Congreso Venezolano de Ciencias Médicas. Se publica cuatro veces al año y recibe manuscritos inéditos que de ser aceptados por el Comité Redactor, no podrán ser publicados parcial o totalmente en otra parte, sin el consentimiento del Comité Redactor de la GMC.

La GMC sigue las Recomendaciones para la realización, informe, edición y publicación de trabajos académicos en revistas médicas, del Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas conocidas como Recomendaciones ICMJE [www.ICMJE.org, Gac Méd Caracas. 2020;128(1):77-111]. Las unidades deben presentarse de acuerdo con el Sistema Internacional de Unidades (SI) [Gac Méd Caracas. 2015;123(1):46-71].

En la GMC se dará cabida a los trabajos realizados por profesionales de la medicina o especialidades conexas, presentados en la Academia, en los Congresos de Ciencias Médicas y los que sugiera la Corporación a través del Comité Científico, y aceptación final por la Dirección-Redacción. Los manuscritos enviados a la GMC —escritos en español o en inglés—, serán revisados por el Comité Editorial y—si reúnen la calidad científica y cumplen con las normas de presentación necesarias— serán sometidos a un proceso de arbitraje externo por personas con competencias similares a las de los productores del trabajo (pares) para su debida evaluación. Queda entendido que el Comité Editorial puede rechazar un manuscrito, sin necesidad de acudir al proceso de arbitraje, si se incumple con lo mencionado.

La opinión, crítica y recomendaciones de los revisores son recibidas en forma escrita y anónima y se enviarán a los autores, cuando así lo decida la Dirección-Redacción.

Todos los trabajos deberán ser enviados por Internet y en papel escrito en computadora a doble espacio, letra Times New Roman tamaño 12, por el anverso del papel, tamaño carta, con amplio margen libre en todo el contorno.

La GMC considerará contribuciones para las siguientes secciones:

- Artículos de revisión
- Artículos originales
- Artículos especiales
- Casos clínicos
- Historia y filosofía de la medicina
- Información epidemiológica
- Bioética

- Comunicaciones breves
- Perlas de observación
- Noticias y cartas al editor
- Varios

Los trabajos enviados deberán cumplir con los requisitos que se describen a continuación.

EDITORIALES

Esta sección estará dedicada al análisis y la reflexión sobre los problemas de salud de la población, los distintos enfoques preventivos y terapéuticos, así como los avances logrados en el campo de la investigación biomédica y otros que considere la Dirección-Redacción.

ARTÍCULOS ORIGINALES

Deberán contener en la página frontal, el título conciso e informativo del trabajo; nombre(s) y apellido(s) de cada autor; grados académicos de los autores e institución en la cual se realizó el trabajo; nombre y dirección actual del autor responsable de la correspondencia; un título corto de no más de 40 caracteres (contando espacios y letras) y las palabras clave.

Los trabajos originales, revisiones sistemáticas y metanálisis deben tener un resumen estructurado, como se indica a continuación:

Debe contener un máximo de 250 palabras, y los siguientes segmentos:

- Introducción: ¿Cuál es el problema principal que motivó el estudio?
- Objetivo: ¿Cuál es el propósito del estudio?
- Métodos: ¿Cómo se realizó el estudio? (selección de la muestra, métodos analíticos y observacionales).
- Resultados: ¿Cuáles son los aspectos más importantes? (datos concretos y en lo posible su significancia estadística)
- Conclusión: ¿Cuál es la más importante que responde al objetivo?

Al final se anotarán 3 a 6 palabras clave.

Resumen en inglés

Debe corresponderse con el resumen en español. Se sugiere que este sea revisado por un traductor experimentado, a fin de garantizar la calidad del mismo.

Introducción

Incluir los antecedentes, el planteamiento del problema y el objetivo del estudio en una redacción libre y continua debidamente sustentada por la bibliografía.

Método

Señalar claramente las características de la muestra, el o los métodos empleados con las referencias pertinentes, de forma que se permita a otros investigadores, realizar estudios similares.

Resultados

Incluir los hallazgos importantes del estudio, comparándolos con las figuras estrictamente necesarias y que amplíen la información vertida en el texto.

Discusión

Relacionar los resultados con lo reportado en la literatura y con los objetivos e hipótesis planteados en el trabajo.

Conclusión

Describir lo más relevante que responda al objetivo del estudio.

Agradecimientos

En esta sección se describirán los agradecimientos a personas e instituciones así como los financiamientos.

Referencias

Se presentarán de acuerdo con las Recomendaciones ICMJE.

Incluir las con números arábigos entre paréntesis en forma correlativa y en el orden en que aparecen por primera vez en el texto, cuadros y pie de las figuras. En las citas de revistas con múltiples autores (más de seis autores), se deberá incluir únicamente los 6 primeros autores del trabajo, seguido de et al.,

- a. Artículos en revistas o publicaciones periódicas: apellido(s) del autor(es), inicial del nombre(s). Título del artículo. Abreviatura internacional de la revista: año; volumen: páginas, inicial y final. Ejemplo: Puffer R. Los diez primeros años del Centro Latinoamericano de la Clasificación de Enfermedades. Bol. Of San Pam. 1964;57:218-229.
- b. Libros: apellido(s) del autor(es), inicial(es) del nombre(s). Título del libro. Edición. Lugar de publicación (ciudad): casa editora; año. Ejemplo: Plaza Izquierdo F. Doctores venezolanos de la Academia Nacional de Medicina. Caracas: Fundación Editorial Universitaria, 1996. (No lleva "Edición" por tratarse de la primera).
- c. Capítulo de un libro: apellido(s) del autor(es), inicial(es) del nombre. Título del capítulo. En: apellido(s) e inicial(es) del editor(es) del libro. Título del libro. Edición. Lugar de publicación (ciudad): casa editora; año.p. página inicial y final. Ejemplo: Aoün-Soulie C. Estado actual de la salud en Venezuela. En: Aoün-Soulie C, Briceño-Iragorry L, editores. Colección Razetti Volumen X. Caracas: Editorial Ateproca; 2010.p.87-124- (No lleva "Edición" por tratarse de la primera).

Fotografías

Las fotografías de objetos incluirán una regla para calibrar las medidas de referencia.

En las microfotografías deberá aparecer la ampliación microscópica o una barra de micras de referencia.

CONGRESO DE CIENCIAS MÉDICAS

Se publicarán únicamente trabajos originales de presentaciones en Congresos de Ciencias Médicas. Serán enviados a la Gaceta por los coordinadores, quienes se responsabilizarán de la calidad, presentación de los manuscritos, secuencia y estructura, incluyendo un resumen general en español y en inglés, en formato libre y que no excedan de 250 palabras. Cada contribución no excederá de 10 cuartillas y deberá apegarse a lo señalado en estas instrucciones a los autores.

ARTÍCULOS DE REVISIÓN

Versarán sobre un tema de actualidad y de relevancia médica. El autor principal o el correspondiente deberá ser una autoridad en el área o tema que se revisa y anexará una lista bibliográfica de sus contribuciones que avale su experiencia en el tema.

Las secciones y subtítulos serán de acuerdo con el criterio del autor. Incluir un resumen general en español y en inglés que no exceda de 150 palabras. La extensión máxima del trabajo será de 20 cuartillas. Las ilustraciones deberán ser las estrictamente necesarias, no siendo más de seis, la bibliografía suficiente y adecuada y en la forma antes descrita.

ARTÍCULOS ESPECIALES

Son aquellas contribuciones que por su importancia el Comité Redactor considere su inclusión en esta categoría.

CASOS CLÍNICOS

Deberán constar de resumen en español e inglés (máximo 100 palabras) en formato libre. Constará de introducción, presentación del caso, discusión, ilustraciones y referencias, con una extensión máxima de 10 cuartillas y apegadas a las instrucciones a los autores.

HISTORIA Y FILOSOFÍA DE LA MEDICINA

En esta sección se incluirán los artículos relacionados con aspectos históricos, filosóficos, bases conceptuales y éticas de la medicina. Aunque su estructura se dejará a criterio del autor, deberá incluir resúmenes en español e inglés (máximo 100 palabras) en formato libre, referencias bibliográficas citadas en el texto y en listadas al final del manuscrito, siguiendo los lineamientos citados para los manuscritos de GMC.

ACTUALIDADES TERAPÉUTICAS

Se informará sobre los avances y descubrimientos terapéuticos más recientes aparecidos en la literatura nacional e internacional y su aplicación en nuestro ámbito médico. La extensión máxima será de cuatro cuartillas y con un máximo de cinco referencias bibliográficas. Deberá incluir resúmenes en español e inglés, en formato libre (máximo 100 palabras).

NORMAS PARA LOS AUTORES

INFORMACIÓN EPIDEMIOLÓGICA

Será una sección de información periódica sobre los registros epidemiológicos nacionales e internacionales, destacando su importancia, su comparación con estudios previos y sus tendencias proyectivas. La extensión máxima será de cuatro cuartillas y deberá incluir resúmenes en español en inglés (máximo 100 palabras), en formato libre.

COMUNICACIONES BREVES

Serán considerados en esta sección, los informes preliminares de estudios médicos y tendrán la estructura formal de un resumen como se describió previamente (máximo 150 palabras). Se deberán incluir 10 citas bibliográficas como máximo.

BIOÉTICA

Se plantearán los aspectos éticos del ejercicio profesional y aquellos relacionados con los avances de la investigación biomédica y sus aplicaciones preventivas y terapéuticas. Su extensión máxima será de cuatro cuartillas y cuatro referencias bibliográficas, deberá incluir resúmenes en español e inglés (máximo 100 palabras) en formato libre.

EL MÉDICO Y LA LEY

Esta sección estará dedicada a contribuciones tendientes a informar al médico acerca de las disposiciones legales, riesgos y omisiones de la práctica profesional que puedan conducir a enfrentar problemas legales. Su máxima extensión será de cuatro cuartillas y no más de cinco referencias bibliográficas. Deberá incluir resúmenes en español e inglés (máximo 100 palabras).

NOTICIAS Y CARTAS AL EDITOR

Cartas al editor son breves informes de observaciones clínicas o de laboratorio, justificadas por los datos controlados pero limitado en su alcance, y sin suficiente profundidad de investigación para calificar como artículos originales. Al igual que los artículos originales, estos manuscritos están sujetos a arbitraje. Las cartas al editor son accesible para búsquedas bibliográficas, y citadas como artículos originales, reuniendo lo siguiente:

1. Ser breve. Llenar 2 páginas en la revista impresa, aunque los manuscritos que excedan este pueden ser ocasionalmente aceptados para su publicación en la discreción de los editores. En general, una Carta al

Editor no debe exceder de 1 000 palabras, sin incluir las leyendas, figuras y referencias. Tener en cuenta: que al superar significativamente estos límites puede ser devuelto a los autores para acortar antes de la revisión.

2. Título breve y relevante en una página.
3. Resumen corto que integre las conclusiones del informe para un público con orientación clínica.
6. Nombre(s) del autor(es), títulos académicos, instituciones(s) y ubicación.
7. Un máximo de nueve referencias.
8. Se limitará a un total de 2 figuras y/o cuadros.

Presentación del manuscrito

El manuscrito debe ir acompañado de una carta, dirigida al editor, en la que todos los autores aceptan, con su firma, que han participado activamente en su desarrollo y ejecución, y que el manuscrito está siendo enviado a la consideración de la GMC. En esta carta, los autores deben indicar que la obra presentada es original, que no ha sido publicada previamente, y que no está bajo consideración para publicación en otra revista, que no existe conflictos de interés, y que tiene la aprobación del Comité de Bioética de la institución donde se efectuaron las investigaciones en humanos o en animales de experimentación. La aprobación para su publicación conducirá a ceder los derechos de autor a la GMC. Las opiniones contenidas en el artículo, son responsabilidad de los autores. La GMC, no se hace responsable de las opiniones emitidas por los autores.

El orden de la autoría acreditado debe ser una decisión conjunta de los coautores.

Los trabajos se deben enviar en versión electrónica en un archivo de Microsoft Word a los correos:

acamedve880@gmail.com
editorenjefegmc@gmail.com

No se aceptarán artículos para su revisión si no están preparados de acuerdo a las Instrucciones para los Autores. Se enviará un recibo electrónico al autor y en tiempo oportuno se le comunicará el dictamen del Editor.

Suscripciones, correspondencia y canjes deben solicitarse y dirigirse al Apartado de Correo 804, Caracas 1010-A Venezuela.
Academia Nacional de Medicina, Palacio de las Academias, Bolsa a San Francisco - Caracas 1010- Venezuela.
Teléfono: (+58-12) 482.18.68 (+58-12) 483.21.94 e-mail: acamedve880@gmail.com • sitio web. <http://www.anm.org.ve>
Biblioteca Academia Nacional de Medicina. Teléfono: (+58-12) 481.89.39. e-mail: bibliotanm@yahoo.es

Textos, arte y publicidad: ATEPROCA. Teléfono: (+58-212) 793.51.03 Fax: (+58-212) 781.17.37
<http://www.ateproca.com> • E-mail: ateproca@gmail.com

Consenso Venezolano sobre Hemocultivos: indicaciones, técnicas e interpretación

Huníades Urbina-Medina

Aunque durante mucho tiempo los términos infección y sepsis fueron utilizados en forma alternativa, la tendencia actual es a referir el término infección a un proceso bacteriano dependiente de un germen, mientras que sepsis es el conjunto de reacciones inflamatorias, a veces calamitosas y catastróficas. La sepsis es la respuesta desregulada del organismo ante una infección. Se reconoce por un conjunto de manifestaciones: clínicas, hemodinámicas, hematológicas, bioquímicas e inflamatorias y forman parte de una respuesta orgánica global enfermedad, es una enfermedad compleja y controvertida en cuanto a su clasificación, epidemiología, presentación, diagnóstico y tratamiento. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la sepsis es un problema de gran magnitud y así lo demuestran los datos. La OMS indica que esta patología afecta a 30 millones de personas en el mundo cada año, de las cuales 1,2 millones son niños y 3 millones son neonatos. De hecho, puede causar la muerte de 6 millones de personas al año.

La bacteriemia se define como la presencia de bacterias en el torrente sanguíneo y fungemia la presencia de hongos en la sangre, y su diagnóstico clínico y bacteriológico es importante en niños, especialmente en neonatos y menores de 36 meses de edad. Las fungemias son las micosis invasivas más frecuentes, presentan una alta morbilidad y mortalidad, y se han incrementado.

La detección de la bacteriemia y la fungemia constituye una de las prioridades en el ejercicio médico y microbiológico ya que se asocia con una elevada mortalidad, es por esto su importancia diagnóstica en el manejo de los pacientes. Los hemocultivos se realizan para detectar infecciones en la sangre e identificar su causa. Las infecciones del sistema sanguíneo suelen estar causadas por bacterias (bacteriemia), pero también pueden estar causadas por hongos o levaduras (fungemia), así como por virus (viremia). El hemocultivo se realiza ante la sospecha de que la sintomatología del paciente obedece a la existencia de un proceso infeccioso en curso o la necesidad de identificar el microorganismo que lo causa para instaurar el tratamiento farmacológico más efectivo. Las indicaciones para la realización de hemocultivos deben ser basadas en evidencia y orientadas mediante un diagnóstico clínico que nos lleve a probabilidad o pretest para bacteriemia.

Para realizar el hemocultivo es preciso extraer una muestra de sangre del paciente. Dado que en este caso se trata de cultivar la muestra de sangre para determinar si se produce proliferación

ORCID: 0000-0002-7267-5619

MD, PhD
Pediatra-Intensivista
Vicepresidente Academia Nacional de Medicina-Venezuela

de microorganismos infecciosos, es de suma importancia evitar que la muestra de sangre obtenida para el cultivo se contamine, pues ello podría falsear los resultados del cultivo.

El procesamiento de los hemocultivos, una vez llegada la muestra al laboratorio de microbiología, dependerá de las facilidades tecnológicas con las que cuente la institución, y del tipo de microorganismo que se sospeche desde el punto de vista clínico, lo cual debe ser notificado al laboratorio por el equipo tratante debido al aumento de pacientes inmunocomprometidos, sobre todo de los casos oncológicos. El Microbiólogo con base a estas premisas decidirá temperaturas de incubación, frecuencia y momento de subcultivos y de pruebas de identificación y antibiograma que permitan la más eficaz y oportuna toma de decisiones terapéuticas. Por eso se ha considerado imprescindible revisar y poner al día los procedimientos óptimos para que el principal medio para detectarlos, como es el hemocultivo, se lleve a cabo en condiciones óptimas y por tanto contar con la disposición de protocolos de trabajo normatizados. Es muy importante tener en cuenta que la utilidad de los resultados disminuye de forma notoria si estos no se comunican de forma inmediata a los responsables del manejo del paciente para que puedan adoptarse las decisiones adecuadas en función de esta información. Los medios utilizados en los hemocultivos son polivalentes y enriquecidos nutricionalmente. Las variaciones en la composición de un mismo tipo de medio entre los diferentes fabricantes dificultan establecer comparaciones y sacar conclusiones acerca del rendimiento comparativo para el crecimiento bacteriano de cada uno.

La lectura interpretada del antibiograma consiste en el análisis del patrón de sensibilidad para así intentar predecir los mecanismos de resistencia que pudieran estar presentes en las diferentes bacterias. Para realizar la lectura interpretada del antibiograma es necesario

conocer el espectro de los antimicrobianos, ciertas características farmacocinéticas y farmacodinámicas, así como los principales mecanismos de resistencia a los mismos, lo que permite así optimizar su uso con respecto a la elección empírica inicial y la terapia secuencial durante el tratamiento de las diferentes bacterias.

El hemocultivo sigue siendo actualmente el principal método diagnóstico de la bacteriemia, aunque su valor práctico se ve perjudicado por el retraso en la obtención de resultados y porque no es positivo en todos los pacientes, siendo su rendimiento más bajo en pacientes en tratamiento antibiótico o si la infección se produce por hongos, por bacterias de crecimiento lento o por aquellas con requerimientos especiales. Otro factor clave es la elevada proporción de hemocultivos contaminados por microorganismos pertenecientes a la microbiota de la piel; esto puede dar lugar a errores diagnósticos, tratamientos inadecuados y ocasionar un elevado gasto económico para el sistema sanitario. La sensibilidad de los hemocultivos está en gran medida relacionada, además de con el tipo de microorganismo, con el volumen de la muestra, el momento de la extracción y la ausencia de tratamientos antibióticos previos.

La actual Emergencia Humanitaria Compleja que vive la salud en Venezuela (OMS), el desabastecimiento de todo tipo que sufren los hospitales en Venezuela (Encuesta Nacional de hospitales 2022) que ronda el 70 % en rubros como medicamentos y hasta de 80 % en los servicios de Bioanálisis ha motivado la realización de este Consenso sobre Indicaciones, técnicas e interpretación de los Hemocultivos, con la intención de retomar las buenas prácticas clínicas en las realizaciones de este imprescindible método diagnóstico, como lo es el Hemocultivo. Aspiramos que sirva de guía para todos aquellos profesionales de la salud y estudiantes de las diferentes ramas de la Medicina en materia de diagnóstico de las infecciones.

Venezuelan Consensus on Blood Cultures: Indications, techniques, and interpretation

Huníades Urbina-Medina

Although for a long time the terms infection and sepsis were used interchangeably, the current trend is to refer to the term infection as a bacterial process dependent on a germ, while sepsis is the set of inflammatory reactions, sometimes dire and catastrophic. Sepsis is the body's unregulated response to an infection. It is recognized by a set of manifestations: clinical, hemodynamic, hematological, biochemical, and inflammatory, and is part of the global organic disease response, it is a complex and controversial disease in terms of its classification, epidemiology, presentation, diagnosis, and treatment. According to the World Health Organization (WHO), sepsis is a problem of great magnitude, and this is shown by the data. WHO indicates that this pathology affects 30 million people in the world each year, of which 1.2 million are children and 3 million are newborns. In fact, it can kill 6 million people a year. Bacteremia is defined as the presence of bacteria in the bloodstream and fungemia is the presence of fungi in the blood, and its clinical and bacteriological diagnosis is important in children, especially in neonates and those under

36 months of age. Fungemia are the most common invasive mycoses, present high morbidity, and mortality, and have increased. The detection of bacteremia and fungemia is one of the priorities in medical and microbiological practice since it is associated with high mortality, which is why it's diagnostic and important in patient management. Blood cultures are done to detect infections in the blood and identify their cause. Infections of the blood system are usually caused by bacteria (bacteremia) but can also be caused by fungi or yeasts (fungemia), as well as viruses (viremia). The blood culture is performed when there is a suspicion that the patient's symptoms are due to the existence of an ongoing infectious process or the need to identify the microorganism that causes it to establish the most effective pharmacological treatment. The indications for performing blood cultures must be based on evidence and guided by a clinical diagnosis that leads to probability or pretest for bacteremia. To perform a blood culture, a blood sample must be drawn from the patient. Given that in this case, it is a matter of culturing the blood sample to determine if there is a proliferation of infectious microorganisms, it is of the utmost importance to prevent the blood sample obtained for the culture from becoming contaminated, as this could falsify the results of the culture. The processing of blood cultures, once the sample arrives at the microbiology laboratory, will depend on the technological facilities that the institution has, and the type of microorganism that is suspected from the clinical point of view, which must be notified to the laboratory by the treating

ORCID: 0000-0002-7267-5619

MD, PhD
Pediatrician-Intensivist
Vicepresident National Academy of Venezuela-Venezuela

team, due to the increase in immunocompromised patients, especially cancer cases. Based on these premises, the Microbiologist will decide on incubation temperatures, frequency, and timing of subcultures and identification and antibiogram tests that allow the most effective and timely therapeutic decision-making. For this reason, it has been considered essential to review and update the optimal procedures so that the main means of detecting them, such as blood cultures, are carried out under optimal conditions and therefore have the provision of standardized work protocols. It is very important to bear in mind that the usefulness of the results decreases markedly if they are not immediately communicated to those responsible for managing the patient so that appropriate decisions can be made based on this information. The media used in blood cultures are polyvalent and nutritionally enriched. Variations in the composition of the same type of medium between different manufacturers make it difficult to make comparisons and draw conclusions about the comparative performance for bacterial growth of each. The interpreted reading of the antibiogram consists of the analysis of the sensitivity pattern to try to predict the resistance mechanisms that could be present in the different bacteria. To perform the interpreted reading of the antibiogram, it is necessary to know the spectrum of antimicrobials, certain pharmacokinetic and pharmacodynamic characteristics, as well as the main mechanisms of resistance to them, thus allowing their use to be optimized with respect to the initial empirical

choice and therapy sequential during the treatment of the different bacteria.

Blood culture is currently still the main diagnostic method for bacteremia, although its practical value is impaired by the delay in obtaining results, and because it is not positive in all patients, its performance is lower in patients receiving antibiotic treatment or if the infection is caused by fungi, by slow-growing bacteria or by those with special requirements. Another key factor is the high proportion of blood cultures contaminated by microorganisms belonging to the skin microbiota; This can lead to diagnostic errors, and inadequate treatments and cause a high economic cost for the health system. The sensitivity of blood cultures is largely related, in addition to the type of microorganism, to the volume of the sample, the time of extraction and the absence of previous antibiotic treatment. The current Complex Humanitarian Emergency that health is experiencing in Venezuela (WHO), the shortage of all kinds suffered by hospitals in Venezuela (National Hospital Survey 2022) that is around 70 % in items such as medicines and up to 80 % in services of Bioanalysis has motivated the realization of this Consensus on Indications, techniques, and interpretation of Blood Cultures, intending to resume good clinical practices in the realization of this essential diagnostic method, such as Blood Culture. We hope that it will serve as a guide for all those health professionals and students of the different branches of Medicine in terms of diagnosing infections.

Sepsis, bacteriemia y fungemia en pediatría. Conceptos actuales

Sepsis, Bacteremia and Fungemia in Pediatrics. Current Concepts

Huníades Urbina-Medina¹, Yolanda América Lupi Acevedo²

RESUMEN

La sepsis es la respuesta desregulada del organismo ante una infección, es una enfermedad compleja y controvertida en cuanto a su clasificación, epidemiología, presentación, diagnóstico y tratamiento. Varios estudios epidemiológicos recientes demuestran que su incidencia aumenta y genera un importante consumo de recursos. La sepsis es una causa frecuente de ingreso en las unidades de terapia intensiva pediátrica que se estima que hasta el 8 % de los ingresos pueden ser debidos a esta causa y que tiene una mortalidad de hasta el 25 %. La bacteriemia se define como la presencia de bacterias en el torrente sanguíneo y fungemia la presencia de hongos en la sangre, y su diagnóstico clínico y bacteriológico es importante en niños, especialmente

en neonatos y menores de 36 meses de edad, estos procesos se asocian a mortalidad elevada, del 10 %-30 % según paciente, origen y manejo inicial. Las fungemias son las micosis invasivas más frecuentes, presentan una alta morbilidad y mortalidad, y se han incrementado debido al aumento de pacientes inmunocomprometidos, sobre todo de los casos oncológicos. La infección fúngica invasiva se considera una infección de tipo oportunista que acontece casi exclusivamente en el paciente inmunodeprimido y en el paciente crítico, comportando una elevada morbimortalidad.

Palabras clave: Sepsis, bacteriemia, fungemia, shock séptico.

SUMMARY

Sepsis is the body's deregulated response to an infection, it is a complex and controversial disease in terms of its classification, epidemiology, presentation, diagnosis, and treatment. Several recent epidemiological studies show that its incidence is increasing and generates a significant consumption of resources. Sepsis is a frequent cause of admission to pediatric intensive care units, it is estimated that up to 8 % of admissions may be due to this cause and that it has a mortality of up to 25 %.

Bacteremia is defined as the presence of bacteria in the bloodstream and fungemia as the presence of fungi in the blood, and its clinical and bacteriological diagnosis is important in children, especially in neonates and those under 36 months of age, these processes are associated with high mortality, 10 %-30 % depending on the patient, origin and initial management. Fungemias are the most common invasive mycoses, present high

DOI: <https://doi.org/10.47307/GMC.2022.130.s4.2>

ORCID: 0000-0002-7267-5619¹

ORCID 0000-0003-1041-6205²

¹Pediatra-Intensivista. Hospital de Niños JM de los Ríos, Caracas, Venezuela. urbinamedina@gmail.com

²Pediatra Neonatólogo. Hospital José María Carabáño Tosta. Ivss, Maracay, Edo. Aragua, Venezuela. yala3@hotmail.com

Autor de correspondencia: Huníades Urbina-Medina, MD, PhD.
Pediatra-Intensivista. Hospital de Niños JM de los Ríos, Caracas-Venezuela. E-mail: urbinamedina@gmail.com.
Tel: +58-412-2340316.

Recibido: 7 de julio 2022

Aceptado: 9 de agosto 2022

morbidity, and mortality, and have increased due to the increase in immunocompromised patients, especially cancer cases. Invasive fungal infection is considered an opportunistic infection that occurs almost exclusively in immunocompromised and critically ill patients, entailing high morbidity and mortality.

Keywords: *Sepsis, bacteremia, fungemia, septic shock.*

Aunque durante mucho tiempo los términos infección y sepsis fueron utilizados en forma alternativa, la tendencia actual es a referir el término infección a un proceso bacteriano dependiente de un germen, mientras que sepsis es el conjunto de reacciones inflamatorias, a veces calamitosas y catastróficas. Hace 26 años, en 1991, en conferencia de consenso, se definió la sepsis en adultos como infección + 2 o más criterios de síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS); la sepsis grave cuando se asocia disfunción orgánica, y shock séptico se definió como hipotensión inducida por sepsis a pesar de resucitación adecuada con fluidos (1,2). Estos criterios fueron revisados en 2001, y si bien se reconocieron deficiencias especialmente por la inespecificidad de los criterios SIRS, no se ofrecieron alternativas novedosas, por lo que se siguieron utilizando. Estas definiciones fueron una aportación importante y permitieron estandarizar tratamientos y crear guías de práctica formada por expertos pediátricos dio a conocer las definiciones pediátricas, que adaptaban la filosofía de las de adultos. Hasta la fecha estos criterios han sido los más ampliamente utilizados (3).

Actualmente, la sepsis se define como una disfunción orgánica que amenaza la vida de un paciente causado por una respuesta no regulada del individuo frente a la infección; se ha diseñado una nueva escala, denominada *quick Sepsis Related Organ Failure Assessment* (qSOFA), que incluye exclusivamente criterios clínicos, por lo que es fácilmente aplicable en cualquier nivel asistencial (no solo en el hospital). Se define shock séptico como el cuadro de sepsis que cursa con alteraciones circulatorias, celulares y del metabolismo lo suficientemente profundas como para aumentar sustancialmente la mortalidad a cifras superiores al 40 % (1-3).

Recientemente se han publicado las definiciones Sepsis-3, se le ha añadido el número

3 para denotar que es la tercera revisión a las definiciones conocidas. El cambio conceptual de lo que conocemos como “sepsis” es el siguiente: se define sepsis como la disfunción orgánica que aparece por la respuesta inflamatoria a una infección, este cambio enfatiza el concepto de “disfunción orgánica”. El concepto “sepsis grave” como definición desaparece. Lo que según criterios de 1991-2001 era “sepsis” ahora es “infección”, y lo que hasta ahora era “sepsis grave” pasa a ser “sepsis”. No se modifica el significado del concepto shock séptico que se mantiene, aunque con algún cambio en su definición (4).

Las definiciones Sepsis-3 (*Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock*) publicadas en 2016 pretenden simplificar el diagnóstico y detectar de forma más rápida al paciente con fallo de órgano, y por lo tanto, con más riesgo de morir, lo que permitirá el tratamiento más rápido posible, que sigue siendo la filosofía de tratamiento óptimo. Se analizaron datos de 148 907 pacientes con infección y se comparó el riesgo de morir utilizando las definiciones de 1991 basadas en SIRS y las definiciones de Sepsis-3 basadas en la disfunción orgánica medida por SOFA (escala de evaluación de fallo orgánico secuencial). La disfunción orgánica se puede medir como un cambio agudo en ≥ 2 puntos en el SOFA score (*Sepsis-related Organ Failure Assessment*), debido a una infección. Estos pacientes tendrían un riesgo de muerte de aproximadamente 10 % y deben beneficiarse de un diagnóstico y tratamiento precoz. Se puede asumir un SOFA inicial de 0 en aquellos pacientes en que no se haya determinado disfunción orgánica previa (4). Los motivos que justifican este cambio son, entre otros: la presencia de un SRIS en un paciente con una infección puede representar simplemente la respuesta del huésped frente a la infección y no necesariamente la presencia de una respuesta inmunológica desregulada. Diferentes estudios han mostrado tanto una baja sensibilidad como especificidad de los criterios SRIS, para predecir morbilidad y mortalidad. Consensos recientes recomiendan definir la actualidad en sepsis y validan la utilidad del scores SOFA adaptado en Pediatría para identificar pacientes con mayor morbimortalidad (4) (Cuadro 1).

Cuadro 1

Score SOFA pediátrico: escala de evaluación de fallo orgánico secuencial

	0	1	2	3	4
Respiratorio					
PaO ₂ /FiO ₂	≥ 400	300-399	200-299	100-199 con soporte respiratorio	> 100 con soporte respiratorio
o SaO ₂ /FiO ₂	≥ 92	264-291	221-264	148-220 con soporte respiratorio	< 148 con soporte respiratorio
Coagulación					
Plaquetas (cél/mm ³)	≥ 150.000	100.000-149.000	50.000-99.000	20.000-49.000	< 20.000
Hepático					
Bilirrubina (mg/dL)	< 1,2	1,2-1,9	2,0-5,9	6,0-11,9	> 12,0
Cardiovascular					
PAM (mmHg) o necesidad de droga vasoactiva (µg/kg/min)	PAM < 1 mes: ≥ 46 1-11 m: ≥ 55 12-23 m: ≥ 60 24-59 m: ≥ 62 60-143 m: ≥ 65 144-216 m: ≥ 67 > 216 m: ≥ 70	PAM < 1 mes: < 46 1-11 m: < 55 12-23 m: < 60 24-59 m: < 62 60-143 m: < 65 144-216 m: < 67 > 216 m: < 70	Necesidad de droga vasoactiva: dopamina ≤ 5 o dobutamina (cualquier dosis)	Necesidad de droga vasoactiva: dopamina 5-15 o adrenalina ≤ 0,1 o noradrenalina ≤ 0,1	Necesidad de droga vasoactiva: dopamina >15 o adrenalina > 0,1 o noradrenalina > 0,1
Neurológico					
Escala de Glasgow	15	13-14	10-12	6-9	< 6
Renal					
Creatinina (mg/dL)					
< 1 mes	< 0,8	0,8-0,9	1,0-1,1	1,2-1,5	≥ 1,6
1-11 m	< 0,5	0,3-0,4	0,5-0,7	0,8-1,1	≥ 1,2
12-23 m	< 0,4	0,4-0,5	0,6-1,0	1,1-1,4	≥ 1,5
24-59 m	< 0,6	0,6-0,8	0,9-1,3	1,6-2,2	≥ 2,3
60-143 m	< 0,7	0,7-1,0	1,1-1,7	1,8-2,5	≥ 2,6
144-216 m	< 1,0	1,0-1,6	1,7-2,8	2,9-4,1	≥ 4,2
> 216 m	< 1,2	1,2-1,9	2,0-3,4	3,5-4,9	≥ 5

El diagnóstico de sepsis depende de parámetros clínicos y analíticos, se deberá establecer la sospecha clínica de sepsis en todo paciente con fiebre y alteración del triángulo de evaluación pediátrica, especialmente si está alterado el lado circulatorio o el de la apariencia. En ellos, deberá realizarse por tanto una aproximación inicial que incluya la sistemática de valoración ABCDE, la secuencia comprende: A (vía aérea), B (respiración), C (circulación), D (estado neurológico) y E (exposición). El objetivo es identificar precozmente la situación clínica de sepsis y comenzar rápidamente con las medidas de estabilización. Entre ellas, por su impacto en el pronóstico, destacan especialmente la fluidoterapia agresiva con bolos de cristaloides a 20 mL/kg, hasta si es necesario 60 mL/kg en la primera hora, y el inicio precoz de antibioterapia empírica. Esta última debe administrarse en la primera hora de atención del paciente, siempre

que sea posible tras la obtención de cultivos, pero su recogida no debe retrasar el inicio del tratamiento. En los shocks refractarios a fluidos, se recomienda en la actualidad como inotropos de primera elección la adrenalina (shock frío) o la noradrenalina (shock caliente), pudiéndose iniciar su infusión por vía periférica hasta disponer de una vía central, de primera elección la adrenalina (shock frío) o la noradrenalina (shock caliente), pudiéndose iniciar su infusión por vía periférica hasta disponer de una vía central (5).

Campaña pediátrica de sobrevivir a la sepsis

Las Directrices internacionales de la campaña *Surviving Sepsis Campaign* (SSC), para el manejo del shock séptico y la disfunción orgánica asociada a la sepsis en niños se publicaron en 2020 y están destinadas para su uso en todos los

entornos globales que atienden a niños con sepsis. Sin embargo, los médicos que tratan a niños con sepsis en entornos de recursos limitados enfrentan varios desafíos y patrones de enfermedad que no experimentan aquellos en entornos ricos en recursos y tienen dificultades de implementar las directrices internacionales y hay una necesidad de enfoques factibles y eficaces para el manejo de la sepsis y el shock séptico que podrían incluirse en futuras pautas específicas del contexto (6).

La prevalencia de sepsis en pacientes de la unidad de cuidados intensivos pediátricos (UCIP) varía significativamente entre regiones, por ejemplo, un estudio demostró una prevalencia relativamente baja del 6,2 % y el 7,7 % en las UCIP de Europa y América del Norte, respectivamente, en comparación con el 15,3 % en Asia, el 16,3 % en América del Sur y el 23,1 % en África. Se está trabajando para establecer programas que ayuden a la prevención, el reconocimiento y diagnóstico tempranos y el manejo clínico oportuno de la sepsis. La reciente *Society of Critical Care Medicine (SCCM)/European Society of Intensive Care Medicine (ESICM) Surviving Sepsis Campaign International Guidelines for the Management of Septic Shock and Sepsis-associated Organ Dysfunction in Children (SSG)* tiene como objetivo proporcionar dicha orientación a través de una serie de declaraciones de recomendación basadas en la evidencia y están destinadas a aplicarse a todos los pacientes en todo el mundo con sepsis grave desde las 37 semanas de edad gestacional al nacer hasta los 18 años de edad, excluyendo ciertas consideraciones de manejo para la sepsis neonatal (5,6).

En muchos centros de limitados recursos, a menudo con una cantidad reducida de personal y una capacitación mínima en cuidados intensivos, las recomendaciones claras y alcanzables podrían salvar vidas. Sin embargo, existe evidencia limitada específica disponible para informar el cuidado de un niño gravemente enfermo con sepsis. Además, las dificultades que existen en el acceso a la atención médica y la prestación de la atención, el patrón de la enfermedad y la disponibilidad de recursos afectan la capacidad del proveedor para implementar las pautas en países de limitados recursos (6).

La sangre es un medio estéril y bacteriemia se define como la presencia de bacterias

viabiles (incluyendo fungemia y polibacterias), es un concepto de laboratorio y puede ser demostrado por medio de aislamiento de éstas en un hemocultivo, puede o no ser clínicamente significativa, aunque puede permitir a un microorganismo implantarse en un órgano distinto a la puerta de entrada, ej. Tras una bacteriemia un germen puede ir a una válvula con lesión endotelial y producir endocarditis. Si progresa supone una respuesta inflamatoria generalizada de origen infeccioso (7).

El aislamiento en sangre puede ser sólo una contaminación a partir de la piel o la presencia transitoria en sangre debido a la manipulación de una mucosa o por inoculación directa por un foco primario o por fallas en las defensas del huésped o fallas del tratamiento médico en remover, drenar o esterilizar un foco infeccioso produciéndose una bacteriemia clínicamente significativa (8).

Se habla de pseudobacteriemia cuando uno o más hemocultivos se contaminan en forma intrínseca o extrínseca y hay aislamiento de un microorganismo (considerado contaminante) de la sangre de un paciente sin signos clínicos. Se considera bacteriemia verdadera cuando es basada en múltiples factores: el examen físico (temperatura corporal, taquicardia, taquipnea) datos de laboratorio (recuento de leucocitos, fórmula leucocitaria), los resultados microbiológicos de hemocultivos positivos y los resultados de cultivos de otros sitios de infección, todo útil para evaluar la enfermedad y su valor pronóstico; por ejemplo, las neumonías de la comunidad que cursan con bacteriemia tienen mayor índice de mortalidad que las que no son bacteriémicas. La bacteriemia se produce en los estadios tempranos de infecciones sistémicas y en algunas infecciones localizadas, de las sistémicas el 50 %-80 % en meningitis, el 20 %-50 % en artritis sépticas, el 50 %-70 % en peritonitis bacteriana espontánea, el 60 % en mediastinitis y el 20 %-30 % en peritonitis secundaria y de las neumonías extrahospitalarias por *S. pneumoniae* (9).

Puede haber bacteriemia transitoria y es el tiempo que las bacterias permanecen en el torrente sanguíneo; es breve, dura horas y no se repite, generalmente se produce por la manipulación mecánica o quirúrgica de tejidos o de infecciones sistémicas o localizadas; después

de actividades de rutina diaria, como cepillado de los dientes y al inicio de la infección bacteriana aguda como neumonía, meningitis, artritis séptica y osteomielitis hematológica aguda (10). La bacteriemia intermitente consiste en presencia de bacterias en la sangre durante distintos períodos de tiempo intercalados con períodos sin bacteriemia y generalmente traducen la presencia de una infección localizada en espacios cerrados no drenados, como los abscesos e infecciones locales como neumonía u osteomielitis.

En la bacteriemia persistente o continua existen bacterias en la sangre de forma continua, se observa en infecciones intravasculares como la endocarditis infecciosa, tromboflebitis séptica, aneurismas micóticos o dispositivos intravasculares infectados, en la fase precoz de algunas zoonosis como en la brucelosis o la fiebre tifoidea.

La clasificación según el origen, pueden ser primarias o de origen desconocido cuando no identifica un foco determinado y secundarias cuando están relacionadas con un foco infección conocido, en piel, tracto respiratorio, digestivo o urinario, sistema nervioso central y documentada microbiológicamente con el mismo organismo aislado en hemocultivo (11). A pesar de todos los esfuerzos para localizar el origen de la bacteriemia, un tercio de los episodios son de origen desconocido.

Según el número de especies diferentes presentes en sangre pueden ser monomicrobianas cuando es causada por un solo microorganismo y es lo más frecuente o polimicrobianas cuando existe más de un microorganismo involucrado en su etiología. Por último, también se han clasificado las bacteriemias atendiendo al tipo de adquisición de la infección comunitaria o nosocomial. Comunitaria cuando ocurre al ingreso o en las primeras 48 horas de hospitalización y no está relacionada con ningún procedimiento instrumental médico y nosocomiales como las infecciones adquiridas en el hospital por un paciente internado por una razón distinta a ellas, que no estaban en período de incubación ni con manifestaciones clínicas al momento del ingreso (12).

El concepto bacteriemia de brecha o intercurrente se produce a pesar de que el paciente esté recibiendo un tratamiento antibiótico

activo tras hemocultivos de control previos negativos. Cuando ocurre precozmente, suele estar en relación con dosis inadecuadas del antimicrobiano, mientras que las formas tardías generalmente están motivadas por drenaje inadecuado o mal control del foco de infección, focos secundarios, un deterioro de las defensas del huésped o desarrollo de resistencia al antibiótico empleado (4,13).

Fisiopatología

El acceso de los microorganismos al torrente circulatorio, generalmente proviene de un foco infeccioso, en otros casos de la flora endógena sin que medie ningún proceso infeccioso, o bien ser inoculados desde el exterior. Una vez los microorganismos en el torrente circulatorio se enfrentan al sistema inmunológico, desencadenan una respuesta inmune generalizada que se traduce en una gran variedad de síntomas entre los que se encuentran fiebre, escalofríos, hipotensión, hipotermia, diaforesis, alteración del nivel de conciencia, taquipnea, taquicardia, hiperventilación, disminución del tono vascular, y la posibilidad de disfunción orgánica. Los hallazgos hematológicos incluyen neutrofilia, leucocitosis, trombocitopenia, granulocitosis tóxica de neutrófilos, o coagulación intravascular diseminada (CID). Otros hallazgos metabólicos incluyen alcalosis respiratoria; alteraciones renales como necrosis tubular aguda, oliguria o anuria; alteraciones gastrointestinales como sangrado digestivo alto, aumento de transaminasas o hipoglucemia. En el caso de las bacteriemias, en la mayoría de las ocasiones, esta respuesta inmunológica se va a manifestar en forma de sepsis o shock séptico. Avances recientes en la biología molecular han permitido identificar los mecanismos íntimos por los cuales los componentes bacterianos interactúan con el sistema inmune innato para activar la respuesta inflamatoria. La reciente identificación de la familia de los Toll-Like receptors (TLR), receptores de membrana que interactúan con agentes tan diversos como endotoxina, peptidoglicanos, detritus celulares y ADN vírico, explican la capacidad del huésped de responder ante cualquier estímulo identificado como no propio (14).

Etiología

En neonatos se encuentran las bacterias procedentes del canal del parto por transmisión vertical (TV), como *estreptococo del grupo B* (SGB) o *S. agalactiae*, *E. coli*, *enterococos* y *L. monocytogenes*. Actualmente *E. coli* es la bacteria más frecuentemente aislada en sangre (60 %) y orina (87 %), SGB se mantiene como el más frecuentemente aislado en líquido céfaloraquídeo (LCR), causando cuadros de meningitis (39 %), focos no meníngeos (10 %) y sepsis precoz (7 %). *Enterococos* y *neumococo* son causas muy raras, pero graves; una neumonía neumocócica a esta edad presenta una tasa de mortalidad del 14 % (15).

En lactantes de 1-3 meses la prevalencia de IBG es del 9 %-14 %. *E. coli* es la bacteria aislada con más frecuencia, en descenso el SGB y muy rara la *Listeria*. La ITU es la IBG más frecuente (75 %-84 %), producida principalmente por *E. coli*, seguida de la bacteriemia oculta (6 %-13 %), producida por *E. coli* (42 %), SGB (23 %) y *neumococo* (6 %).

Lactantes y niños de 3-36 meses La introducción de las vacunas, como la conjugada *Haemophilus influenzae b* (Hib) de manera sistemática (España en 1997) y, posteriormente, las antineumocócicas conjugadas (PCV) 7, 10 y 13-valentes han modificado el panorama actual: la bacteriemia por Hib ha desaparecido virtualmente en vacunados y, en cuanto al *neumococo*, aunque sigue siendo el más aislado en bacteriemias, el número relativo y absoluto de episodios causados ha disminuido considerablemente (11).

El manejo tiende a diferenciarse en base al estado de vacunación. Además, el meningococo presenta una tendencia decreciente como responsable de Bacteriemia Oculta (BO) y secundariamente, sepsis y meningitis por meningococo, alcanzando en este momento el mínimo histórico en décadas, debido en parte a las vacunas antimeningocócicas -C y B- pero también a otros factores dependientes del germen. La Sociedad de Enfermedades Infecciosas de América, han comenzado a referirse a un grupo de patógenos nosocomiales como “patógenos ESKAPE” acrónimo del grupo de bacterias, que engloba tanto especies Gram-positivas como Gram-negativas, formado por *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus*

aureus, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y especies de *Enterobacter*. Estas bacterias son causas comunes de infecciones nosocomiales que ponen en peligro la vida (11).

Diagnóstico microbiológico

Actualmente, las definiciones epidemiológicas afirman que un hemocultivo es suficiente para determinar las infecciones en el torrente sanguíneo, excepto que se trate de microorganismos contaminantes de piel en el que se piden dos hemocultivos. En pediatría, tener un volumen adecuado para la muestra de hemocultivo es fundamental, además del momento y selección del frasco.

No está particularmente claro por qué los hemocultivos de bajo volumen son más propensos a producir contaminantes; una teoría es que la adquisición de contaminantes es independiente del volumen de sangre y, más bien, la recolección de un mayor volumen de sangre diluye la concentración del contaminante presente en el frasco de hemocultivo, lo que reduce la posibilidad de detección durante el período de incubación (12).

Tratamiento

Uso de antibiótico (empíricamente, para seleccionar los pacientes en espera de los resultados del cultivo, así como para aquellos pacientes con cultivos positivos), antipiréticos para el malestar, hidratación adecuada (debido al aumento de las pérdidas con fiebre y posible anorexia); la gestión varía según la edad y otros factores clínicos. En forma independiente de la edad, todos los niños vuelven a ser evaluados a las 24-48 h, aquellos con fiebre persistente, o hemocultivo o urocultivo positivos que ya han sido tratados, se realizan más cultivos y son hospitalizados para investigar posible sepsis y administrar antibioticoterapia parenteral. Si se encuentran nuevos signos de infección focal en un nuevo examen, la evaluación y el tratamiento se basan en los hallazgos. Niños de 3 a 36 meses, no se administran antibióticos a menos que los cultivos sean positivos. Los niños que impresionan sanos pueden recibir antibióticos para la infección urinaria pediátrica por vía oral

en forma ambulatoria; los que impresionan más enfermos pueden requerir hospitalización para recibir antibióticos por vía parenteral (13,15).

Niños < 3 meses de edad se minimiza el uso de antibióticos en la mayoría de los lactantes febriles que no tienen altas probabilidades de presentar una infección bacteriana grave y administra antibióticos rápidamente a los pocos que si los necesitan. Es de destacar que algunas autoridades prefieren hospitalizar a todos los lactantes febriles < 1 mes de edad, hacer una evaluación completa con hemocultivo, urocultivo y cultivo del líquido cefalorraquídeo, y dar antibióticos por vía parenteral en espera de los resultados del cultivo porque los niños febriles < 1 mes de edad son el grupo con mayor incidencia de infecciones bacterianas graves (16).

Las fungemias son las micosis invasivas más frecuentes, presentan una alta morbilidad y mortalidad, y se han incrementado debido al aumento de pacientes inmunocomprometidos, sobre todo de los casos oncológicos. Las fungemias varían según determinadas características demográficas (edad, sexo y región geográfica) y clínicas. La etiología de las fungemias es variada y comprende tanto a hongos filamentosos como a hongos levaduriformes, predominando estos últimos. Aunque *Candida albicans* (*C. albicans*) ha sido por mucho tiempo la especie más aislada, otras especies de *Candida* y otras levaduras diferentes de *Candida* parecen emerger y desplazar a *C. albicans* (5,6). Además, estos patógenos presentan diversos perfiles de sensibilidad a los antifúngicos (7). Por lo tanto, la epidemiología y etiología asociadas tienen implicancias en el manejo terapéutico y en el desenlace de las fungemias (17-21).

El aumento de la población de adultos mayores, pacientes oncológicos, con trasplante e inmunocomprometidos, implica un crecimiento significativo de la población en riesgo para el desarrollo de complicaciones infecciosas, entre ellas la candidemia, cuya incidencia aumenta de manera notoria en la población críticamente enferma. Hasta el 85 % de las infecciones fúngicas en las unidades de cuidados intensivos corresponde a infecciones por *Candida* spp. (1) y su mortalidad es cercana al 40 % (22,23).

La infección fúngica invasiva se considera una infección de tipo oportunista que acontece casi

exclusivamente en el paciente inmunodeprimido y en el paciente crítico, comportando una elevada morbimortalidad. Incremento en su incidencia y extensión a nuevos grupos de riesgo, ligado al avance en el tratamiento de determinadas patologías. • Diagnóstico más precoz gracias a nuevos procedimientos. • Desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas basadas sobre todo en nuevos fármacos antifúngicos, más eficaces y mejor tolerados.

Existen dos grupos de técnicas diagnósticas en el laboratorio de micología, las convencionales (examen directo y cultivo) y las no convencionales (detección de antígenos, detección de anticuerpos y técnicas de amplificación genética) (18,19,24).

Examen directo

Se trata de una técnica rápida que permite la visualización de levaduras capsuladas o no, y de estructuras fúngicas de hongos filamentosos mediante diversas técnicas de tinción: Gram, blanco de calcoflúor, tinción argéntica, tinta china y otras.

Cultivo

Sigue siendo una técnica insustituible ante la sospecha clínica de infección fúngica. A pesar de que la sensibilidad del mismo puede no superar el 50 %, el crecimiento del hongo en muestras obtenidas de territorios *a priori* estériles es, actualmente, la única forma de obtener el diagnóstico etiológico de una infección fúngica probada y además permite estudiar su sensibilidad.

Antígeno de Galactomanano: el galactomanano (GM) es un antígeno de la pared de *Aspergillus* spp, *Penicillium* spp, *Paecilomyces* spp y, en menor medida, de otra gran variedad de hongos. Tiene interés en el diagnóstico de la aspergilosis ya que, al ser liberado al torrente sanguíneo, constituye un indicador indirecto de enfermedad invasiva por *Aspergillus* spp (17).

La sensibilidad de la técnica depende de muchos factores, pero en la población de riesgo (pacientes oncohematológicos neutropénicos) es superior al 90 % (18,19). En cuanto a la

especificidad, algunos autores han alertado sobre un elevado número de falsos positivos en pacientes pediátricos, en relación con determinadas dietas alimentarias o por translocación de *Bifidobacterium* spp debido a inmadurez del tubo digestivo en neonatos (25).

Antígeno de Glucano: El, β -D-3-glucano es un componente de la pared celular de una amplia variedad de hongos (*Aspergillus* spp, *Fusarium* spp, *Trichosporon* spp, *Candida* spp y *Pneumocystis* spp, estando ausente en los hongos mucorales. Su sensibilidad y especificidad varían según los estudios, siendo superior al 90 % cuando se valoran dos determinaciones consecutivas. Su limitación principal es su incapacidad para distinguir entre cuadros de tan diferente manejo como una fusariosis y una candidiasis (26).

Antígeno de manano: es un antígeno de la pared celular de *C. albicans* y en menor medida *C. tropicalis* y *C. glabrata*. Su detección ayuda al diagnóstico de la enfermedad invasora por *Candida*, con una sensibilidad del 40 %. La detección combinada de anticuerpos anti-manano aumenta la sensibilidad al 80 %, con una especificidad > 90 %. Son técnicas muy laboriosas, de difícil interpretación y, por tanto, poco utilizadas actualmente (27).

Técnicas genéticas

Las técnicas de detección y amplificación de ácidos nucleicos (PCR) resultan, hoy en día, prometedoras. La capacidad de detectar cantidades mínimas de DNA fúngico, independientemente de la viabilidad del microorganismo para crecer en cultivo, ofrece idealmente, las muestras sobre las que se aplican estas técnicas deberían provenir de un territorio estéril, donde el hongo diana no forme parte de la flora comensal normal. En la actualidad aún no existen técnicas estandarizadas, automatizadas y reproducibles, por lo que se utilizan técnicas caseras, cuya sensibilidad y especificidad dependen de cada estandarización (28).

En nuestro entorno existen numerosas especies fúngicas oportunistas que pueden colonizar e infectar al paciente inmunológicamente deprimido. Las principales IFI oportunistas, dejando a un lado la infección por *Pneumocystis*

jiroveci, son las siguientes:

- Candidiasis invasiva.
- Aspergilosis invasiva.
- Zygomycosis o mucormycosis.
- Fusariosis.
- Infección por *Scedosporium* sp.
- Infección por hongos negros.

Candidiasis invasiva

La candidiasis, es decir, la infección producida por las levaduras del género *Candida*, comprende un espectro clínico que abarca infecciones superficiales y diseminadas que afectan cualquier órgano o sistema. La candidiasis invasiva ocurre cuando las levaduras del género *Candida* alcanzan el torrente sanguíneo, desde donde pueden diseminarse a cualquier tejido de la anatomía humana. La candidiasis invasiva incluye un amplio espectro: candidemia con endoftalmitis o sin ella, infecciones hematógenas diseminadas, compromiso de un órgano (infecciones abdominales, peritonitis, meningitis y endocarditis) y candidiasis hepatoesplénica, principalmente en pacientes con enfermedad hematológica (29).

Las levaduras del género *Cándida* son comensales humanos ubicuos, que pueden causar infección oportunista en cualquier localización del organismo. La candidiasis invasiva engloba dos entidades distintas, la candidemia o invasión limitada al torrente circulatorio y la candidiasis diseminada o infección multiorgánica. La candidemia constituye la 3ª causa de infección del torrente circulatorio en la infección nosocomial (IN) y la 4ª de todas las infecciones. También es la IFI más frecuente en el paciente crítico no-neutropénico, habiendo sufrido un incremento muy notable en los últimos 20 años. Su incidencia en lactantes es de 38/1 000 000 hab. La especie más frecuente es *Candida albicans* (40%- 60 %), existiendo en la actualidad un incremento en la incidencia de otras especies: 23 % *C. parapsilosis*, 10 % *C. tropicalis*, 9 % *C. glabrata*, 4 % *C. krusei*. La mortalidad global es elevada, llegando a cifras del 44 % a los 30 días en determinadas series que incluyen pacientes pediátricos (30-32).

Los factores de riesgo de la candidiasis invasiva son: colonización previa, antibióticos de amplio espectro > 5 d, catéter venoso central, nutrición parenteral, ventilación mecánica > 48h, paciente sometido a UCI, inmunosupresión, corticoterapia, neutropenia, cáncer, cirugía abdominal mayor, pancreatitis aguda, diabetes mellitus (33).

Diagnóstico: se basa en la sospecha clínica (presentación clínica, pruebas de imagen) y el cultivo (sangre, fluidos estériles y muestras tisulares) y también en las pruebas de detección molecular (PCR). En ausencia de hemocultivo positivo, la diferenciación entre contaminación, colonización e infección puede ser difícil. El diagnóstico se basa en la comprobación mediante métodos microbiológicos, examen directo, histopatología, cultivo de sitios estériles (que requieren procedimientos invasivos) o mediante pruebas serológicas para anticuerpos y antígenos, y moleculares para detectar el ADN de *Candida* spp (34).

Los hemocultivos continúan siendo la piedra angular del diagnóstico, sin embargo, su sensibilidad es poca (30 % a 50 %) y requieren largos períodos de incubación (28). Los nuevos métodos de cultivo tienen mayor capacidad de detección de *Candida* spp. (70 %), pero requieren mínimo de 24 a 48 horas para mostrar positividad, por lo que el resultado puede ser tardío (35).

Tratamiento: la candidemia y la candidiasis diseminada constituyen infecciones graves, que por supuesto deben tratarse siempre. Existen situaciones y condiciones que deben valorarse a la hora de elegir el tratamiento empírico, como son: Epidemiología del servicio: brotes de determinadas especies resistentes. –Condiciones del paciente: situación hemodinámica, patología de base, disfunción hepática o renal, infecciones y/o colonizaciones previas, profilaxis antifúngica, otros fármacos concomitantes y sus interacciones. – Patrones de sensibilidad de *Candida* spp (36).

Tratamiento de la candidiasis focal y de la candidiasis invasiva diseminada

Hay diferentes antifúngicos disponibles para el tratamiento de la candidiasis (anfotericina B, flucitosina, azoles), sin embargo, con este grupo de medicamentos se han documentado

efectos adversos importantes debidos a su toxicidad o a las interacciones farmacológicas. Más recientemente, se han incorporado las equinocandinas (anidulafungina, caspofungina y micafungina), fungicidas que tienen un amplio espectro de acción con mayores tasas de éxito clínico y son bien tolerados (37).

La candidiasis focal (esofagitis, vulvovaginitis, candiduria) basa su tratamiento en el uso de fluconazol (excepto para las especies resistentes al mismo), en un régimen más o menos prolongado, según la localización y gravedad de la infección. En cuanto a la candidiasis invasiva diseminada, constituye un cuadro grave que afecta casi exclusivamente al paciente neutropénico, y en el que el síndrome de reconstitución inmunológica juega un papel importante. El tratamiento inicial debe basarse en las mismas recomendaciones realizadas para el tratamiento de la candidemia, requiriendo en algunos casos biterapia y un tratamiento de mantenimiento muy prolongado, en general no inferior a los 12 meses y basado en fluconazol (37).

El protocolo y las guías de manejo privilegian el uso de las equinocandinas (anidulafungina, micafungina y caspofungina), sin que se haya documentado una mayor efectividad de una sobre las otras y con diferencias importantes en la farmacocinética (40). Se destaca que la anidulafungina tiene un menor riesgo de interacciones farmacológicas. El tratamiento se debe adecuar según los patrones de sensibilidad obtenidos con los cultivos (37).

Las guías europeas de manejo recomiendan las equinocandinas como primera línea de tratamiento de la candidemia en pacientes sin neutropenia y plantean que hay menos datos en favor del fluconazol. Estas guías destacan el bajo riesgo de interacciones de la anidulafungina comparada con la caspofungina. Se ha observado que las equinocandinas tienen efecto sobre las especies de *Candida* en biopelículas, lo cual podría tener un impacto en el tratamiento de las infecciones relacionadas con dispositivos o con la endocarditis (35,38).

Aspergilosis invasiva (AI)

Aspergillus spp. es un hongo filamentoso de distribución universal, presente en el suelo,

aire, agua, plantas y materia orgánica en descomposición. Se conocen unas 900 especies, de las cuales sólo 12 se relacionan con enfermedad humana. Las más frecuentes son *A. fumigatus* (85 %), *A. flavus* (5-10 %), *A. niger* (2-3 %) y *A. terreus* (2 %-3 %). La infección se produce como consecuencia de la inhalación de esporas contenidas en el aire por lo que la enfermedad afecta muy frecuentemente a pulmones y senos paranasales. Tienen una gran tendencia a invadir los vasos sanguíneos ocasionando trombosis y necrosis isquémica con la consecuente formación de cavidades. Los pacientes con mayor riesgo de AI son los pacientes con leucemia aguda mieloblástica y los receptores de trasplantes de progenitores hematopoyéticos (TPH) y de órgano sólido (TOS). Los principales factores de riesgo son la neutropenia grave (< 500 neutrófilos/mm³) y prolongada (> 10 días), la disfunción cualitativa grave de los neutrófilos (enfermedad granulomatosa crónica) y el déficit de inmunidad celular en pacientes que requieren tratamientos inmunosupresores intensos (corticoides, inmunoglobulinas antilinfocíticas, anti-TNF, fludarabina, alemtuzumab) (39).

La presentación clínica más frecuente es la pulmonar. Los síntomas iniciales son muy inespecíficos: fiebre, tos, crepitantes, dolor pleurítico. Más tardíamente, y muchas veces coincidiendo con la recuperación de los neutrófilos, los pacientes pueden presentar hemoptisis. Otras formas clínicas de aspergilosis invasiva son la afectación rinosinusal y orbitaria, cerebral, cutánea y de tejidos blandos (celular subcutáneo, fascia, músculo e incluso hueso) y formas diseminadas con afectación pulmonar, cerebral, cardíaca, renal, esplénica y gastrointestinal (39,40).

El diagnóstico es difícil y actualmente se basa en los cultivos, el antígeno de galactomanano (GM), las pruebas de imagen y la histología. El hemocultivo y el lavado broncoalveolar (LBA) tienen escaso rendimiento, siendo la sensibilidad de este último de sólo el 50 %. La aparición de imágenes en la radiografía de tórax es tardía e inespecífica. La TAC torácica de alta resolución es más precoz y aunque tampoco es específica pone de manifiesto algunos signos muy sugestivos de IFI. Su uso sistemático ha permitido conocer el patrón evolutivo de estas infecciones: al diagnóstico de la infección, más del 95 % de los

pacientes presentan el “signo del halo” alrededor de la imagen de condensación y 2 semanas más tarde coincidiendo con la recuperación de los neutrófilos en más del 65 % de los casos se observa cavitación de la lesión (39,40).

El éxito del tratamiento depende de establecer un diagnóstico precoz y de la capacidad de revertir los factores de riesgo. El tratamiento antifúngico debe iniciarse lo más precozmente posible. Voriconazol ha demostrado mayor eficacia que anfotericina B en el tratamiento de la AI, por lo que actualmente es el tratamiento de elección (41).

En casos de AI grave se considera la biterapia, la asociación de Voriconazol y Caspofungina fue más eficaz que voriconazol en monoterapia para casos muy avanzados. Debe considerarse la exéresis quirúrgica en caso de lesiones cavitadas únicas, sinusitis, endoftalmítis, abscesos en SNC, endocarditis y otras lesiones abordables (41).

Zygomycosis

Se trata de una infección fúngica emergente entre la población inmunodeprimida. La zygomycosis (mucormycosis) está producida casi siempre por mohos de la familia de los Mucorales cuyos miembros más frecuentes son *Rhizopus*, *Mucor*, *Absidia*, *Rhizomucor* y *Apophysomyces*. Adquirida por la inhalación de esporas, por la ingestión de alimentos contaminados o por inoculación directa en zonas de traumatismos o a través de catéteres vasculares. La zygomycosis en el niño se origina al igual que en el adulto en situaciones de inmunodepresión como neutropenia, trasplantados de órganos sólidos, trasplantados de médula ósea, quemados, y tratamiento con deferoxamina como quelante de Hierro (42).

La forma de presentación más frecuente es la rinocerebral seguida de pulmonar, gastrointestinal, cutánea y diseminada. El diagnóstico es dificultoso ya que el aislamiento puede ser interpretado como contaminación. Consiste en el empleo de antifúngicos con espectro para estos hongos: anfotericina liposomal a dosis altas y posaconazol. Suele requerirse también tratamiento coadyuvante quirúrgico que consiste en la resección de la zona infectada (42).

Hongos filamentosos emergentes

En los últimos quince años, se han comunicado infecciones debidas a hongos anteriormente raros en patología humana que han adquirido creciente interés como causantes de infección invasora en pacientes inmunodeprimidos por su mayor resistencia a los antifúngicos disponibles. Fundamentalmente se trata de las especies de los géneros *Fusarium*, *Scedosporium* y otros dematiáceos (42).

CONCLUSIONES

Consensos recientes recomiendan definir en la actualidad la sepsis en adultos como una disfunción orgánica grave, causada por una respuesta mal regulada a una infección.

Dicha disfunción orgánica debe ser valorada mediante scores al efecto. Existen estudios que han validado la utilidad de alguno de estos scores en pediatría para identificar pacientes con mayor morbimortalidad, como el SOFA adaptado a pediatría.

La bacteriemia se define como la presencia de bacterias en el torrente sanguíneo y fungemia la presencia de hongos en la sangre, y su diagnóstico clínico y bacteriológico es importante en niños, especialmente en neonatos y menores de 36 meses de edad.

El objetivo es identificar precozmente la situación clínica de sepsis y comenzar rápidamente con las medidas de estabilización

REFERENCIAS

1. Merlán Martínez M, Ferrer Aguilar E, González Morel M. Relación entre el diagnóstico precoz y la mortalidad por sepsis: nuevos conceptos. *Medicentro Electrónica*. 2021;25(2):265-290.
2. Torné E. Revisión de las nuevas definiciones sobre la sepsis y su aplicación en Pediatría. *Rev Esp Pediatr*. 2017;73(Supl 1):21-22.
3. Levy M, Fink M, Marshall J, Abraham E, Angus D, Cook D, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med*. 2003;31:1250-1256.
4. Singer M, Deutschman C, Seymour C, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Consensus, Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016;315:801-810.
5. Gómez Cortés B. Sepsis. *Protocolos Diagnósticos y Terapéuticos en Urgencias de Pediatría*. Sociedad Española de Urgencias en Pediatría, SEUP. 3ª edición, 2019;1:153-166.
6. Wooldridge G, O'Brien N, Muttalib F, Abbas Q, Appiah J, Baker T, et al. Challenges of implementing the Paediatric Surviving Sepsis Campaign International Guidelines 2020 in resource-limited settings: A real-world view beyond the academia. *Andes Pediatr*. 2021;92(6):954-962.
7. Fariñas M, Ballesteros A, Miñambres F, Saravia G. Sepsis y Shock Séptico. En *Enfermedades Infecciosas*, tema 27. *Medicine*. 2010;10(49):186-196.
8. Bone R, Balk R, Cerra F, Dellinger R, Fein A, Knaus W, et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Chest*. 1992;101:1656-1662.
9. Rodríguez-Baño J, De Cueto M, Retamar P, Gálvez-Acebal J. Current management of bloodstream infections. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2010;8(7):815-829.
10. Friedman ND, Kaye KS, Stout JE, McGarry SA, Trivette SL, Briggs JP, et al. Health Care-Associated Bloodstream Infections in Adults: A Reason to Change the Accepted Definition of Community-Acquired Infections. *Ann Intern Med*. 2002;137(10):791.
11. Ortiz Leyba C, Garnacho Monteroa J. Conocimientos actuales en la fisiopatología de la sepsis. *Med Intensiva*. 2005;29(3):135-141.
12. de la Torre M, de Lucas N, Velasco R, Gómez B, Mintegi S. Etiología y evolución de las infecciones posiblemente graves en lactantes menores de 3 meses febriles. *An Ped*. 2017;87(1):42-49.
13. Santajit S, Indrawattana N. Mechanisms of antimicrobial resistance in ESKAPE. *Pathogens BioMed Res Internat*. 2016;ID 2475067.
14. Moya M, Couble B, Piñera C, Suau T, Fritis A, Roa C, et al. Utilidad de los parámetros clínicos y de laboratorio básicos para predecir infección bacteriana seria en menores de 3 meses que se hospitalizan por síndrome febril sin foco. *Rev Chil Pediatr*. 2020;91(2):199-208.
15. Dien Bard J, TeKippe E. Diagnosis of Bloodstream Infections in Children. *J Clin Microbiol*. 2016;54(6):1418-1424
16. Weinberg GA. Bacteriemia oculta y fiebre sin foco aparente en lactantes y niños pequeños. 2021. Disponible en: <https://www.msmanuals.com/es/profesional/pediatr%C3%ADa/otras-infecciones-bacterianas-en-lactantes-y-ni%C3%BLos/>

- bacteriemia-oculta-y-fiebre-sin-foco-aparente-en-lactantes-y-ni%C3 %B los-peque%C3 %B los
17. Villanueva F, Veliz J, Canasa K, Bellido E, Martell S, Ortega S, et al. Características de las fungemias en un centro de referencia del Perú: análisis retrospectivo de cinco años. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2020;37(2):276-281.
 18. Paiva J, Pereira J, Tabah A, Mikstacki A, de Carvalho F, Koulenti D, et al. Characteristics and risk factors for 28-day mortality of hospital acquired fungemias in ICUs: data from the EUROBACT study. *Critical Care*. 2016;20(1):53.
 19. Cornely O, Gachot B, Akan H, Bassetti M, Uzun O, Kibbler C, et al. Epidemiology and outcome of fungemia in a cancer Cohort of the Infectious Diseases Group (IDG) of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC 65031). *Clin Infect Dis*. 2015;61(3):324-331.
 20. Gaona-Flores V, Campos-Navarro L, Cervantes-Tovar R, Alcalá-Martínez E. The epidemiology of fungemia in an infectious diseases' hospital in Mexico City: A 10-year retrospective review. *Med Mycol*. 2016;54(6):600-604.
 21. Dong D, Li Z, Zhang L, Jiang C, Mao E, Wang X, et al. Clinical and microbiological investigation of fungemia from four hospitals in China. *Mycopathologia*. 2015;179(5-6):407-414.
 22. Cortés J, Ruiz J, Melgarejo-Moreno L, Lemos E. Candidemia en Colombia. *Biomédica*. 2020;40:195-207.
 23. Nucci M, Thompson-Moya L, Guzmán-Blanco M, Tiraboschi IN, Cortés JA, Echevarría J, et al. Recommendations for the management of candidemia in adults in Latin America. *Latin America Invasive Mycosis Network*. *Rev Iberoam Micol*. 2013;30:179-88.
 24. Figueras Nadal C, Díaz de Heredia R, Navarro Gómez M, Roselló Mayans E, Álvez González F. Infección fúngica invasiva (IFI): actualización Protocolos diagnóstico-terapéuticos de la AEP: Infectología pediátrica. DOI: 10.1016/j.anpedi.2010.12.012.
 25. Mennink-Kersten MA, Ruegebrink M, Klont R, Warris A, Gavini F, Op den Camp H, Verweij P. Bifidobacterial lipoglycan as a new cause for false-positive platelia *Aspergillus* enzyme-linked immunosorbent assay reactivity. *J Clin Microbiol*. 2005;43(8):3925-3931.
 26. Odabasi Z, Mattiuzzi G, Estey E, Kantarjian H, Saeki F, Ridge RJ, et al. Beta-Dglucan as a diagnostic adjunct for invasive fungal infections: Validation, cutoff development, and performance in patients. with acute myelogenous leukemia and myelodysplastic syndrome. *Clin Infect Dis*. 2004;39(2):199-205.
 27. Prella M, Bille J, Pugnale M, Duvoisin B, Cavassini M, Calandra T, et al. Early diagnosis of invasive candidiasis with mannan antigenemia and antimannan antibodies. *Diag Microbiol Infect Dis*. 2005;51(2):95-101.
 28. Bretagne S, Costa JM. Towards a molecular diagnosis of invasive aspergillosis and disseminated candidosis. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2005;45(3):361-368.
 29. Paramythiotou E, Frantzeskaki F, Flevari A, Armaganidis A, Dimopoulos G. Invasive fungal infections in the ICU: How to approach, how to treat. *Molecules*. 2014;19:1085-1119.
 30. Almirante B, Rodríguez D, Park BJ, Cuenca- Estrella M, Planes AM, Almela M, et al., the Barcelona Candidemia Project Study Group. Epidemiology and predictors of mortality in cases of *Candida* bloodstream infection: results from population-based surveillance, Barcelona, Spain, from 2002 to 2003. *J Clin Microbiol*. 2005;43:1829-1835.
 31. Nucci M, Queiroz-Telles F, Alvarado-Matute T, Tiraboschi IN, Cortés J, Zurita J, et al. Epidemiology of candidemia in Latin America: A laboratory-based survey. *PLoS One*. 2013;8:e59373.
 32. Berrío I, Maldonado N, De Bedout C, Arango K, Cano LE, Valencia Y, et al. Comparative study of *Candida* spp. isolates: Identification and echinocandin susceptibility in isolates obtained from blood cultures in 15 hospitals in Medellín, Colombia. *J Glob Antimicrob Resist*. 2018;13:254-260.
 33. Fraser VJ, Jones M, Dunkel J, Storfer S, Medoff G, Dunagan WC. Candidemia in a tertiary care hospital: Epidemiology, risk factors, and predictors of mortality. *Clin Infect Dis*. 1992;15:414-421.
 34. De Bedout C, Gómez B. *Candida* y candidiasis invasora: un reto continuo para su diagnóstico temprano. *Infectio*. 2010;14:s159-171.
 35. Cornely OA, Bassetti M, Calandra T, Garbino J, Kullberg BJ, Lortholary O, et al. ESCMID* guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: Non-neutropenic adult patients. *Clin Microbiol Infect*. 2012;18(Suppl. 7):19-37.
 36. Pappas P, Rex J, Sobel J, Filler S, Dismukes W, Walsh T, et al. Guidelines for the treatment of candidiasis. *Infectious Diseases Society of America*. *Clin Infect Dis*. 2004;38:161.
 37. Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, Clancy CJ, Marr KA, Ostrosky-Zeichner L, et al. Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2016;62:e1-50.
 38. Marcos-Zambrano LJ, Gómez-Perosanz M, Escribano P, Zaragoza O, Bouza E, Guinea J. Biofilm production and antibiofilm activity of echinocandins and liposomal amphotericin B in echinocandin-resistant yeast species. *Antimicrob Agents Chemother*. 2016;60:3579-3586.

39. Caillot D, Couaillier J, Bernard A, Casasnovas O, Denning D, Mannone L, et al. Increasing volume and changing characteristics of invasive pulmonary aspergillosis on sequential thoracic computed tomography scans in patients with neutropenia. *J Clin Oncol.* 2001;19(1):253-259.
40. Greene R, Schlamm H, Oestmann J, Stark P, Durand C, Lortholary O, et al. Imaging findings in acute invasive pulmonary aspergillosis: clinical significance of the halo sign. *Clin Infect Dis.* 2007;44(3):373-379.
41. Herbrecht R, Denning D, Patterson T, Bennett J, Greene R, Oestmann J. Voriconazole versus amphotericin B for primary therapy of invasive aspergillosis. *N Engl J Med.* 2002;347:408-415.
42. Rogers TR. Treatment of zygomycosis: Current and new options. *J Antimicrob Chemother.* 2008;61(Suppl 1):35-40.

Hemocultivo: fase pre-analítica

Blood culture: Pre-analytical phase

María Graciela López¹, Miguelangel Nexans-Navas², Lourdes Morillo³

RESUMEN

Las indicaciones para la realización de hemocultivos deben ser basadas en evidencia y orientadas mediante un diagnóstico clínico que nos lleve a probabilidad o pretest para bacteriemia. Son enfermedades con alta probabilidad de bacteriemia: sepsis, meningitis, osteomielitis vertebral, absceso epidural, pielonefritis, pacientes con neutropenia febril, artritis séptica, entre otras patologías. Los hemocultivos deben ser realizados siempre previo a la indicación de antibióticos. Si se presentan escalofríos, dicho momento es ideal para la toma de la muestra, sin embargo, la positividad de los hemocultivos es alta

al tomarse la muestra fuera de los episodios febriles y escalofrío, por ello el hemocultivo debe realizarse sin demora. En relación con infecciones asociadas a catéter, la coincidencia de los aislamientos obtenidos del punto de inserción o del cultivo del catéter y los aislados en hemocultivos es fundamental a la hora de realizar un diagnóstico definitivo de la bacteriemia asociada a catéter.

Palabras clave: Hemocultivo, extracción de muestras, bacteriemia.

SUMMARY

Indications for performing blood cultures should be based on evidence and guided by a clinical diagnosis that leads us to probabilities or pretests for bacteremia. These are diseases with a high probability of bacteremia: the diagnosis of sepsis, meningitis, vertebral osteomyelitis, epidural abscess, pyelonephritis, patients with febrile neutropenia, and septic arthritis, among other pathologies. Blood cultures should always be performed before the indication of antibiotics. If shivering occurs, this time is ideal for taking the sample, however, the positivity of blood cultures is high when the sample is taken outside of febrile episodes and chills, therefore the blood culture should be performed without delay. In relation to catheter-associated infections, the coincidence of the isolates obtained from the point of insertion or the culture of the catheter and those isolated in blood cultures is essential when making a definitive diagnosis of catheter-associated bacteremia.

Keywords: Blood culture, sample extraction, bacteremia.

DOI: <https://doi.org/10.47307/GMC.2022.130.s4.3>

ORCID 0000-0003-1671-1950¹

ORCID: 0000-0001-6551-8423²

ORCID: 0000-0002-1750-4227³

¹Infectólogo Pediatra. Servicio de Infectología Pediátrica. Coordinadora Docente Posgrado de Infectología Pediátrica. Hospital de Niños J.M. De los Ríos. Caracas, Venezuela.

Autor responsable: magrelopez@gmail.com Tel: 0414-3063636

²Infectólogo Pediatra. Servicio de Infectología Pediátrica. Profesor del Posgrado de Infectología Pediátrica. Hospital de Niños J.M. De los Ríos. Caracas, Venezuela.

³Infectólogo Pediatra. Servicio de Infectología Pediátrica. Profesora del Posgrado de Infectología Pediátrica. Hospital de Niños J.M. De los Ríos. Caracas, Venezuela.

Recibido: 9 de julio 2022

Aceptado: 17 de agosto 2022

INTRODUCCIÓN

Si bien hay orientación clara sobre el volumen apropiado de sangre y el número de hemocultivos a recolectar, la orientación con respecto a las indicaciones para realizar un hemocultivo es limitada (1,2). En la práctica clínica, una gran proporción de hemocultivos se indican para evaluar fiebre aguda o persistente, o leucocitosis (3,4); sin embargo, varios estudios han demostrado una falta de correlación entre estos parámetros clínicos y bacteriemia (5-7). Los hemocultivos innecesarios se asocian con aumentos en la duración de la estancia hospitalaria, el uso de antibióticos y otras pruebas de laboratorio (7). También pueden conducir a anemia, malestar del paciente y eventos adversos asociados con antibióticos iniciados por contaminantes. En una encuesta de residentes y médicos tratantes informaron que los principales factores que influyeron en las decisiones de toma de hemocultivos fueron la falta de orientación clínica y la expectativa de que los hemocultivos son componentes estándar de un estudio de fiebre (8).

En países de bajos ingresos la situación es diferente, en los hospitales públicos hay clara limitación para la realización de hemocultivos lo que hace imperativo conocer las indicaciones precisas para la toma de estos realizando un uso adecuado y racional de los recursos.

Indicaciones del Hemocultivo

Según la evidencia, los hemocultivos de rutina estarían indicados en síndromes con alta probabilidad de pretest para bacteriemia (1,2,4,6,9). En este sentido la realización de una buena historia clínica es fundamental, con un examen físico exhaustivo que llevará a un diagnóstico presuntivo que permita decidir la realización de hemocultivo por franca sospecha de bacteriemia. De forma general se indica la obtención de hemocultivos siempre que haya sospecha clínica de sepsis o fiebre de origen desconocido (9-12).

Siempre que sea posible se debe realizar hemocultivo antes de la indicación de antibióticos, particularmente en enfermedades sistémicas. En niños y adultos mayores con disminución súbita de la vitalidad la realización de un hemocultivo

es contributorio ya que en esta población podrían no presentarse los síntomas y signos clínicos de sepsis de modo significativo (13).

Según el diagnóstico clínico la probabilidad de bacteriemia y por ende, de hemocultivos positivos será variable, así en shock séptico (14,15), osteomielitis vertebral, absceso epidural (16,17), meningitis, pielonefritis (18,19) por ejemplo, la probabilidad de hemocultivo positivo será alta, mientras que en celulitis no complicadas, infecciones urinaria baja, neumonías adquiridas en la comunidad, las probabilidades de aislamientos en cultivos sanguíneos son bajas (20-25), siendo aún más bajas ante la presencia de fiebre en episodio aislado y fiebre en las primeras 48 horas del posoperatorio, según diferentes estudios (4,26,27).

La realización de hemocultivos en el seguimiento o control de bacteriemias están claramente establecidos ante el aislamiento de *S. aureus*, luego del 2 al 4 día de iniciados los antibióticos, ya que su resultado impactará en los días totales de antibióticos (28). La persistencia de hemocultivos positivos en infecciones por bacilos Gram negativos es variable, por lo que su realización como control dependerá de la persistencia de la fiebre, presencia de catéter venoso central, malignidad o catéteres en infección urinarias, entre otros factores (29-32).

Caso aparte representa el diagnóstico de Neutropenia febril por cáncer, donde siempre la toma de hemocultivos debe realizarse, idealmente previos al inicio de antibióticos en la primera hora, llamada también hora dorada (33).

En el Cuadro 1 se definen porcentualmente probabilidades de bacteriemia permitiendo decidir la necesidad de la toma de hemocultivos, indicándose los mismos, en al menos, probabilidad moderada y alta.

Extracción de Muestras para Hemocultivos

Momento para la toma de Hemocultivos

Pocos son los estudios que han tratado de establecer el momento óptimo para la toma de hemocultivos y maximizar el aislamiento de patógenos en la sangre. Datos experimentales demuestran que la afluencia de la bacteria dentro del torrente sanguíneo es seguida de una hora

HEMOCULTIVO: FASE PRE-ANALÍTICA

Cuadro 1

Probabilidad pretest de Bacteriemia en escenarios clínicos comunes

< 5% (Muy bajo)	> 10 % (Bajo)	10 % a < 20 % (Bajo a moderado)	20 % a < 50 % (Moderado)	> 50 % (Alto)
Fiebre en primeras 48 horas de cirugía	Celulitis no complicada	Celulitis en pacientes con	Sepsis osteomielitis vertebral Abscesos epidurales Artritis sépticas no postraumática	Discitis y
Fiebre aislada	IU baja NAC y NAAS	NAVM	Pielonefritis aguda Colangitis Absceso hepático NAC severa Infecciones en DVP Escalofrío en pacientes febriles	Meningitis Infecciones de válvulas ventrículo atriales Shock séptico Infecciones asociadas a catéteres

Abreviaciones: IU: Infección urinaria; NAC: Neumonía adquirida en la comunidad; NAAS: Neumonía asociada a la atención de la salud; NAVM: Neumonía asociada a ventilación mecánica;

Modificado de: Fabre V, Sharara S, Salinas A, Carroll K, Desai S, Cosgrove S. Clin Infect Dis. 2020;71(5):1339-7.

antes del escalofrío y el desarrollo de la fiebre. Aunque es una práctica común obtener los hemocultivos en intervalos arbitrarios de 30-60 minutos, hay estudios que demostraron que no existe diferencias en aislar el microorganismo cuando las muestras de sangre eran tomadas de manera simultaneas o en espacios de intervalos de más de 24 horas y se ha observado que no hay diferencias significativas en la positividad de los hemocultivos obtenidos en relación con los períodos febriles de los pacientes (34,35).

En un estudio observacional publicado en el 2018 se investigó la relación entre la positividad del hemocultivo y el tiempo transcurrido entre el último inicio de escalofríos y el momento en que se recogieron los hemocultivos. Los resultados demostraron que los hemocultivos obtenidos dentro de las 2 horas después de que comenzaron los escalofríos más recientes se asociaron con una positividad superior. Como era de esperarse la positividad de los hemocultivos fue mayor en aquellas botellas empleadas justamente después de iniciados los escalofríos (36).

Este resultado es biológicamente plausible debido a que los macrófagos principalmente del hígado y bazo, conocidos como del Sistema Reticuloendotelial (SRE), pueden haber removido algunas sustancias exógenas circulantes como bacterias al momento de iniciada la fiebre. Por lo tanto, cuando un paciente tiene escalofríos, los hemocultivos deben obtenerse sin demora (36).

La frecuencia de los escalofríos fue un fuerte indicador de bacteriemia. Este resultado puede ser explicado de la siguiente manera: Después de eliminar las bacterias circulantes a través del SRE, si el foco primario de bacterias no está bajo control, estos patógenos invaden la circulación nuevamente y causan escalofríos repetidamente. Por lo tanto, a los pacientes de dicho estudio se les preguntó no sólo si habían experimentado escalofríos, sino también cuándo y cuántas veces tenían para evaluar el riesgo de bacteriemia (36).

La extracción de sangre debe hacerse antes de iniciar la administración del tratamiento antibiótico y en el caso de que esto no fuera posible,

cuando el antibiótico esté en su concentración valle (justo antes de la siguiente dosis) (35). La exposición previa a antimicrobianos dentro de las 48 horas redujo significativamente la positividad del hemocultivo ante la exposición antimicrobiana efectiva que ante los antimicrobianos ineficaces (10,0 % frente a 37,5 %, $p = 0,28$). Aunque algunos informes no han encontrado asociación entre el uso previo de antibióticos y la bacteriemia, Taniguchi y col. en el 2018 confirmaron que se deben tomar hemocultivos antes de administrar los antibióticos (36).

Los hemocultivos deben ser obtenidos simultáneamente (en un corto período de tiempo). La toma de muestra de sangre a diferentes intervalos solo está indicada cuando es necesario documentar bacteriemia continua en pacientes con sospecha de endocarditis infecciosa u otras infecciones endovasculares (relacionadas a catéter) (34). Aunque no existe una recomendación universal sobre el intervalo de tiempo a respetar entre cada extracción y aunque por lo general se aconseja que estén separadas 10-30 minutos, este intervalo se puede acortar en situaciones de extrema urgencia e incluso en estos casos, para no retrasar el tratamiento antibiótico, pueden extraerse los hemocultivos simultáneamente de extremidades diferentes. En los casos en los que el foco de infección no está claro y los primeros hemocultivos son negativos, puede estar indicado repetir la extracción tras 24-48 horas. Está recomendado extraer una nueva tanda de hemocultivos a las 48-72 horas de una bacteriemia ya diagnosticada a fin de conocer si persiste el aislamiento del mismo microorganismo a pesar de tratamiento antimicrobiano, lo que se conoce como bacteriemia complicada. No se recomienda la extracción seriada de hemocultivos en pacientes pediátricos, excepto en los pacientes inmunodeprimidos (35).

Es muy importante que el profesional encargado de la toma del hemocultivo tenga formación sobre el momento y el lugar de extracción, la cantidad de sangre que hay que obtener, la atmosfera de los frascos de cultivo (aerobia y anaerobia), el número de extracciones y las condiciones de asepsia que hay que seguir, ya que este proceso formativo es esencial para mejorar la rentabilidad clínica de esta prueba (35).

Desinfección de la piel y prevención de la contaminación de hemocultivos

La mayoría de los hemocultivos son tomados por venopuntura (Extracción Periférica). Con el objetivo de minimizar el riesgo de contaminación con la flora de la piel, los sitios de venopunción requieren antisepsia. Un número de antisépticos se han empleado para tal fin, como alcohol isopropílico al 70 %, tinturas de iodo, iodo-povidona, iodóforos y gluconato de clorhexidina. Varios estudios han comparado dichos antisépticos, concluyendo lo siguiente:

1. Las tinturas de Iodo y Gluconato de Clorhexidina son superiores a las preparaciones de Iodo-povidona.
2. Las tinturas de iodo y el Gluconato de Clorhexidina son probablemente equivalentes (34,35,37-41).

Las preparaciones que contienen iodo requieren de suficiente tiempo para la antisepsia de la superficie (30 segundos para las tinturas de Iodo y de 1,5-2 minutos para los iodóforos). El Gluconato de Clorhexidina requieren un tiempo similar a las tinturas de iodo, pero no está asociada a reacciones alergias y no necesita limpiar la piel después de finalizada la venopuntura. La principal desventaja del Gluconato de Clorhexidina es que no puede ser empleada en la antisepsia de la piel de lactantes menores de 2 meses de edad, sin embargo; es el más recomendado en lactantes mayores de 2 meses de edad; niños y adultos. En pacientes menores de 2 meses de edad, el alcohol isopropílico al 70 % es una alternativa aceptable para la desinfección de la piel (34).

Recolección de Hemocultivos

Los hemocultivos deben ser tomados usando medidas de precaución estándar. La estricta técnica de asepsia debe ser empleada durante todo el procedimiento. La sangre debe ser obtenida de vías venosas y no de las arterias. Los cultivos de sangre arterial no están asociados con un mayor diagnóstico que los cultivos de sangre venosa, por lo tanto, no están recomendados. Los hemo-

cultivos obtenidos de dispositivos de acceso intravascular, tales como catéteres intravenosos y puertos, están asociados con mayor tasa de contaminación que los hemocultivos obtenidos por venopuntura (Extracción Periférica). Aunque ocasionalmente la sangre necesita ser obtenida de una línea intravenosa o dispositivo de acceso similar, un hemocultivo de tales dispositivos debe ser pareado con otro hemocultivo obtenido por venopuntura (Extracción Periférica) para la adecuada interpretación ante un resultado positivo (34,35).

Si los hemocultivos para bacterias u hongos son tomados a través de una línea intravenosa, no es necesario descartar el volumen inicial de sangre o limpiar la línea con solución salina para eliminar la heparina residual u otros anticoagulantes ya que la actividad antimicrobiana de la heparina es efectivamente eliminada por medios de cultivos ricos en proteínas (34).

Después de que el sitio de venopuntura es identificado, el tabique de goma sobre las botellas o tubos de hemocultivos, deben ser desinfectados con alcohol isopropílico al 70 % y dejar secar posteriormente. Al sitio de venopuntura se debe aplicar las medidas de asepsia respectiva, la persona que toma el hemocultivo no debe palpar la vena después de la antisepsia de la piel, a menos que esté usando guantes estériles. Está recomendado que la sangre sea tomada en una jeringa estéril y luego transferida a la botella o tubo de hemocultivo (35) cambiando de equipo y localización anatómica en la extracción de cada hemocultivo (36). La sangre puede ser tomada directamente en tubos que contengan poliatenolsulfonato de sodio (SPS), pero nunca deben ser tomados en otros tubos que contengan otros anticoagulantes. La sangre de un tubo de SPS puede ser transferida a un medio de hemocultivo. Tomar la sangre directamente dentro de los viales de hemocultivos (por ejemplo, usando un portaagujas diseñado para recoger sangre dentro de tubos), no está recomendado debido al riesgo de reflujo de sangre dentro de la vena y a que el volumen de sangre dentro del tubo o botella de hemocultivo no puede ser controlado. Los tubos/botellas de hemocultivos deben ser invertidas suavemente algunas veces para prevenir la coagulación (34).

Por muchos años fue una práctica estándar de cambiar las agujas antes de inocular la sangre

dentro de las botellas/tubos de hemocultivos. Aunque algunos estudios han mostrado que usando la misma aguja tanto para la toma de la sangre, así como también para la inoculación de la sangre en las botellas de hemocultivo, no existe un incremento significativo en las tasas de contaminación, un metaanálisis mostró un leve incremento en la tasa de contaminación cuando las agujas no fueron cambiadas (34,39,40).

Independiente del método usado para la toma de hemocultivos, los laboratorios deberían validar que su proceso es efectivo en minimizar las tasas de contaminación en un rango aceptable, típicamente $\leq 3\%$ (34,35,37).

Hemocultivos contaminados

Los hemocultivos permanecen con referencia standard para el diagnóstico de bacteriemia, pero su contaminación representa más del 50 % de hemocultivos positivos (38).

La *College of American Pathologists* (CAP) define un set o conjunto de hemocultivos como una muestra de sangre recolectados de una sola venopunción y luego inoculados en una botella aeróbica y una anaeróbica. La CAP define un hemocultivo contaminado como la presencia de uno o más de los siguientes organismos encontrados en un solo conjunto hemocultivo y solo en uno de una serie de dos o tres conjuntos de hemocultivos: *Staphylococcus* coagulasa-negativos (SCN) en el 75-88 % de los hemocultivos contaminados, *Micrococcus spp.*, estreptococos del grupo viridans, *Propionibacterium acnes*, *Corynebacterium spp.* y *Bacilo spp.* (37,38,40).

La prevalencia de hemocultivos contaminados varía de 0,6 % a 17 % de los hemocultivos realizados y diversos factores influyen en dicha tasa de variación tales como en hospitales de entrenamiento, especialmente en el departamento de emergencia. La rápida rotación de personal, la falta de capacitación continua y la carga de trabajo pueden contribuir a este fenómeno. La edad y comorbilidades del paciente también han estado asociados a hemocultivos contaminados (38).

Las contaminaciones se atribuyen a la transferencia de microorganismos del entorno inmediato del paciente o, más raramente, de las manos de los trabajadores de la salud. La

diversidad de los SCN de la flora de la piel sugiere que provienen de varias fuentes (por ejemplo, estrato córneo, área contigua, ropa y piel de otros humanos), pero después del tratamiento antiséptico, la repoblación del sitio ocurre por alguna cepa que no puede ser eliminada por el antiséptico tópico. Más del 20 % de la flora de la piel puede estar fuera de alcance de la desinfección porque los microorganismos se localizan en las unidades pilosebáceas y en otros sitios donde los lípidos y superficie de los epitelios cornificados les ofrecen protección. Estos datos sugieren que los hemocultivos contaminados pueden deberse a una antisepsia defectuosa (38,40).

Cómo Diferenciar un Contaminante de un Patógeno

Puede ser difícil hacer la distinción entre un contaminante y un patógeno, como algunos típicos contaminantes de hemocultivos como el SCN, que pueden causar infecciones relacionadas a catéter como de otros cuerpos extraños. Tal diferenciación puede ser realizada o por evaluación clínica o por el número de hemocultivos que muestra el crecimiento de un microorganismo en particular. Frecuentemente, tal microorganismo sólo se considera clínicamente relevante si se aísla en al menos 2 hemocultivos separados (por venopunciones), porque las probabilidades de tener ambos cultivos contaminados con el mismo patógeno son muy pequeñas. Sin embargo, este enfoque no se puede utilizar en entornos donde sólo se muestra un hemocultivo. El tiempo de detección también puede ser de ayuda en la interpretación, como se ha demostrado que los contaminantes muestran un crecimiento más lento que los verdaderos patógenos (40).

Tiene sentido pensar que el inóculo bacteriano en una real bacteriemia es mayor que en un hemocultivo negativo y crece más rápido. Cuando un SCN es aislado, un tiempo de crecimiento de más de 20 horas se suele considerar a favor de un contaminante. La administración previa de antibióticos, el volumen de la muestra de sangre, el retraso de transferencia de la muestra y la revisión del intervalo de hemocultivo, son factores que disminuyen la fiabilidad de este parámetro. Además, los tiempos de crecimiento entre los contaminantes y los verdaderos patógenos se

superponen. Hoy en día, aunque puede verse afectado por el volumen de sangre inoculado en la botella de hemocultivo, el aumento del rendimiento de los sistemas de incubadoras reduce el tiempo de detección. Aunque el tiempo de detección del SCN es todavía más largo que el de otros microorganismos (por ejemplo, Enterobacteriaceae, *Staphylococcus aureus*, estreptococos del grupo viridans), el umbral de 20 horas para considerar un SCN como el contaminante debe ser revisado (38).

Corynebacterium spp., *Bacillus spp.* (excepto *Bacillus anthracis*), *Micrococcus spp.*, *Lactobacillus spp.* y *Cutibacterium spp.* rara vez se asocian con infecciones y casi siempre son contaminantes. Los SCN pueden causar una infección verdadera, pero son mucho más a menudo implicados como contaminantes. Aislamiento de *Enterococcus spp.* o especies Gram-negativas no fermentadoras (por ejemplo, *Acinetobacter spp.* o *Stenotrophomonas maltophilia*) y estreptococos viridans es a menudo incierto su importancia clínica, lo que complica su papel en la interpretación de los resultados de hemocultivos (40).

Estrategias para reducir la contaminación

1. Antisepsia

La antisepsia de la piel es un procedimiento crítico en el proceso de obtener hemocultivos. Son importantes tanto la técnica del flebotomista como el compuesto antiséptico que se emplea. Algunos estudios muestran que las soluciones de clorhexidina en base alcohólica son mejores que iodo-povidona en solución acuosa y disminuyen el porcentaje de contaminación al 2 % frente a la iodo-povidona (>3,0 %), con la ventaja del efecto residual de la biguanida frente al yodo. Para la selección del antiséptico a utilizar se debe tener en cuenta el tiempo de acción, capacidad de reducción de la flora de la piel y los efectos adversos asociados a su uso (37-40).

2. Guantes Estériles

En un estudio aleatorizado, se encontró que el porcentaje de contaminación fue 0,6 % cuando

la muestra se obtuvo con guante estéril y 1,1 % cuando se utilizó guante limpio no estéril (38-40).

3. Desinfección de las Botellas de Hemocultivo

El estudio Q-probes del CAP realizado en 640 hospitales, determinó que la aplicación de un antiséptico en la tapa de las botellas se asoció con una tasa de contaminación de 2,3 %, comparada con un 3,4 % en los que no realizan esta desinfección, sin embargo, los productos yodados no deben utilizarse ya que puede erosionar el material del tapón, facilitando la introducción de potenciales contaminantes (37,39,40).

4. Sistema Abierto vs. Cerrado

Algunos estudios refieren que el sistema abierto aumenta los riesgos de contaminación, mientras que el uso de camisa de extracción de sangre (ej. Vacutainer®) integrado con un sistema de seguridad que evite el riesgo de reflujo del medio del frasco de hemocultivo hacia el torrente sanguíneo del paciente, reduce el riesgo de contaminación debido a que este sistema permite extraer directamente los cultivos sin retirar la aguja del paciente; sin embargo, en pacientes edematizados o con difícil acceso venoso, se dificulta la utilización de sistema cerrado (38).

Consecuencias Clínicas de Hemocultivos Contaminados

Hay varias consecuencias clínicas adversas de los hemocultivos contaminados, el más obvio de los cuales es una mayor exposición a los antibióticos. Bates y col. (15) encontraron que el uso de antibióticos intravenosos fueron un 39 % más altos para los episodios de hemocultivos contaminantes que entre los pacientes con cultivo negativo. Doern y col. señalan que el 41 % de los episodios de contaminación de hemocultivos debido a SCN se trataron con antibióticos (34 % recibiendo vancomicina innecesariamente). Del mismo modo, Lee y col. (25) evidenciaron que el 41 % de 178 pacientes con contaminantes recibieron antibióticos intravenosos innecesarios. Muchos de los pacientes que comienzan con antibióticos por eventos de contaminación

recibieron tratamiento prolongado; en promedio de 6,5-7 días con vancomicina por hemocultivos contaminados por SCN (39).

Esta mayor exposición a los antibióticos está asociada con varios efectos adversos potenciales incluidas reacciones alérgicas, interacciones farmacológicas, aparición de resistencia a los antibióticos, y alteración del microbioma del huésped que puede conducir a infecciones por *Clostridioides difficile*, así como otras consecuencias adversas. Desafortunadamente, existen datos limitados para cuantificar la carga de los eventos adversos que están específicamente asociados con hemocultivos contaminados. Si bien un estudio reveló que los pacientes con los hemocultivos que recibieron antibióticos tuvieron tasas brutas de mortalidad más altas en 1 y 2 semanas que aquellos que no lo hicieron, este hallazgo fue confundido por el hecho de que los pacientes que recibieron los antibióticos eran más enfermos y tenían más comorbilidades (por ejemplo, malignidad), y sus muertes no se consideró que estuvieran directamente relacionados con las consecuencias de la administración innecesaria de antibióticos (39).

Factores Predictores de Hemocultivos Contaminados

Hernández-Bou y col. evidenciaron en su estudio donde se evaluaron 169 hemocultivos con crecimiento bacteriano en lactantes de 0 a 36 meses, publicado en el 2015, diferencias significativas entre los hemocultivos contaminados y los hemocultivos positivos en relación con el tiempo de positividad y el valor de la PCR. Los microorganismos contaminantes se caracterizan por un tiempo de positividad claramente superior al de los patógenos, con un Valor Predictivo Positivo (VPP) del 96,9 % para un tiempo de positividad ≥ 16 h para su identificación. Si bien este hallazgo resulta paralelo al descrito por otros autores en estudios previos similares, llama la atención el menor tiempo de positividad, tanto para los microorganismos patógenos como especialmente para los contaminantes, observado en este estudio en relación con los trabajos mencionados, en los que el tiempo de positividad descrito para los microorganismos patógenos oscila entre 13,8 y 19,9 horas, y para

los contaminantes, entre 31,1 y 37,6 horas. Estas diferencias son principalmente atribuibles a los distintos sistemas de monitorización de los hemocultivos empleados en dichos estudios, ya que la mayoría están realizados en la década de los años noventa. En los últimos años, la aparición de los sistemas automáticos de monitorización continua de hemocultivos ha conllevado una disminución significativa del tiempo de emisión de los resultados, además de incrementar notablemente la positividad de los mismos (42).

En este estudio, también la PCR se ha mostrado como el parámetro analítico más útil para identificar precozmente un hemocultivo contaminado, con un VPP del 95,1 % para un valor de PCR ≤ 30 mg/L. Según los autores, el valor de PCR no ha sido evaluado con este fin por otros autores. En los estudios de Sard y col. y de Segal y Chamberlain (43,44), se observa una diferencia estadísticamente significativa en la cifra de leucocitos totales entre los hemocultivos contaminados y los positivos, proponiendo el primero una cifra $< 15\ 000/\text{mm}^3$ como factor predictor de contaminación, con un VPP del 86,8 %. Si bien en dicha investigación también se observó una diferencia estadísticamente significativa en el número absoluto de leucocitos entre los 2 grupos, la de la PCR es mayor. El cambio en la distribución de patógenos causantes de bacteriemia acontecido en los últimos años explicaría este resultado, con una limitada utilidad del valor de los leucocitos en la identificación de los mismos. Además de estos 2 factores, la identificación inicial de la tinción de Gram como presumiblemente contaminante se ha mostrado como el parámetro individual más útil para la identificación precoz de un hemocultivo contaminado, con un VPP del 97,5 %. Este hallazgo, paralelo al descrito por otros autores, enfatiza la importancia de una buena correlación entre el resultado inicial de la tinción de Gram y la identificación definitiva (42-44).

Bacteriemia asociada a catéter. Extracción de las muestras

La bacteriemia asociada a catéter se define como la presencia de al menos un hemocultivo positivo obtenido por vía periférica, en un paciente con un catéter endovenoso con signos clínicos

de infección (fiebre, escalofríos o hipotensión), sin otro foco identificable de infección distinto al catéter y que cumpla con al menos uno de los siguientes criterios:

- * Aislamiento significativo del mismo microorganismo en el cultivo cuantitativo o semicuantitativo de la punta de catéter.
- * Hemocultivos cuantitativos positivos obtenidos simultáneamente por el catéter y por una vena periférica y con una relación de unidades formadoras de colonias de 3:1 a favor del primero (45).

El diagnóstico de la bacteriemia asociada a catéteres vasculares suele ser un diagnóstico de exclusión y no existe un estándar de oro microbiológico para su diagnóstico, en estos casos es fundamental la documentación de la bacteriemia y por otra parte demostrar que la infección es causada por el catéter (46).

Para realizar un correcto diagnóstico de la bacteriemia asociada a catéter, lo primordial es la clínica del paciente, que puede cursar con fiebre y escalofríos, pero en ocasiones es inespecífica (45) y que debe asociarse a la realización de métodos diagnósticos que permiten el aislamiento de ciertos microorganismos en sangre como el *S. aureus*, *S. epidermidis* y otras especies de estafilococos, *Corynebacterium spp.* o *Candida spp.*, en ausencia de otro foco de infección debe hacer sospechar un origen de la infección en el catéter (47).

La coincidencia de los aislamientos obtenidos del punto de inserción o del cultivo del catéter y los aislados en hemocultivos es fundamental a la hora de realizar un diagnóstico definitivo de la bacteriemia asociada a catéter (47).

Existen métodos microbiológicos que permiten ayudar a confirmar el diagnóstico dividiéndose en dos grandes grupos:

- * Procedimientos microbiológicos en catéteres retirados: se realizan por varias razones como son: catéteres en pacientes con bacteriemia que no mejoran con tratamiento antimicrobiano correcto, catéteres con infección del túnel subcutáneo, catéteres causantes de émbolos pulmonares, catéteres causantes de endocarditis, catéteres infectados con microorganismos difíciles de erradicar sin que se retire el mismo. En este grupo

se procesa el segmento final del catéter, los últimos 5 cm. Si es catéter arterial pulmonar, la muestra debe incluir el introductor y en los dispositivos totalmente implantados, se debe cultivar el reservorio, además de la punta (45). En estos casos, debe realizarse un hemocultivo dentro de los 30 min siguientes a la extracción del mismo.

Los procedimientos microbiológicos para las puntas de catéteres pueden dividirse en tres grupos:

- * Cultivos cualitativos: se introduce la punta del catéter en un medio de cultivo y se evalúa la turbidez del medio. Luego se realiza un subcultivo en medios sólidos para identificar el microorganismo y realizar el antibiograma. Desventaja tiene falta de valor predictivo positivo e impide conocer el grado de colonización.
- * Métodos cuantitativos y semicuantitativos que permiten conocer el grado de carga microbiana de la muestra (45).

Hay otra clasificación, que determina si la colonización está afuera del catéter, adentro del túnel o ambos. Un catéter recientemente implantado, menor de 7 días, es más probable que se colonice por flora de piel, estando indicada la técnica de Maki, para detección de colonización externa. Los catéteres que tienen más de 7 días recomiendan un método que tenga en cuenta más colonización intraluminal, como la técnica de sonicación.

Se describen los métodos en base a esta última clasificación (45):

1. Cultivo para detección de colonización extraluminal. Método semicuantitativo de Maki. Cuando en el cultivo crecen más de 15 UFC por placa se considera que el catéter esta colonizado y la mayoría de estos pacientes tenían bacteriemia. La especificidad de esta técnica es de 76%. Por otro lado, es importante considerar que un cultivo de catéter positivo por la técnica de Maki tiene escaso valor predictivo positivo.
2. Cultivo para la detección de colonización intraluminal. Modificación de la técnica de Cleri, cuantifica microorganismos que

colonizan la luz del catéter, lavando la luz del mismo.

3. Cultivo para detección de colonización extra o intraluminal, como la sonicación. Es una técnica cuantitativa, consiste en el baño de ultrasonidos que facilitan liberación de microorganismos, en un caldo de cultivo, que estaban adheridos a la superficie del catéter tanto interna como externamente (45).

En el caso de la población pediátrica, un reciente hallazgo diagnóstico de relevancia, ha sido la demostración por Aldea Mansilla y col., que en los catéteres centrales de inserción periférica (PICC), proponen una alternativa de optimización diagnóstica basada en el corte longitudinal del catéter, previa realización de la técnica de Maki (45).

Hay otras técnicas de diagnóstico rápido, de la infección relacionada con catéter, cuando se ha logrado retiro del mismo, que son técnicas rápidas basadas en la tinción de la punta del catéter o pruebas moleculares, como la PCR 16s o MALDI-TOF (45). Es importante acotar que a pesar de su rapidez estas técnicas no sustituyen el cultivo, ya que no permiten la identificación del microorganismo y su relación con los microorganismos aislados en los hemocultivos y tampoco permiten la realización de estudios de susceptibilidad.

Procedimientos microbiológicos manteniendo el catéter. En situaciones en donde se sospeche que el origen de la bacteriemia es el catéter y no sea fácil recambiar o prescindir de este, se debe utilizar la técnica del tiempo diferencial de positividad, que consiste en comparar el tiempo que tardan los frascos de hemocultivos en dar un resultado positivo, los extraídos de sangre periférica con los obtenidos de la luz del catéter. Tomando en consideración que a cada frasco se inocula la misma cantidad de sangre y se deben incubar inmediatamente. Si el foco es el catéter, el inóculo bacteriano inicial será mayor, por lo que deberá alcanzar la positividad antes, con una diferencia de al menos 120 minutos respecto al hemocultivo extraído por sangre periférica.

En estos casos, existe otra técnica que es la cuantificación de la cantidad de bacterias

presentes en la sangre obtenida de diferentes localizaciones (catéteres y vía periférica). Luego que se centrifugan los tubos se realiza un cultivo cuantitativo en placas de agar, considerando que hay infección si el número de bacterias de la muestra obtenida a través del catéter es tres veces superior al de la sangre obtenida de vía periférica (48).

Las recomendaciones específicas para el diagnóstico microbiológico de las infecciones relacionadas con el catéter son:

- * No deben enviarse para cultivos las puntas de catéter retiradas sin sospecha clínica de infección.
- * Si hay sospecha de infección asociada a catéter y siempre que pueda ser retirado, el cultivo de punta de catéter en combinación con otros métodos microbiológicos aporta un diagnóstico de certeza.
- * En el caso de dispositivos con reservorios totalmente implantables, además de la punta hay que mandar el reservorio entero para su cultivo.
- * Si se sospecha infección relacionada con el catéter, se debe enviar la punta para cultivo por el método semicuantitativo y extraer al menos dos hemocultivos con técnica aséptica, antes de iniciar el tratamiento antibiótico.
- * Si existen signos de infección local, se debe enviar un frotis de exudado para realizar tinción de Gram y cultivo.
- * Las técnicas disponibles en el laboratorio se basan en la detección de colonización extraluminal (técnica de Maki), intraluminal (técnica de Cleri) o ambas simultáneamente (técnica de Brun-Buisson, de sonicación y de Maki con apertura longitudinal en PICCs de silicona en neonatos) (45).

Como conclusión, se plantea que no existe un método ideal para el diagnóstico de la infección asociada a catéter. Los métodos cuantitativos tienen mayor sensibilidad, pero son más laboriosos que el método semicuantitativo de Maki, siendo el utilizado con mayor frecuencia. El cultivo de la conexión /conectores ofrece información de la colonización intraluminal y el

método semicuantitativo sobre la colonización de la superficie externa del catéter (45).

Endocarditis. Extracción de muestras

La bacteriemia que se produce en los pacientes con endocarditis suele ser continua, de bajo grado, persistente y no siempre está asociada a picos febriles, por tal motivo la toma del hemocultivo no debe estar necesariamente relacionada con el pico febril (48).

En las endocarditis el mismo microorganismo suele crecer en todas las botellas, planteando que cuando crece en pocas botellas debe ser interpretado con cuidado, porque pudiera ser contaminación, principalmente en el caso de *Staphylococcus coagulasa* negativo, *Corynebacterium spp.* y *P. acnés* (48).

Los métodos de cultivos convencionales muestran resultados positivos dentro de las 48 horas, rara vez se requiere una incubación de más de 5 días cuando se utilizan sistemas y medios modernos de cultivos de sangre de monitoreo continuo automatizado (46). Si a los 5 días los cultivos son negativos, se recomienda prolongar la incubación hasta 14 días con la finalidad de lograr la recuperación de organismos exigentes como las bacterias del grupo HACEK (*Haemophilus*, *Aggregatibacter*, *Cardiobacterium*, *Eikenella* y *Kingella*) y *Brucella spp.* (46).

Hay otros microorganismos como las bacterias y hongos dismórficos que requieren períodos de incubación más prolongados. Para la gran mayoría de los agentes etiológicos de la endocarditis infecciosa los medios de cultivos convencionales son suficientes, sin embargo, hay algunos agentes etiológicos menos comunes que pueden no ser detectados. Los agentes etiológicos de endocarditis con cultivo negativo son *Bartonella spp.* y *Coxiella burnetii*, pero pueden ser detectados por pruebas serológicas convencionales. En algunas ocasiones será necesario realizar métodos de amplificación molecular para detectar estos y otros microorganismos como *Tropheryma whippelii* y *Bartonella spp.* (46).

El volumen de sangre que se obtiene para cada hemocultivo conocido como set de hemocultivo,

consta de todos los frascos obtenidos de una sola punción venosa o de una extracción de sangre de catéter, y es la variable más importante para la recuperación de bacterias y hongos de pacientes. Para los recién nacidos y adolescentes, se debe cultivar un volumen de sangre apropiado para la edad y el peso (46). Se recomienda cultivar un volumen de sangre aproximadamente del 4,5 % del volumen total de sangre del paciente, volúmenes inferiores determinan en bacteriemias de bajo nivel resultados falsos negativos o un mayor tiempo para la detección de un resultado positivo (9). Otra variable por considerar es el número de hemocultivos a realizar durante cada proceso infeccioso, esta variable dependerá de la gravedad del paciente, si es adulto se deben considerar de 2 a 4 set de hemocultivos en la evaluación de cada período séptico (46).

Se debe también considerar la adecuada limpieza de la piel antes de realizar la toma de los cultivos para disminuir el riesgo de contaminación. Se recomienda en las guías de expertos, que la venopunción periférica es la técnica preferida para tomar el cultivo logrando obtener menos riesgo de contaminación que la muestra tomada de catéter (46).

En resumen, los puntos clave para el diagnóstico de bacteriemia o fungemia son:

- El volumen de sangre recolectada, no el tiempo, es lo más crítico.
- Desinfectar el sitio de punción con clorhexidina o tintura de yodo al 2 % en adultos y niños. Haciendo la acotación que en niños menores de 2 meses no se recomienda clorhexidina, utilizando povidona yodada y alcohol.
- Extraer sangre para cultivo antes de iniciar la terapia antimicrobiana.
- Los hemocultivos extraídos con catéter tienen mayor riesgo de contaminación (falsos positivos).
- No se debe enviar punta de catéter para cultivo sin un hemocultivo adjunto obtenido por venopunción.
- Nunca se debe refrigerar la sangre antes de la incubación.
- Usar un equipo de hemocultivo de 2 a 3 botellas para adultos, al menos 1 aeróbico 1 anaeróbico, y deben usarse al menos 1 o 2

botellas para aeróbicos para niños y considerar anaeróbicos cuando sea necesario.

REFERENCIAS

1. Fabre V, Sharara S, Salinas A, Carroll K, Desai S, Cosgrove S. Does This Patient Need Blood Cultures? A Scoping Review of Indications for Blood Cultures in Adult Nonneutropenic Inpatients. *Clin Infectious Dis.* 2020;71(5):1339-1337.
2. Miller JM, Binnicker MJ, Campbell S, Carroll KC, Chapin KC, et al. A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2018 Update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology. *CID.* 2018;67(6):813-816.
3. Tabriz MS, Riederer K, Baran J Jr, Khatib R. Repeating blood cultures during hospital stay: Practice pattern at a teaching hospital and a proposal for guidelines. *Clin Microbiol Infect.* 2004;10:624-627.
4. Linsenmeyer K, Gupta K, Strymish JM, Dhanani M, Brecher SM, Breu AC. Culture of spikes? Indications and yield of blood cultures in hospitalized medical patients. *J Hosp Med.* 2016;11:336-340.
5. Seigel TA, Cocchi MN, Saliccioli J, Shapiro NI, Howell M, Tang A, et al. Inadequacy of temperature and white blood cell count in predicting bacteremia in patients with suspected infection. *J Emerg Med.* 2012;42:254-259.
6. Bates DW, Cook EF, Goldman L, Lee TH. Predicting bacteremia in hospitalized patients. A prospectively validated model. *Ann Intern Med.* 1990;113:495-500.
7. Zwang O, Albert RK. Analysis of strategies to improve cost-effectiveness of blood cultures. *J Hosp Med.* 2006;1:272-276.
8. Fabre V, Milstone AM, Keller SC, Carroll KC, Cosgrove SE. Prescribers' knowledge, attitudes, and perceptions about blood culturing practices for adult hospitalized patients: A call for action. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2018;39:1394-1396.
9. Cueto M, Pascual A. Desde el Laboratorio a la Clínica. El hemocultivo pediátrico: Indicaciones y técnica. *An Pediatr Contin.* 2007;5(5):279-282.
10. Thomson RB, Miller M. Specimen collection, transport, and processing: bacteriology. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, editors. *Manual of clinical microbiology.* 8th edition. Washington DC: Am Soc Microbiol. 2003.p.286-331.
11. Loza Fernández de Bobadilla E, Planes Reig A, Rodríguez Creixems M. Hemocultivos. Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y

- Microbiología Clínica. 2003. Disponible en: <http://www.seimc.org>.
12. Paisley JW, Lauer BA. Pediatric blood cultures. *Clin Lab Med.* 1994;14:17-30.
 13. Goldstein B, Giroir B, Randolph A. International Consensus Conference on Pediatric Sepsis. International pediatric sepsis consensus conference: definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics. *Pediatr Crit Care Med.* 2005;6:2-8.
 14. Rhee C, Filbin MR, Massaro AF. Compliance with the national SEP-1 quality measure and association with sepsis outcomes: A multicenter retrospective cohort study. *Crit Care Med.* 2018;46:1585-1591.
 15. Bates DW, Sands K, Miller E, Lanken PN, Hibberd PL, Graman PS, et al. Predicting bacteremia in patients with sepsis syndrome. Academic Medical Center Consortium Sepsis Project Working Group. *J Infect Dis.* 1997;176:1538-1551.
 16. Nolla JM, Lora-Tamayo J, Gómez Vaquero C, Narváez J, Murillo O, Pedrero S, et al. Pyogenic arthritis of native joints in non-intravenous drug users: a detailed analysis of 268 cases attended in a tertiary hospital over 22 years. *Semin Arthritis Rheum.* 2015;45:94-102.
 17. Aagaard T, Roed C, Dragsted C, Skinhoj P. Microbiological and therapeutic challenges in infectious spondylodiscitis: A cohort study of 100 cases, 2006–2011. *Scand J Infect Dis.* 2013;45:417-424.
 18. Velasco M, Martínez JA, Moreno-Martínez A, Horcajada JP, Ruiz J, Barranco M, et al. Blood cultures for women with uncomplicated acute pyelonephritis: ¿are they necessary? *Clin Infect Dis.* 2003;37:1127-1130.
 19. Ledochowski S, Abraham PS, Jacob X, Dumitrescu O, Lina G, Lepape A, et al. Relevance of blood cultures in acute pyelonephritis in a single-center retrospective study. *Intern Emerg Med.* 2015;10:607-612.
 20. Coburn B, Morris AM, Tomlinson G, Detsky AS. Does this adult patient with suspected bacteremia require blood cultures? *JAMA.* 2012;308:502-511.
 21. Zhang D, Yang D, Makam AN. Utility of blood cultures in pneumonia. *Am J Med.* 2019;132:1233-1238.
 22. Yamazoe M, Tomioka H, Yamashita S, Furuta K, Kaneko M. Significance of blood cultures in nursing home-acquired pneumonia. *J Infect Chemother.* 2018;24:272-277.
 23. Abe T, Tokuda Y, Ishimatsu S, Birrer RB. Usefulness of initial blood cultures in patients admitted with pneumonia from an emergency department in Japan. *J Infect Chemother.* 2009;15:180-186.
 24. Cham G, Yan S, Heng BH, Seow E. Predicting positive blood cultures in patients presenting with pneumonia at an emergency department in Singapore. *Ann Acad Med Singapore.* 2009;38:508-7.
 25. Lee J, Hwang SS, Kim K, Jo YH, Lee JH, Kim J, et al. Bacteremia prediction model using a common clinical test in patients with community-acquired pneumonia. *Am J Emerg Med.* 2014; 32:700-704.
 26. Copeland-Halperin LR, Stodghill J, Emery E, Trickey AW, Dort J. Clinical predictors of positive postoperative blood cultures. *Ann Surg.* 2018;267:297-302.
 27. Copeland-Halperin LR, Emery E, Collins D, Liu C, Dort J. Dogma without data: A clinical decision-making tool for postoperative blood cultures. *Am Surg.* 2018;84:1339-1344.
 28. Liu C, Bayer A, Cosgrove SE, Daum RS, Fridkin SK, Gorwitz RJ, et al. Clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in adults and children. *Clin Infect Dis.* 2011;52:e18-55.
 29. López Dupla M, Martínez JA, Vidal F, Almela M, López J, Marco F, et al. Clinical characterization of breakthrough bacteraemia: A survey of 392 episodes. *J Intern Med.* 2005;258:172-180.
 30. Canzoneri CN, Akhavan BJ, Tosur Z, Andrade PEA, Aisenberg GM. Follow-up blood cultures in gram-negative bacteremia: Are they needed? *Clin Infect Dis.* 2017;65:1776-1779.
 31. Wiggers JB, Xiong W, Daneman N. Sending repeat cultures: is there a role in the management of bacteremic episodes? (SCRIBE study). *BMC Infect Dis.* 2016;16:286-67.
 32. Shi H, Kang CI, Cho SY, Huh K, Chung DR, Peck KR. Follow-up blood cultures add little value in the management of bacteremic urinary tract infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2019;38:695-702.
 33. Lamy B, Dutron S, Haouy S, Saumet L, Marchandin H, Sirvent N. Optimized blood culture strategy to document febrile neutropenia. *Pediatric Res.* 2021;89:1109-1116.
 34. Wilson ML, Mitchell M, Morris AJ, Murray PR, Reimer LG, Reller LB, et al. Principles and procedures for blood cultures: Approved guideline. *Clin Laboratory Standards Institute.* 2007;27(17):4-16.
 35. Rodríguez Díaz JC, Guna Serrano MDR, Larrosa Escartín N, Marín Arriaza M. Procedimientos en microbiología clínica; diagnóstico microbiológico de la bacteriemia y la fungemia: hemocultivos y métodos moleculares. *Soc Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.* 2017:12-15.
 36. Taniguchi T, Tsuchi S, Shiiki S, Narita M. High positivity of blood cultures obtained within two hours after shaking chills. *Internat J Infectious Diss.* 2018;76:23-28.

HEMOCULTIVO: FASE PRE-ANALÍTICA

37. Maldonado N, Robledo C, Munera MI, Capataz-Tafur C, Roncancio G, Franco L, et al. Caracterización de los procedimientos para la realización de hemocultivos en pacientes adultos, en instituciones hospitalarias del Área Metropolitana del Valle de Aburrá. *Asoc Colomb Infect*. 2017;19-25.
38. Dargere S, Cormier H, Verdon R. Contaminants in blood cultures: importance, implications, interpretation and prevention. *Clin Microbiol Infect*. 2018;24:964-969.
39. Doern GV, Carroll KC, Diekema DJ, Garey KW, Rupp ME, Weinstein M P, et al. A comprehensive update on the problem of blood culture contamination and a discussion of methods for addressing the problem. *Clin Microbiol Rev*. 2020;33:1-16.
40. Ombelet S, Barbé B, Affolabi D, Ronat JB, Lompo P, Lunguya O, et al. Best practices of blood cultures in low- and middle-income countries. *Frontiers in Medicine*. 2019;6(131):1-27.
41. Story-Roller E, Weinstein MP. Chlorhexidine versus tincture of iodine for reduction of blood culture contamination rates: a prospective randomized crossover study. *J Clin Microbiol*. 2016;54(12):3007-3009.
42. Hernández-Bou S, Trenchs Sainz de la Maza V, Esquivel Ojeda JN, Giralt AG, Luaces Cubells C. Factores predictores de contaminación ante un hemocultivo con crecimiento bacteriano en Urgencias An Pediatr (Barc). 2015;82(6):426-432.
43. Sard B, Bailey MC, Vinci R. An analysis of pediatric blood cultures in the postpneumococcal conjugate vaccine era in a community hospital emergency department. *Pediatr Emerg Care*. 2006;22:295-300.
44. Segal G, Chamberlain J. Resource utilization and contaminated blood cultures in children at risk for occult bacteremia. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2000;154:469-473.
45. Aldea Mansilla C, Martínez-Alarcón J, Gracia Ahufinger I, Guembe Ramírez M. Microbiological diagnosis of catheter related infections. *Enferm Infecc Microbiol Clin (Engl Ed)*. 2019;37(10):668-672.
46. Miller M, Binnicker MJ, Campbell S, Carroll K, Chapin K, Gilligan P, et al. Guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of Infectious diseases: 2018 Update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology. *IDSA. CID*. 2018;67:e1-e12.
47. Del Pozo León JL, Díez Aguilar M, Guinea Ortega J, Maciá Romero MD. Diagnóstico microbiológico de las infecciones relacionadas con la formación de biopelículas. *Procedimientos en Microbiología Clínica. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC)*. 2017;(60):15-27.
48. Rodríguez Díaz JC, Guna Serrano R, Larrosa Escartín N, Arriaza M. Diagnóstico microbiológico de la bacteriemia y la fungemia: hemocultivos y métodos moleculares. *Procedimientos en Microbiología Clínica. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC)*. 2017;(62):15-16.

Hemocultivo: técnica de recolección

Blood culture: Collection technique

Angela Troncone¹, Tibusay Triana²

RESUMEN

El hemocultivo es el método diagnóstico que se realiza para la detección, identificación y susceptibilidad antimicrobiana de microorganismos en la sangre. El momento de la toma de muestra lo dicta la gravedad del paciente. En situaciones urgentes, como la sepsis, deben ser obtenidos dos o más sets en un intervalo corto de minutos antes del inicio de la terapia empírica inicial. En situaciones menos urgentes, como la endocarditis, deben tomarse al menos una serie de dos sets en 24 horas. En caso de sospecha de bacteriemia relacionada con catéter se deben obtener muestras de sangre de todos los lúmenes del catéter venoso central y de una vena periférica. El volumen de sangre obtenido

para cada hemocultivo es la variable más importante que determina la recuperación de bacterias u hongos en infecciones del torrente sanguíneo, especialmente en niños. El volumen de sangre adecuado para el hemocultivo pediátrico depende principalmente del peso o la edad del paciente. Se recomienda mantener una relación sangre/medio de cultivo de al menos 1:5, entre la muestra y el volumen del medio de cultivo.

Palabras clave: Bacteriemia, hemocultivo, volumen sanguíneo, botella pediátrica, catéter, sepsis.

SUMMARY

Blood culture is the diagnostic method performed for the detection, identification, and antimicrobial susceptibility of microorganisms in the blood. The timing of sample collection is dictated by the severity of the patient. In urgent situations, such as sepsis, two or more sets should be obtained within a short interval of minutes before the start of initial empiric therapy. In less urgent situations, such as endocarditis, at least one series of two sets should be taken in 24 hours. In case of suspected catheter-related bacteremia, blood samples should be obtained from all the lumens of the central venous catheter and a peripheral vein. The volume of blood obtained for each blood culture is the most important variable that determines the recovery of bacteria or fungi in bloodstream infections, especially in children. The appropriate blood volume for pediatric blood culture depends mainly on the weight or age of the patient. It is recommended to maintain a blood/culture medium ratio of at least 1:5, between the sample and the volume of the culture medium.

Keywords: Bacteremia, blood culture, blood volume, pediatric bottle, catheter, sepsis.

DOI: <https://doi.org/10.47307/GMC.2022.130.s4.4>

ORCID: 0000-0002-7740-2628¹

ORCID: 0000-0002-9072-3469²

¹ Infectóloga pediatra.

Hospital Universitario de Caracas. Venezuela
Profesora del Departamento de Pediatría. Escuela de Medicina
"Luis Razetti". Universidad Central de Venezuela

²Infectóloga pediatra. Hospital Dr. Luis Razetti. Barcelona.
Anzoátegui. Venezuela.

Profesora del Departamento de Pediatría. Escuela de Ciencias de
la Salud. UDO Núcleo Anzoátegui

Infectóloga Pediatra. Day Hospital. Lechería. Anzoátegui.
Venezuela.

Autor de Correspondencia: Angela Troncone

Hospital Universitario de Caracas, Universidad Central de
Venezuela

Tel: +584141635496

E-mail: angelatroncone@gmail.com

Recibido: 9 de julio 2022

Aceptado: 4 de agosto 2022

INTRODUCCIÓN

Las infecciones del torrente sanguíneo son una causa importante de morbilidad y mortalidad en pacientes pediátricos. El hemocultivo es el método diagnóstico que se realiza para la detección, identificación y susceptibilidad antimicrobiana de microorganismos en la sangre. Se pueden clasificar según el tipo de paciente (neonatal, pediátrico, adulto), el tipo de toma de muestra (centrales o periféricas); tipo de microorganismo (bacterias aerobias, anaerobias, hongos, bacterias fastidiosas, como el grupo HACEK (*Haemophilus*, *Aggregatibacter*, *Cardiobacterium*, *Eikenella*, and *Kingella*) y especies de *Brucella*; o micobacterias, y según la metodología de los distintos sistemas de identificación (1-3).

NÚMERO DE EXTRACCIONES

Definiciones

1. Set de hemocultivos: es el número de frascos o viales drenados con la sangre obtenida de una única venopunción, inoculada en uno o más frascos. Usualmente consiste de un vial aeróbico y uno anaeróbico (2 viales/set).
2. Serie de hemocultivos: corresponde al conjunto de muestras obtenidas en un período de 24 horas (2).
3. Retrocultivo: cultivo de muestras obtenidas mediante la extracción de sangre a través de todos los lúmenes de un catéter venoso central (CVC).

Es importante el número de sets de hemocultivos y el momento de la toma de la muestra durante un episodio infeccioso. Al menos un set de hemocultivos debe ser tomado en pacientes críticamente enfermos con sospecha de sepsis. En caso de sospecha de endocarditis, deben tomarse al menos una serie de dos sets en 24 horas (2).

El momento de la toma de muestra lo dicta la gravedad del paciente. En situaciones urgentes, como la sepsis, deben ser obtenidos dos o más sets en un intervalo corto de tiempo (minutos) antes del inicio de la terapia empírica inicial. En situaciones menos urgentes, como la endocarditis, las muestras pueden espaciarse en el tiempo (2).

El vial anaeróbico tiene una utilidad más allá de la recuperación de anaerobios “obligados”: *Streptococcus spp.* Grupo *S. milleri*, *Abiotrophia* y *Granulicatella* y algunos anaerobios facultativos, como *E. coli*, crecen mejor y/o más rápido en el vial anaeróbico (1).

Si el paciente tiene un CVC de larga permanencia (30 días o más), y se sospecha de una bacteriemia relacionada con catéter (BRC) se deben obtener muestras mediante la extracción de sangre por venopunción periférica y a través de todos los lúmenes del CVC, con un intervalo entre ambas muestras menores a 5 minutos, empezando por la venopunción periférica. Se debe inocular igual volumen en cada frasco de hemocultivo. Esto nos permite evaluar el tiempo de positividad (TDP). Si la diferencia entre el hemocultivo extraído del catéter y el de vena periférica es ≥ 2 horas indica que el catéter es el origen de la bacteriemia (1-3).

Se sugiere dos extracciones de dos vías venosas diferentes en pacientes inmunocomprometidos sin catéter venoso central (3).

Cada muestra debe colocarse en diferentes frascos de hemocultivo, consignando tanto en los frascos como en la solicitud cuál es la muestra extraída por CVC y cuál por vena periférica. No se recomienda realizar toma de retrocultivo en la hora posterior a la administración de antibióticos por dicho catéter (1,2).

Hay circunstancias en las que es prudente omitir el vial para microorganismos anaerobios y utilizar 2 viales para aerobios, como en el caso de la sospecha de fungemia causada por levaduras, considerando que son gérmenes fuertemente aeróbicos (2).

VOLUMEN A RECOLECTAR

El volumen de sangre obtenido para cada hemocultivo es la variable más importante que determina la recuperación de bacterias u hongos en infecciones del torrente sanguíneo, especialmente en niños. La inoculación de un volumen inadecuado tanto por defecto como por exceso supone una causa frecuente de falsos negativos del hemocultivo $> 50\%$ de los casos. Cuanto menor es el volumen tomado, menor es el índice de detección y mayor es el índice de contaminantes. Por cada mL extra que se inoculara aumenta la tasa de positividad en un 0,6% - 5% (4-6).

Sin embargo, el procedimiento para la toma de muestras de sangre en pacientes pediátricos,

particularmente el volumen sanguíneo óptimo, es objeto de controversia debido a varios obstáculos como el bajo volumen intravascular y el riesgo de causar anemia (3,5).

Datos de Schelonka y col. (8), demostraron que volúmenes de 0,5 mL no eran capaces de detectar bacteriemias de bajo nivel, definidas como aquellas menores a 4 UFC/mL. Hoy se sabe que alrededor de 25 % de las bacteriemias en lactantes tienen un recuento menor a 4 ufc/mL y dos tercios de los lactantes menores de dos meses de edad tienen recuentos menores de 10 UFC/mL. Si los sistemas automatizados pueden detectar hasta 1 UFC/mL, entonces hay que tomar al menos 1 mL de sangre e inocular una botella de hemocultivo aeróbica pediátrica (7,8).

Ohnishi y col., evaluaron durante un período de un año entre junio 2016 a mayo 2017 el volumen

de sangre para botellas de hemocultivo de recién nacidos y niños hasta 18 años. Se instruyó a los examinadores para extraer 3 mL de sangre si era posible. Al determinar la tasa de detecciones positivas no hubo diferencia cuando se incrementó el volumen, por lo que los autores concluyeron que un (1) mL de sangre es adecuado para los frascos pediátricos (9).

En adultos se recomienda obtener 20 a 30 mL de sangre por cada set y, dependiendo del sistema afectado, podrían requerirse más de dos botellas. En pacientes pediátricos, los enfoques actuales para considerar un volumen de sangre adecuado para el hemocultivo pediátrico dependen principalmente del peso o la edad del paciente (5).

En el Cuadro 1 se muestra el volumen de sangre y número de frascos para hemocultivos sugeridos de acuerdo con el peso según IDSA 2018 (2) y Gaur y col. (6).

Cuadro 1

Volúmenes de sangre recomendados para hemocultivos en pacientes pediátricos

Peso del paciente (kg)	Volumen total sanguíneo del paciente (mL)	Volumen total de sangre (mL)	Número de botellas de hemocultivos	% del total del volumen sanguíneo
Menor o igual de 1	50-99	1	1	4
1,1-2,1	1	1	1	4
2,2-11,1	Mayor de 100	1	1	3
11,2-17,1	Mayor de 800	7,5	3	2,5-3
17,2- 37,2	Mayor de 800	11,5	3	2,5
Mayor de 37,3	Mayor de 2 200	16,5	3	1,8-2,7

Modificado de: A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases. IDSA 2018 (2) Gaur, et al. Optimizing blood culture practices in pediatric immunocompromised patients: evaluation of media types and blood culture volume. *Pediatr Infect Dis J.* 2003;22:545-552 (6).

DILUCIÓN DE SANGRE EN FRASCOS

La actividad bactericida de la sangre disminuye el rendimiento de los hemocultivos. Es importante tener presente que la sangre tiene un poder bactericida relacionado con la inmunidad innata (complemento, actividad fagocítica de los leucocitos y lisozimas) sumado al efecto que pudiese tener el uso de antimicrobianos en la madre, previo al parto en el caso de los neonatos (8).

La mayoría de los frascos pediátricos para hemocultivos tienen 20 mL, por lo que se recomienda

mantener una relación sangre/medio de cultivo de al menos 1:5, máximo 1:10, entre la muestra y el volumen del medio de cultivo. Esta dilución permite neutralizar las propiedades bactericidas de la sangre y de los agentes antibacterianos que puedan estar presentes en la muestra. En neonatos y lactantes es complicado lograr esta dilución, por lo que se considera adecuada la extracción de 1 y 2 mL de sangre respectivamente (8).

En el caso de los sistemas automatizados pediátricos, las botellas están diseñadas para mantener la relación 1:5 con volúmenes menores de sangre,

siempre individualizando de acuerdo con el peso del paciente y de los insumos de cada institución (2,4).

REFERENCIAS

1. Arias E, Manzano D, Hernández H, Díaz V, Castañeda J, González N, et al. Toma de hemocultivos: Recomendaciones del Servicio de Infectología Pediátrica y Comité de Infecciones asociadas a la Atención de Salud. Disponible en: https://www.pediatría.gob.mx/archivos/burbuja/5._Recomendaciones_de_toma_de_hemocultivos.pdf.
2. Miller JM, Binnicker MJ, Campbell S, Carroll KC, Chapin KC, Gilligan PH, et al. A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2018 Update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology. *Clin Infect Dis*. 2018;67:1-94.
3. Kusama Y, Shime N, Ito K, Ito Y, Kasai M. Carta al editor: The Volume of Pediatric Blood Culture. *Pediatr Infect Dis J*. 2019;38(12):e340-341.
4. Hernández-Bou S, Álvarez C, Campo Fernández M, García Herrero M, Gené A, Giménez Pérez M, et al. Hemocultivos en urgencias pediátricas. Guía práctica de recomendaciones: indicaciones, técnica de extracción, procesamiento e interpretación. *An Pediatr (Barc)*. 2016;84(5):294e1-9.
5. Huber S, Hetzer B, Crazzolara R, Orth-Holler D. The correct blood volume for paediatric blood cultures: A conundrum? *Clin Microbiol Infect*. 2020;26(2):168-173.
6. Gaur AH, Giannini MA, Flynn PM, Boudreaux JW, Mestemacher MA, Shenep JL, et al. Optimizing blood culture practices in pediatric immunocompromised patients: evaluation of media types and blood culture volume. *Pediatr Infect Dis J*. 2003;22:545-552.
7. Izquierdo G, García P, Aravena M, Delpiano L, Reyes A, Cofré F, et al. Hemocultivos en recién nacidos: optimizando la toma de muestra y su rendimiento. Comité Consultivo de Infecciones Neonatales de la Sociedad Chilena de Infectología. *Rev Chil Infectol*. 2018;35(2):117-122.
8. Schelonka R, Chai M, Yoder B, Hensley D, Brockett R, Ascher D. Volume of blood required for detect common neonatal pathogens. *J Pediatr*. 1996;129(2):275-278.
9. Ohnishi T, Kamimaki I, Kobayashi R, Nakatogawa K, Amemiya A, Mishima Y, et al. Verification of blood volume for blood culture and detection rate in pediatrics. *J Infect Chemother*. 2020;26(5):471-474.

Hemocultivo: transporte, conservación, recepción, criterios de rechazo y bioseguridad

Blood culture: Transport, conservation, reception, rejection criteria and biosafety

Jacqueline de Izaguirre¹, Gerardine García Oronoz², Roque Aouad³

RESUMEN

La detección de la bacteriemia y la fungemia constituye una de las prioridades en el ejercicio médico y microbiológico ya que se asocia con una elevada mortalidad, es por esto su importancia diagnóstica en el manejo de los pacientes.

A lo largo de los años se han producido importantes cambios en la incidencia y en la etiología de la bacteriemia y la fungemia, así como en los métodos para detectarlas; por eso se ha considerado imprescindible revisar y poner al día los procedimientos óptimos para que el principal medio para detectarlos, como es el hemocultivo, se lleven a cabo en condiciones óptimas y por tanto contar con la disposición de protocolos de trabajo normatizados.

Los protocolos de cada centro deben adaptarse a las características propias del mismo en relación con los recursos humanos y materiales disponibles, horario de funcionamiento del laboratorio, tipo de pacientes

y tasas de resistencia local. Es muy importante tener en cuenta que la utilidad de los resultados disminuye de forma notoria si estos no se comunican de forma inmediata a los responsables del manejo del paciente para que puedan adoptarse las decisiones adecuadas en función de esta información.

Se desarrolla lo concerniente al manejo de los hemocultivos su transporte, conservación, recepción, registro, criterios de rechazo y precauciones en la bioseguridad.

Palabras clave: Hemocultivo, transporte, recepción, bioseguridad

SUMMARY

The detection of bacteremia and fungemia is one of the priorities in medical and microbiological practice since it is associated with high mortality, which is why its diagnostic importance in the management of patients. Over the years there have been important changes in the incidence and etiology of bacteremia and fungemia, as well as in the methods to detect them; for this reason, it has been considered essential to review and update the optimal procedures so that the main

DOI: <https://doi.org/10.47307/GMC.2022.130.s4.5>

ORCID: 0000-0002-3563-9053¹

ORCID: 0000-0003-2100-6156²

ORCID: 0000-0001-8945-6095³

¹Coordinadora: Jacqueline De Izaguirre, Pediatra Infectólogo, Policlínica Metropolitana. Caracas. Policlínica Metropolitana. Caracas.

E-mail: jdeizaguirre@hotmail.com

Tel: (+ 58) 4143256437

Recibido: 9 de julio 2022

Aceptado: 4 de agosto 2022

²Pediatra Infectólogo, IVSS Hospital de Niños "Dr. Jesús García Coello".

E-mail: gago1611@yahoo.com.

Tel: (+58) 412-6439572

³Pediatra Infectólogo

E-mail: Atra1962@gmail.com.

Tel: (+58) 414-4613612

means of detecting them, such as blood cultures, are carried out in optimal conditions and therefore have the provision of standardized work protocols.

The protocols of each center must be adapted to its own characteristics in relation to available human and material resources, laboratory operating hours, type of patients, and local resistance rates. It is very important to bear in mind that the usefulness of the results decreases markedly if they are not immediately communicated to those responsible for managing the patient so that appropriate decisions can be made based on this information.

It is developed aspects related to the handling of blood cultures with respect to transport, conservation, reception, registration, rejection criteria, and biosafety precautions.

Keywords: *Blood culture, transport, reception, biosafety.*

TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS

La detección de infecciones del torrente sanguíneo es una de las funciones más importantes de la Microbiología Clínica y para llevar adecuadamente esta función tan importante, es necesario la precisión y la confiabilidad de los hemocultivos (1).

La implementación de protocolos estandarizados y consensuados para la obtención y procesamiento de hemocultivos, que incluyan la fase pre-analítica, analítica y pos-analítica, ha demostrado ser efectiva para reducir y mantener las tasas de contaminación de hemocultivos por debajo del 3,0 % recomendado (2).

La automatización y la amplia variedad de técnicas rápidas utilizadas en el laboratorio han hecho que el diagnóstico microbiológico tenga la rapidez y precisión necesaria para poder generar un diagnóstico de calidad y clínicamente relevante; sin olvidar que, los resultados microbiológicos siguen dependiendo en gran medida de la calidad y el procesamiento de las de las muestras. Por lo tanto; conocer el tipo de muestra, el momento adecuado y la manera de obtención, su conservación y transporte determinará la rentabilidad de la misma en el proceso infeccioso (3).

Los médicos necesitan la confianza que los resultados proporcionados por el laboratorio de microbiología sean precisos, significativos y

clínicamente relevantes. Para proveer ese nivel de calidad, sin embargo, el laboratorio requiere que todas las muestras de microbiología sean seleccionadas, recolectadas y transportadas para optimizar el análisis y la interpretación. Debido a todo lo anteriormente expuesto la interpretación de los resultados en microbiología depende enteramente de la calidad de la muestra enviada para análisis, por lo cual el manejo de la muestra no puede dejarse al azar, así como el laboratorio debe proporcionar resultados precisos, incluida la garantía de que las muestras lleguen al laboratorio para el análisis lo más rápido posible después de la recolección (4).

Los hemocultivos debidamente identificados, deben transportarse al laboratorio de inmediato. Sólo deben mantenerse a temperatura ambiente durante cortos períodos de tiempo para no afectar la posterior recuperación de los microorganismos. Los hemocultivos nunca deben ser refrigerados ya que además de retrasar el crecimiento bacteriano, podría afectar a la viabilidad de los microorganismos (5).

Si no pueden ser enviados inmediatamente al laboratorio se incubarán en una estufa a 35-37°C. Los hemocultivos que van a ser procesados en sistemas automáticos pueden mantenerse a temperatura ambiente o a 35-37°C. El tiempo máximo que pueden permanecer a temperatura ambiente antes de ser introducirlos en el sistema nunca debe superar las 18 h. Si han sido incubados a 35-37°C, deben ser introducidos en los aparatos automáticos antes de que transcurran 12 h (6).

RECEPCIÓN Y REGISTRO DE LOS HEMOCULTIVOS

INSPECCIÓN INICIAL

A su llegada al laboratorio se debe verificar que los hemocultivos estén correctamente identificados. Cada hemocultivo debe ser identificado con los datos del paciente (número de historia clínica, nombre y apellidos, servicio, planta, número de cama), así como el nombre del médico que lo solicita, el diagnóstico del paciente, el tratamiento antimicrobiano que está recibiendo y el tipo de análisis que se requiere (hemocultivo convencional o para microorganismos de crecimiento lento) (6).

Se recomienda examinarlos cuidadosamente para comprobar que pueden ser manejados con seguridad, que estén íntegros, sin roturas o fisuras, que su identificación es correcta, que el volumen de sangre sea adecuado y para detectar macroscópicamente signos de crecimiento (6).

El retraso en la incubación de los hemocultivos puede comprometer la detección y recuperación de algunos microorganismos siendo causa de demora en la positividad o incluso de falsos negativos. Debido a que es vital la información rápida de todos los resultados, incluidos los preliminares, es muy importante que toda petición de hemocultivo tenga, además del diagnóstico de sospecha, la información necesaria para que se pueda localizar al médico responsable del paciente de forma fácil y rápida.

CRITERIOS DE RECHAZO

En general, no se rechaza nunca un hemocultivo dada la importancia del diagnóstico de bacteriemia, salvo cuando existan serias dudas en cuanto a la identificación de la muestra, los frascos estén dañados o contaminados (6). Sin embargo, las muestras deficientemente identificadas no se deben aceptar, si una muestra viene sin identificar, mal identificada o en la que no coincida la identificación del volante de petición con la de la muestra, no debería recibirse; y se debería contactar con el tratante haciéndole conocer la necesidad de que procedan a la correcta identificación de la muestra (7).

Es muy importante establecer los errores, debido a que una muestra rechazada genera retrocesos porque se debe solicitar nuevamente, lo que implica demora en un resultado necesario para tomar una decisión adecuada o para dar de alta a un paciente que no requiere más estancia hospitalaria, genera pérdida de insumos y de tiempo, etc.; todo esto implica riesgos para el paciente y conlleva a pérdidas para la institución porque aumenta los costos (8).

PRECAUCIONES DE BIOSEGURIDAD

Aunque existe la concepción generalizada, que el personal del laboratorio clínico es el encargado y responsable de todo el proceso, lo cierto es

que este involucra un número significativo de profesionales, técnicos y personal calificado.

Cada profesional del área de la salud debe tener un conocimiento mínimo para la toma de muestras microbiológicas y las condiciones necesarias para el transporte hasta el laboratorio de microbiología. Es en esta fase, preanalítica, es donde se suceden hasta el 70 % de los incidentes que terminan generando errores residuales y variables que pueden afectar los resultados de la(s) prueba(s) y/o la afectación de los miembros del equipo sanitario (8,9).

Conocer tipo de muestra, momento adecuado y manera de obtención, conservación y transporte determinará la rentabilidad de la misma ante el proceso infeccioso, ya que el vehículo más importante de transmisión ocupacional es la sangre y sus derivados (10,11).

Para comprender los vínculos entre las prescripciones de prevención y el trabajo efectivo, parece inevitable movilizar el concepto en términos de seguridad, la tarea prescrita trata de identificar los riesgos "objetivos" que pueden provocar accidentes y cómo minimizarlos (12). El seguimiento de las pautas establecidas para la toma de muestras, permitirá evitar inconvenientes como la contaminación, accidentes laborales, material insuficiente o retrasos inusitados para el inicio del proceso analítico, además, una adecuada y segura toma de la muestra juega un papel decisivo en el apoyo al comité de infecciones para el diagnóstico preciso de las Infecciones Asociadas a la Atención en Salud (13).

En todos los procesos para tomar muestras se deben seguir las indicaciones para higiene de manos que incluyen los cinco momentos según la Organización Mundial de la Salud (14).

Los Laboratorios Microbiológicos y los servicios de extracciones reportan un buen número exposiciones accidentales, donde las inoculaciones percutáneas son por mucho las más frecuentes. La manipulación inapropiada puede convertirse en una fuente de riesgo biológico para las personas que están en contacto o para el medio ambiente, estos procesos poseen normativas y regulaciones en nuestro país (15).

La consecución de adecuados niveles de seguridad y salud en lo que a la exposición a agentes biológicos se refiere, están precedidos por

el cumplimiento de las Precauciones Universales o estándares y las recomendaciones específicas por áreas o unidades (15).

El uso de elementos de protección personal necesarios para evitar exposición con riesgo biológico (gafas o mascarilla con visera, tapabocas o mascarilla que cubra nariz y boca, guantes, bata, contenedores para especímenes a prueba de fugas y de fácil sellamiento), la desinfección usando productos para tal fin (hipoclorito sódico, formaldehído, glutaraldehído, povidona yodada, gluconato de clorhexidina, biosidas) y la vacunación contra la Hepatitis B de todo el personal sanitario, debe ser dogmas sine qua non, máxime si existe riesgo de manejar material punzocortante. Debe considerarse también el uso de quimioprofilaxis e inmunoglobulinas según sea necesario, particularmente en el caso del Virus de Hepatitis B y VIH (15-17). El manejo concienzudo de elementos cortopunzantes (no reenfundar agujas, disponer y utilizar adecuadamente el contenedor para cortopunzantes, no transportar jeringas con agujas, entre otros) deben conformar precauciones universales y códigos de buena práctica (18) y en caso de accidente con riesgo biológico, avisar inmediatamente según las recomendaciones del protocolo de accidente de trabajo con riesgo biológico institucional, ya que luego de un piquete, el riesgo de infección de un trabajador sanitario depende del patógeno en cuestión, la condición inmunológica del trabajador, la gravedad de la lesión por el piquete, la disponibilidad y uso de la profilaxis adecuada luego de la exposición (17).

REFERENCIAS

- Weinstein MP, Doern GV. A critical appraisal of the role of the clinical microbiology laboratory in the diagnosis of bloodstream infections. *J Clin Microbiol*. 2011;49(9 Suppl):S26-S29.
- Maldonado N, Nagles J, Robledo C, Munera MI, Capataz-Tafur C, Roncancio G, et al. Caracterización de los procedimientos para la realización de hemocultivos en pacientes adultos, en instituciones hospitalarias del Área Metropolitana del Valle de Aburrá. *Infect*. 2018;22(1):19-25.
- Sánchez-Romero MI, García-Lechuz Moya JM, González López JJ, Orta Mira N. Collection, transport and general processing of clinical specimens in Microbiology laboratory. *Enfermedades Infecc Microbiol Clínica (English ed.)*. 2019;37(2):127-134.
- Miller JM, Binnicker MJ, Campbell S, Carroll KC, Chapin KC, Gilligan PH, et al. A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2018 Update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology. *Clin Infect Dis*. 2018;67(6):e1-e94.
- Kirn TJ, Weinstein MP. Update on blood cultures: how to obtain, process, report, and interpret. *Clin Microbiol Infect*. 2013;19(6):513-520.
- Ferrete Morales C. Protocolo extracción de hemocultivos. España: Hospital Universitario de VALME Unidad Clínica de Enfermedades Infecciosas y Microbiología; 2012 Disponible en: https://elenfermerodelpendiente.files.wordpress.com/2016/01/protocolo_extraccion_hemocultivos_2011.pdf
- Fernández de Bobadilla E, Planes A, Rodríguez M. Procedimientos en Microbiología Clínica, Hemocultivos. 2003. Coordinador Fernández de Bobadilla E, Ed Cercenado E, Cantón R. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, Madrid. S.E.I.M.C.2003: 4-5. ISBN: 84-609-2289-8.
- Quiroz-Arias C. Errores preanalíticos en el laboratorio clínico de un hospital de tercer nivel: prueba piloto. *Salud Barranquilla*. 2010;26(2):189-200.
- Plebani M. The detection and prevention of error in laboratory medicine. *Ann Clin Biochem*. 2010;47:101-110.
- Baron EJ, Miller JM, Weinstein MP, Richter SS, Gilligan PH, Thomson RB Jr, et al. A guide to utilization of the Microbiology Laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2013. Recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM). *Clin Infect Dis*. 2013;57:e 22-e121.
- Mayo FF. Riesgo Laboral en la Atención Primaria de Salud. [Tesis Doctoral]. Universidad de Compostela, Santiago de Compostela 2007. Disponible en: <https://books.google.co.ve/books?id=AqAeyAneEgC&pg=PA89&lpg=PA89&dq=El+veh%C3%ADculo+m%C3%A1s+importante+de+transmisi%C3%B3n+ocupacional+es+la+sangre+y+sus+derivados.&source=bl&ots=4uuG5KR4I2&sig=ACfU3U2hucRxIA6zbiB G37c6djDekNV6RQ&hl=es419&sa=X&ved=2ahUKEwj1s5K0pr2AhXTRjABH e Q s C s Q Q 6 A F 6 B A h D E A M #v=onepage&q=El%20veh%C3%ADculo%20m%C3%A1s%20importante%20de%20transmisi%C3%B3n%20ocupacional%20es%20la%20sangre%20y%20sus%20derivados.&f=false>

12. Cottin I, Vallery G, Dahak S. Uso situado de los EPP (equipos de protección personal) frente al riesgo biológico: ejemplo de un laboratorio seguro de contención de nivel 3. *Laboreal*. 2016; 12(2):56-74.
13. Christenson JC, Korgenski EK, Relich R. *Laboratory Diagnosis of Infection Due to Bacteria, Fungi, Parasites, and Rickettsiae. Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases (Fifth Edition)*. 2018; 1422-1434.e3.
14. World Health Organization 2009 WHO Guidelines on Hand Hygiene in Health Care First Global Patient Safety Challenge Clean Care is Safer Care. WHO guidelines on hand hygiene in health care. Disponible en: https://www.who.int/gpsc/5may/tools/who_guidelines-handhygiene_summary.pdf
15. Gaceta Oficial de la República Bolivariana de Venezuela. N° 5554 Ext. del 13-11-2001. Ley sobre sustancias, materiales y desechos peligrosos. Disponible en: http://www.minpet.gob.ve/images/biblioteca/leyes/ley_sustancias_materiales_desechos_peligrosos.pdf
16. OMS/OPS 2007. Alerta y respuesta ante epidemias pandémicas. Control de Infecciones. Precauciones estándares en la atención de la salud. Disponible en: https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2009/10_EPR_AM2_E7_SPAN_HR.pdf.
17. OMS/OPS 2020. Requerimientos para uso de equipos de protección personal (EPP) para el nuevo coronavirus (2019-nCoV) en establecimientos de salud. (Recomendaciones interinas, 2/6/2020). Disponible en: <https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/51905/requirements-%20PPE-coronavirus-spa.pdf?sequence>
18. CDC/Instituto Nacional para la Seguridad y Salud Ocupacional (NIOSH). Riesgo de infección luego de una lesión por piquete. Disponible en: https://www.cdc.gov/spanish/niosh/docs/2000-108_sp/riesgo.html.
19. CDC/Instituto Nacional para la Seguridad y Salud Ocupacional (NIOSH). Prevención de lesiones por pinchazos (piquetes de aguja) en entornos clínicos. Disponible en: https://www.cdc.gov/spanish/niosh/docs/2000-108_sp/resumen.html.

Contenido de frascos y métodos para realizar hemocultivos

Bottle content and methods for blood cultures

Elio Jesús Núñez Tamayo

RESUMEN

El hemocultivo es el único examen utilizado hasta el momento para el diagnóstico de septicemia. Los medios utilizados en los hemocultivos son polivalentes y enriquecidos nutricionalmente. Se emplean distintos caldos nutritivos, pero todos han demostrado que no existe un medio de cultivo que pueda considerarse superior a todos los demás. Existen métodos manuales y automatizados, pero independientemente del método de identificación usado, este siempre debe acompañarse de la realización de un antibiograma directamente o no de la sangre del hemocultivo positivo.

Palabras clave: Hemocultivo, septicemia, diagnóstico, bacteriemia, fungemia.

SUMMARY

Blood culture is the only test used to date for the diagnosis of sepsis. The media used in blood cultures are polyvalent and nutritionally enriched. Different nutrient broths are used, but all have shown that no culture medium can be considered superior to all others. There are manual and automated methods, but regardless of the identification method used, it should always be accompanied by performing an antibiogram, directly or not, of the blood from the positive blood culture.

Keywords: Blood culture, septicemia, diagnosis, bacteriemia, fungemia.

INTRODUCCIÓN

Los medios utilizados en los hemocultivos son polivalentes y enriquecidos nutricionalmente. Las variaciones en la composición de un mismo tipo de medio entre los diferentes fabricantes dificultan establecer comparaciones y sacar conclusiones acerca del rendimiento comparativo para el crecimiento bacteriano de cada uno (1).

Suelen emplearse distintos caldos nutritivos en los frascos, como tripticasa soya, peptona suplementada, infusión de cerebro y corazón, caldo Brucella, caldo Columbia, tioglicolato y caldo de peptona suplementado y en ocasiones medios con resinas para neutralizar los antimicrobianos cuando el paciente está

DOI: <https://doi.org/10.47307/GMC.2022.130.s4.6>

ORCID: 0000-0002-9416-0640

BIOCIENTÍFICA INDUSTRIAL CA, Tel: 0058241-8313491 /
0058-4145921472

Autor de correspondencia: Elio Jesús Núñez Tamayo
E-mail: elioluisnunez@gmail.com

Recibido: 9 de julio 2022
Aceptado: 4 de agosto 2022

recibiendo tratamiento antibiótico previo (2). Estudios comparativos han demostrado que no existe un medio de cultivo que pueda considerarse superior a todos los demás (1,2).

Cada compañía desarrolla diferentes frascos con especificaciones concretas; en general, existen frascos diseñados para aislamiento de bacterias aerobias y anaerobias facultativas y frascos para aislamiento de anaerobios facultativos y estrictos. También existen frascos optimizados para pequeños volúmenes de sangre, útiles en pediatría y los selectivos para Micobacterias u hongos que se pueden utilizar en casos específicos (3).

En Venezuela existe una serie de frascos de hemocultivos con una fórmula mejorada de infusión cerebro corazón y tioglicolato con un indicador de positividad, tanto para métodos convencionales como manométricos, cuya marca está registrada con el nombre de hemoBlood®.

En los diferentes métodos de procesamiento de muestra pueden encontrarse frascos con cualquiera de estos caldos de inoculación. Los frascos para hemocultivos principales son similares en todos los sistemas de caldos (1), tanto para los métodos manuales como automatizados.

La mayoría de los frascos de hemocultivo llevan incorporado un anticoagulante, frecuentemente SPS (polianetol sulfonato sódico) a una concentración del 0,006 al 0,050 %. El SPS es capaz de neutralizar la actividad bactericida del suero e inhibir la acción de algunos antibióticos como aminoglucósidos y polimixinas por lo que estas ventajas que aporta minimizan el hecho de que puede interferir en el crecimiento de algunas especies bacterianas de los géneros *Neisseria spp.*, *Streptococcus spp.* y *Gardnerella spp.* (1,3).

Como frecuentemente los hemocultivos se extraen en pacientes que están recibiendo tratamiento antibiótico, se emplean partículas de carbón o resinas para neutralizar el efecto de los mismos. Las resinas además están diseñadas para neutralizar los componentes de la cascada del complemento presentes en la sangre. Algunos medios de crecimiento incorporan agentes líticos que favorecen la recuperación de microorganismos incluidos en interior de los fagocitos (3).

El medio de cultivo se embotella al vacío con una atmósfera que contiene cantidades variables de CO₂.

Métodos manuales

1. Convencional. Es un método técnicamente muy simple que se basa en la observación macroscópica de los signos de crecimiento de una pareja de frascos con medio de cultivo líquido en los que se ha inoculado la sangre del paciente. Existe una amplia variedad de medios de cultivo. Los más frecuentemente utilizados son infusión cerebro corazón y caldo tioglicolato y en ocasiones medios con resinas para neutralizar los antimicrobianos cuando el paciente está recibiendo tratamiento antibiótico previo.

El potencial de óxido-reducción del medio, si no se ventila, es lo suficientemente bajo como para permitir el crecimiento de bacterias anaerobias. Uno de los dos frascos, después de la inoculación, se ventila por medio de una aguja, permitiendo la entrada de oxígeno atmosférico en su interior y la creación de una atmósfera aerobia. La temperatura de incubación oscila entre los 35°C y los 37°C, la que más se aproxima a la temperatura corporal y la que ha demostrado un mayor aislamiento de microorganismos durante un período más corto.

La mayoría de los potenciales patógenos responsables de bacteriemia se aísla en los hemocultivos entre las 18 y 72 horas siguientes del inicio de su incubación. Más del 95 % de los microorganismos se aíslan durante la primera semana, lo que motiva que se mantenga la incubación durante 7 días. Existen, no obstante, algunos patógenos y situaciones en los que se precisa más tiempo para su crecimiento como los hongos, microorganismos del género *Brucella* y algunos microorganismos causantes de endocarditis (*Cardiobacterium*, *Eikenella*) por lo que, ante la sospecha de cualquiera de estas circunstancias, se debe referir en la orden médica y se prolonga el proceso de incubación hasta 4 semanas (1,4).

Los frascos se observan diariamente para detectar signos visibles de crecimiento bacteriano como el enturbiamiento del medio, la hemólisis de los hematíes, la producción de gas o la formación

de colonias en el fondo del frasco. Solo se detecta crecimiento macroscópico a partir de 100 000 UFC/mL.

El problema de la detección macroscópica, además del retraso, estriba en la presencia de falsos positivos y falsos negativos. Hay causas ajenas al crecimiento bacteriano que pueden enturbiar el medio o hemolizar los hematíes y, por el contrario, hay microorganismos que pueden crecer sin producir ningún signo macroscópico de crecimiento. Ello obliga a complementar la visualización macroscópica con el examen microscópico.

La técnica microscópica más utilizada es la tinción de Gram. Con ella pueden visualizarse microorganismos cuando su concentración se aproxima a los 100 000 UFC/mL. Debido a que consume una importante cantidad de tiempo, puede ser sustituida por la tinción con naranja de acridina, con la que contrastan mejor las bacterias con el fondo y se visualizan los microorganismos con concentraciones bacterianas de 10 000 UFC/mL. La detección del crecimiento con naranja de acridina es más rápida (4) y permite obviar el Subcultivos ciego rutinario tras las primeras 18-24 horas de incubación (1). A los 7 días de incubación, antes de desechar los frascos como negativos, se realizará un subcultivo ciego. El examen microscópico de hemocultivos sin signos de crecimiento ha demostrado ser de poco valor (1).

2. Bifásico. El frasco para hemocultivo con un medio bifásico está compuesto de una fase sólida y otra líquida. Al inclinar el frasco, el medio líquido cubre totalmente el medio sólido, realizando un subcultivo en el mismo cuantas veces se desee, sin necesidad de abrir la botella. Este medio supuso un significativo avance en el rendimiento de los aislamientos de *Brucella spp.* En la mayoría de los procesos agudos, tras incubar el medio 2-4 días, es posible observar en la fase sólida pequeñas colonias que se deslizan por el agar en forma que recuerdan las lágrimas de cera resbalando por la vela. Una pequeña proporción de casos presenta el crecimiento entre los 5-15 días, y sólo de forma excepcional, este se retrasa hasta pasados 30-45 días (1,5,6).

Se han introducido variaciones de este sistema como el Septi-Check (Hoffman-La Roche) y el Opticult (Becton-Dickinson). Los frascos se

inoculan con la sangre y a su llegada al laboratorio se abre el tapón y se sustituye este por un cilindro roscado que contiene distintas superficies con diferentes tipos de agar. Cada día, al inspeccionar el frasco, se invierte este para hacer que la sangre y el caldo bañen el agar y realizar así un subcultivo. Con este procedimiento la detección de bacterias y hongos es tan buena o mejor que con el método convencional y más rápida. Pero tiene el inconveniente de no permitir un adecuado aislamiento de anaerobios, ya que ha de abrirse la botella para la colocación del mencionado cilindro. Necesita, por tanto, ser complementado con un frasco con atmósfera anaerobia (2).

3. Lisis-filtración. En este método, tras la lisis de las células sanguíneas, se procede a filtrar la sangre para retener las bacterias. El filtro utilizado, o fragmentos del mismo, se siembra en distintos medios de cultivo (1,2).

Las técnicas de lisis-filtración han sido utilizadas desde hace muchos años y el mejor resumen de su situación actual lo representa el hecho de que todavía no han llegado a ser introducidas en el mercado. Ello es debido a que, junto a un indudable rendimiento, requieren un elevadísimo tiempo de manejo en el laboratorio, lo que las hace irrealizables con carácter rutinario.

4. Lisis-centrifugación. El método de lisis-centrifugación es la base del sistema Isolator (DuPont). Consiste en un tubo que contiene saponina como agente lisante, polipropilenglicol como agente antiespumante, SPS y EDTA como anticoagulantes y un líquido fluorquímico inerte. Tras la inoculación de la sangre, esta se mezcla con el contenido del tubo para conseguir la lisis de las células. A continuación, para separar los microorganismos y los elementos sanguíneos, se centrifuga el tubo a 3 000 rpm durante 30 minutos. Después se desecha el sobrenadante y se siembra el sedimento en distintos medios de cultivo (3).

Con el sistema Isolator se consigue una mayor recuperación de microorganismos y más rapidez que con los métodos convencionales. Detecta más y con mayor rapidez la presencia de levaduras que cualquier otro sistema. Sus mayores inconvenientes derivan de la necesidad de procesar cada muestra individualmente y dentro de los 30 minutos posteriores a su extracción, de su laborioso manejo y de la alta incidencia

de contaminaciones que genera (3). El sistema es caro y por todo ello no es una alternativa a otros métodos, pero es complementario de ellos, por las ventajas apuntadas y por la facilidad con la que el sistema permite hacer recuentos del número de colonias presentes en sangre, dato que se utiliza cada vez más en el diagnóstico de las bacteriemias relacionadas con catéteres intravasculares.

El método de lisis centrifugación es ideal para validar la técnica del tiempo diferencial de positividad en el caso de que sospeche que el origen de la bacteriemia es el catéter y consiste en comparar el tiempo que tardan los frascos en dar un resultado positivo, comparando el tiempo de los frascos de hemocultivos extraídos de sangre periférica con los obtenidos a través de cada luz del catéter. La cuantificación se puede hacer utilizando tubos de lisis centrifugación obtenidos de las diferentes localizaciones: tras centrifugación de los mismos se realiza un cultivo cuantitativo en placas de agar, considerándose que hay infección en el catéter si el número de bacterias en la muestra obtenida a su través es tres veces superior al de la sangre obtenida por vía periférica, aislándose en ambos casos la misma especie bacteriana (3).

5. Manométrico. El método manométrico es el empleado por el sistema Signal de Oxoid. Consta de una botella con caldo de cultivo a la que, una vez inoculada, se le acopla una pequeña cámara con una aguja que llega hasta el fondo del medio líquido. La producción de gas durante el crecimiento bacteriano provoca un aumento de la presión dentro de la botella que desplaza el medio de cultivo líquido a través de la aguja introduciéndose dentro de la mencionada cámara. La presencia de medio de cultivo en la cámara, por tanto, indica crecimiento bacteriano de manera rápida y sencilla. Su rendimiento es variable según los estudios, pero su principal inconveniente son los falsos positivos, que se pueden reducir calentando los frascos previamente. Agitando los frascos los 2 primeros días se aumenta la tasa de recuperación de microorganismos (6).

Sistemas automáticos

El desarrollo de los métodos automatizados para el procesamiento de los hemocultivos

ha supuesto un avance sustancial ya que los frascos se introducen en sistemas de incubación automatizados (diferentes según la compañía empleada) que mantienen la temperatura de los mismos a unos $36 \pm 1^\circ\text{C}$. Estos sistemas constan de una serie de celdas individuales con agitación continua para facilitar la multiplicación bacteriana y realizan una monitorización periódica para la detección de frascos positivos (3).

1. Radiométrico y no radiométricos. El Bactec 460 (Becton Dickinson) radiométrico fue el primer sistema comercial de hemocultivos automático. Utiliza sustratos marcados con C^{14} que al ser metabolizado por los microorganismos libera CO_2^{14} al medio, que difunde a la atmósfera del frasco. En esta atmósfera se mide periódicamente el de CO_2^{14} y se expresa como un índice de crecimiento cuando se compara con los niveles de CO_2 en frascos de control. La lectura está totalmente automatizada y se realiza por medio de una cabeza móvil provista de dos agujas que perforan los tapones de goma de los frascos. Su principal inconveniente es el manejo y posterior eliminación de los residuos radiactivos. En la actualidad ha sido superado por otros sistemas y sólo se utiliza para el nivel cultivo de micobacterias.

Los sistemas Bactec NR-660 y NR-730 no radiométricos, muy parecidos al anterior, detectan el CO_2 por espectrometría de infrarrojos. Utilizan un agitador para los frascos aerobios en las primeras 24-48 h. Se recomiendan dos lecturas diarias los primeros 3 días y una lectura diaria hasta que se cumplan 5-7 días.

2. Sistemas automáticos de monitorización continua. En los últimos años se han introducido varios sistemas comerciales que, eliminando toda manipulación, realizan agitación continua de los frascos, monitorización continua con notificación inmediata de los resultados positivos y utilizan técnicas no invasoras para la lectura. Se basan en la detección de la producción de CO_2 por los microorganismos y difieren en el método de detección de este, en la capacidad de los frascos, en el tipo de medio de cultivo utilizado, en la frecuencia de lectura y en la capacidad máxima de los incubadores. Los datos obtenidos en cada lectura se transmiten a un ordenador donde se almacenan y se analizan según sofisticados algoritmos que determinan cuando se produce

crecimiento bacteriano, a la vez que minimizan el número de falsos positivos y falsos negativos. Todos los sistemas han demostrado su utilidad en la detección de la bacteriemia (2,6,7).

El Bactec-9240 (Becton Dickinson) es un sistema totalmente automático, no invasor, de agitación continua, que se compone de un incubador, un detector y un ordenador. El CO₂ producido por el metabolismo bacteriano reacciona con un material fluorescente situado en el fondo del frasco del hemocultivo, lo que modula la cantidad de luz que es absorbida por un sensor. Los fotosensores miden el nivel de fluorescencia, que se corresponde con la cantidad de CO₂ producida por el microorganismo. Esta medida es interpretada por el sistema de acuerdo con unos parámetros programados. Este sistema realiza una lectura de todos los frascos cada 10 minutos y mediante un sistema luminoso de alarma indica los frascos positivos detectados en cada lectura.

El BacT/Alert (Organon Teknica) fue el primer sistema comercial no invasor de agitación y monitorización continua de cada frasco. Es un sistema automatizado que permite incubar, agitar y controlar continuamente el crecimiento de microorganismos aerobios, facultativos y anaerobios. Detecta el aumento y/o nivel total de CO₂ producido por el crecimiento microbiano utilizando un sensor colorimétrico interno pegado al fondo de los frascos. A medida que cambia el color del sensor, la cantidad de luz reflejada se incrementa y es cuantificada como un aumento del voltaje. Las señales se analizan en un ordenador por medio de un algoritmo que utiliza tres criterios como evidencia de crecimiento. La lectura se realiza cada 10 minutos. Se trata de un sistema no invasivo basado en tecnología colorimétrica ya que detecta el crecimiento bacteriano porque este ocasiona un aumento en la producción de CO₂ en el medio y por tanto una modificación del pH que se traduce en un cambio de color en el sensor de la base. Permite la carga y descarga automática de frascos de cultivo con estabilidad térmica de los frascos incubados, lo que supone un menor tiempo de recuperación de los microorganismos. Tiene una cinta transportadora que introduce y extrae los frascos en el sistema y también dispone de un sistema de alerta sobre la existencia de un defecto o exceso en el volumen de sangre inoculada (3,6,7).

El sistema BDBACTECTMFX es también un sistema automático y modular de monitorización continua destinado a la detección del crecimiento bacteriano en hemocultivos mediante un sensor fluorimétrico de gases integrado en el vial del hemocultivo; los fotodetectores presentes en cada una de las estaciones del instrumento miden el nivel de fluorescencia emitido por cada vial, que se corresponde con la cantidad de CO₂ liberado por los microorganismos. También dispone de un sistema para controlar el volumen de sangre inoculada. Cada instrumento tiene una capacidad de 400 viales y existen sistemas satélites de 40 viales que pueden situarse fuera del laboratorio de Microbiología y por tanto facilitan el procesamiento rápido de las muestras (2,3).

El sistema Vital (bioMerieux) difiere de los anteriores en que incorpora un indicador fluorescente en el medio de cultivo. Como consecuencia del metabolismo microbiano se producen cambios en el pH, en el potencial redox o en el nivel de CO₂ que provocan una disminución de la fluorescencia del indicador. Esta fluorescencia se lee cada 15 minutos por medio de un detector diodo/fotón luminiscente no invasor. Algunos trabajos han demostrado una cierta dificultad de este sistema en la detección de las levaduras (7).

El ESP (Difco Laboratories) es un sistema automático no invasor en el que los frascos se colocan en cajones y los de anaerobios no se agitan. Monitoriza cada frasco cada 12 minutos y el crecimiento se mide por un método manométrico que detecta el consumo y/o la producción de gas.

Independientemente del método de identificación usado, este siempre debe acompañarse de la realización de un antibiograma directamente o no de la sangre del hemocultivo positivo (3,6).

REFERENCIAS

1. Koneman. Introducción a la microbiología (II) Guías para la recolección, el transporte, el procesamiento, el análisis y el informe de los cultivos a partir de muestras de localizaciones específicas. En: Winn, Allen, Janda, Koneman, Procop, Woods, editores. Diagnóstico microbiológico. Texto y Atlas en color. Argentina: Editora Medica Panamericana; 2008.p.100-103.

2. Cercenado E, Canton R, editores. Procedimientos en Microbiología clínica. España. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica; 2003. Disponible en: <https://seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia1a.pdf>.
3. Guna Serrano R, Larrosa Escartín N, Marín Arriaza M, Rodríguez Díaz JC. Diagnóstico microbiológico de la bacteriemia y la fungemia: hemocultivos y métodos moleculares. *Enferm Infect Microbiol Clín.* 2019;37(5):335-340.
4. Cercenado E, Canton R, editores. Procedimientos en Microbiología clínica. España. Diagnóstico microbiológico de las infecciones relacionadas con catéteres intravasculares. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica; 2018. Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia15.pdf>
5. Montes I. Diagnóstico de la Brucelosis. España. Control de la calidad SEIME. Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/serologia/diagbruce.pdf>.
6. Nuñez Tamayo, EJ, Acevedo Pedroza, MS. Interpretación Clínica del informe y resultado del hemocultivo. Biocientífica Industrial. Venezuela. Por aparecer. 2021.
7. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Microbiología Médica. 7ª edición. España: El Sevier; 2014.

Procesamiento de hemocultivos

Blood culture processing

Heidi Mago de Querales¹, Marlinka Moya²

RESUMEN

El procesamiento de los hemocultivos, una vez llegada la muestra al laboratorio de microbiología, dependerá de las facilidades tecnológicas con las que cuente la institución, y del tipo de microorganismo que se sospeche desde el punto de vista clínico, lo cual debe ser notificado al laboratorio por el equipo tratante. El Microbiólogo con base a estas premisas decidirá temperaturas de incubación, frecuencia y momento de subcultivos y de pruebas de identificación y antibiograma que permitan la más eficaz y oportuna toma de decisiones terapéuticas. Se describe el procesamiento de hemocultivos por métodos manuales y automatizados, así como las variaciones del proceso cuando se requiera aislar e identificar agentes

infecciosos con condiciones especiales de crecimiento, como Bartonella, Legionella, Micobacterias, levaduras, hongos dimórficos y hemoparásitos.

Palabras clave: Hemocultivos, procesamiento, medio de cultivo, bacteriemia.

SUMMARY

The processing of blood cultures, once the sample arrives at the Microbiology Laboratory, will depend on the technological facilities that the institution has, and the type of microorganism that is suspected from the clinical point of view, which must be notified to the Laboratory by the treating team. Based on these premises, the Microbiologist will decide on incubation temperatures, frequency, and timing of subcultures and identification and antibiotic sensitivity tests that allow the most effective and timely therapeutic decision-making. The processing of blood cultures by manual and automated methods is described, as well as the variations of the process when it is required to isolate and identify infectious agents with special growth conditions, such as Bartonella, Legionella, Mycobacteria, yeasts, dimorphic fungi, and hemoparasites.

Keywords: Blood cultures, processing, culture medium, bacteremia.

INTRODUCCIÓN

Una vez recibidas en el laboratorio de Microbiología las muestras para hemocultivos, su procesamiento dependerá del método utilizado

DOI: <https://doi.org/10.47307/GMC.2022.130.s4.7>

ORCID: 0000-0002-8304-0897¹

ORCID: 0000-0002-4085-3652²

¹Especialista en Infectología. Profesora Titular de la Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de Carabobo. Coordinadora del Posgrado de Infectología de la Universidad de Carabobo en la Ciudad Hospitalaria Dr. Enrique Tejera. Valencia, Venezuela.

²Pediatra Infectólogo. Profesora en el Posgrado de Infectología Pediátrica y Adjunto del Servicio de Enfermedades Infecciosas Hospital J.M de Los Ríos. Caracas. Venezuela.

Autor de correspondencia: Heidi Mago de Querales.
E-mail: magoheidi@gmail.com

Recibido: 7 de julio 2022
Aceptado: 5 de agosto 2022

por ese laboratorio, y del tipo de equipamiento que este posea.

La mayoría de los laboratorios actualmente utilizan métodos automatizados. Sin embargo, en países con bajos ingresos, se siguen utilizando métodos manuales (1).

Considerando la situación de nuestras instituciones públicas, e incluso de algunos centros de atención privada, el microbiólogo debe estar familiarizado con estos procedimientos y con su interpretación y reporte. De igual manera, el clínico debe conocer los alcances de cada uno de los métodos y saber cuándo y que esperar de cada uno de los mismos, a los efectos de toma de decisiones terapéuticas.

Aislamiento de bacterias habituales

Métodos manuales

Estos métodos están basados en la detección de los signos de crecimiento en dos frascos con medio de cultivo líquido en los cuales se ha inoculado la sangre del paciente. Los medios de cultivo más frecuentemente utilizados son infusión Cerebro-Corazón, Columbia, Tripticasa de soya y tioglicolato, complementados con anticoagulante (habitualmente Polianetol sulfonato de Sodio (SPS)). Algunos medios comerciales contienen además resinas que neutralizan el efecto de los antimicrobianos que el paciente esté recibiendo.

Los medios comerciales se envasan al vacío, con cantidades variables de CO₂, lo cual permite el desarrollo de microorganismos anaerobios y anaerobios facultativos. Uno de los dos frascos debe ser ventilado mediante la introducción de una aguja a través del tapón, para permitir la entrada de oxígeno y el desarrollo de microorganismos aerobios.

La incubación se realiza en estufa a temperatura que oscila entre 35 y 37°C, por un período que variará dependiendo del agente que se sospeche desde el punto de vista clínico y epidemiológico. Se pueden detectar los patógenos más frecuentes entre las 18 a 72 horas de incubación. Sin embargo, la incubación se mantiene habitualmente por dos semanas, tiempo en el cual pueden detectarse la mayoría de los agentes que ocasionan bacteriemia.

Existen algunos microorganismos que requieren mayor tiempo de incubación, como es el caso de hongos, *Brucella* y algunos agentes de endocarditis del grupo HACEK. En estos casos, dependiendo de los hallazgos clínicos y epidemiológicos, la muestra debe ser incubada por tiempo prolongado (hasta 4 semanas).

Los frascos inoculados son revisados a diario en busca de turbidez, hemólisis u otras evidencias de crecimiento bacteriano. Sin embargo, con métodos manuales la posibilidad de detectar turbidez solo es posible cuando la concentración de bacterias es de 10 UFC por mililitro. Adicionalmente la hemólisis puede ocasionar confusión.

El uso de métodos automatizados es el estándar de oro en el procesamiento de hemocultivos, pues acelera la posibilidad de detectar crecimiento bacteriano, y por tanto permite adelantar la apropiada respuesta para el manejo del caso.

Una vez detectado el crecimiento, se extraen del frasco 3 a 5 mL bajo estrictas condiciones de asepsia para la realización de tinción de Gram e inoculación en medios sólidos, enriquecidos, que variarán de acuerdo con el agente sospechado, de manera que permitan el aislamiento e identificación posterior de los microorganismos. Estos medios sólidos se incubarán en condiciones de aerobiosis y anaerobiosis.

En dependencia de los hallazgos en la tinción de Gram, el microbiólogo seleccionará el o los medios más apropiados para facilitar el crecimiento del agente, y podrá realizar pruebas rápidas que agilicen su identificación.

El material debe ser subcultivado en diferentes medios enriquecidos (agar sangre, agar chocolate) ofreciendo ambiente de aerobiosis, anaerobiosis y 5 % de CO₂.

De detectarse en la tinción de Gram la presencia de levaduras, es recomendable además realizar el subcultivo en medios específicos para hongos, como el agar Sabouraud. De igual manera, si en la tinción de Gram se observan bacilos Gram negativos, se deberá subcultivar el agar McConkey u otro medio selectivo para Gram negativos que facilite su identificación. Resumimos a continuación el procedimiento de los hemocultivos de manera manual o convencional.

Convencional. Una vez recibido el set de frascos con medio de cultivo líquido, seleccionados según la sospecha clínica, e inoculados con sangre del paciente, se procede de la siguiente manera:

Se introducen en incubadora a una temperatura entre 35 y 37°C lo que se aproxima a la temperatura corporal y permite mayor aislamiento de microorganismos. En algunos casos se utiliza temperatura de incubación diferente, lo cual será comentado en la sección de microorganismos con requerimientos especiales.

A diario se observan los frascos para vigilar los signos sugestivos de crecimiento bacteriano: enturbiamiento del medio, hemólisis de los hematíes, producción de gas o la formación de colonias en el fondo del frasco.

El tiempo de incubación varía desde 48 horas hasta 5 días, para microorganismos habituales, y en este tiempo, se espera, observar los cambios de crecimiento bacteriano descritos.

Tan pronto se observen cambios en el medio de cultivo, se retira de la incubadora el o los frascos.

Se desinfecta la tapa del frasco de hemocultivo con el desinfectante apropiado y se deja secar.

Se introduce en cada uno de los tapones de goma de los frascos una aguja con su jeringa, se invierten los frascos con una ligera agitación y se extraen de los mismos aproximadamente 2 mL de caldo que se emplean para la realización primero de los subcultivos en medios sólidos y después para la tinción de Gram, naranja de acridina u otra según amerite el caso. Este procedimiento debe realizarse en la cabina de seguridad biológica. Debido a que causas diferentes al crecimiento bacteriano pueden producir cambios macroscópicos en el medio de cultivo y que algunos microorganismos crecen sin producir tales cambios, es necesaria la visualización microscópica del cultivo, con su respectiva coloración antes de descartarlos como negativos (2-4).

Existen pequeñas modificaciones de este método convencional, que, realizadas antes de la incubación, mejoran la capacidad de aislamiento, las cuales se describen a continuación:

Método bifásico: consiste en la utilización de frascos con medios bifásicos compuesto de una

fase sólida y otra líquida con dos variaciones en el mercado: Septi-Check® (Hoffman-La Roche) y el Opticult® (Becton-Dickinson) que permite realizar un subcultivo simultáneamente, mejora el aislamiento de *Brucella spp.*, pero no se utiliza en anaerobios (2).

Método de Lisis-filtración: se procede a lisar las células sanguíneas, luego se filtra la sangre para retener las bacterias, luego fragmentos del filtro contenedor de las bacterias, se siembran en distintos medios de cultivo. Este método requiere elevado tiempo de manejo en el laboratorio, por lo que no se realiza de rutina (2).

Método de lisis-centrifugación: en este método se utiliza un frasco que contiene un líquido fluoroquímico inerte, saponina como agente lisante, polipropilenglicol como agente antiespumante, polianetol sulfonato sódico (SPS) y EDTA como anticoagulantes. Al inocular la sangre en el frasco, esta se mezcla con el líquido para conseguir la lisis de las células, y luego, para separar los microorganismos y los elementos sanguíneos, se centrifuga el tubo a 3 000xg durante 30 minutos, se elimina el sobrenadante, y el sedimento se siembra en diferentes medios de cultivos. Este método permite una mayor recuperación de microorganismos y más rapidez que con el método convencional, y es recomendado por la Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas (IDSA) para el cultivo de *Legionella sp.* y *Bartonella sp.* (2,4).

En cualquiera de los métodos descritos, la siembra se realiza en diferentes medios sólidos a seleccionar según la sospecha clínica, se incuban a temperatura entre 35-37°C, con posterior recuperación de las colonias, usando asa de platino, para su extendido en lámina de portaobjetos, coloración de Gram u otra y visualización al microscopio para su identificación preliminar.

Es importante saber, que los frascos de hemocultivo que lleven incorporado SPS como anticoagulante, a una concentración del 0,006 % al 0,050 %, inhiben la actividad bactericida del suero humano y puede dificultar el crecimiento de algunos microorganismos como *Neisseria spp.* (2).

En la actualidad, contamos con múltiples sistemas automatizados, que disminuyen la manipulación de los cultivos y el riesgo de

contaminación, aumentan la capacidad de aislamiento, y a través de métodos moleculares y de espectrometría de masa, se logran identificar en tiempo récord.

Métodos automatizados

A diferencia de los métodos manuales, los métodos automatizados, cuentan con mecanismos que detectan de forma automática la presencia de crecimiento bacteriano en los frascos incubados en el sistema, generando posteriormente una alarma o marca lumínica para señalar esto.

Existen diferentes sistemas en el mercado, los cuales detectan la producción de CO₂ de los microorganismos por diferentes métodos que varían según modelo y marca del equipo: Radiométrico, infrarrojos, fluorescencia, colorimétrico, manométrico. Cada uno de estos sistemas de hemocultivo se diferencian uno del otro, no solo por el método de detección de CO₂ utilizado, sino, en la capacidad de los frascos, en el tipo de medio de cultivo utilizado que puede ser Caldo soja-caseína; Caldo cerebro-corazón; Caldo peptona soja-caseína o Proteosa-peptona, también en la frecuencia de lectura de los frascos, pudiendo ser esta a los 10, 12 o 15 minutos. Además, cada sistema cuenta con diferencias en la capacidad máxima de sus incubadores (2).

Cada Sistema, viene con indicaciones de su fabricante, sobre como cargar o descargar los frascos de hemocultivo pre y pos incubación. La Temperatura de incubación es 35 - 37°C. Al igual que el método convencional, los frascos que el sistema ha detectado como positivos deben manipularse en la cabina de seguridad biológica. Una vez detectado un frasco como positivo, se retira de la incubadora, según especificaciones del fabricante, y se realiza procesamiento tal como fue descrito en el método convencional, respetando el protocolo que establezca cada laboratorio (5).

Cuando se utilizan medios y sistemas de cultivo de sangre automatizados e monitoreo continuo, es posible una respuesta en menor tiempo al detectarse el crecimiento más precozmente, obteniendo resultados positivos dentro de las 48 horas de incubación, rara vez requieren más de 5 días de incubación incluso para microorganismos exigentes. Además, los métodos automatizados,

ofrecen como ventaja el poder procesar una mayor cantidad de muestras y algunos cuentan con un kit de identificación bioquímica que al ser analizados por lectores ópticos, permiten detectar cambios de color que a su vez facilitan la identificación de especies (4).

Como dato adicional, se conoce que *Streptococcus pneumoniae* y otros organismos grampositivos y organismos anaeróbicos facultativos pueden crecer mejor en la botella anaeróbica (tiempo de detección más rápido) (4). Para minimizar el riesgo de autólisis de ciertos organismos como *S. pneumoniae*, los frascos deben subcultivarse lo antes posible después de una señal positiva (5).

Señal de instrumento de falso positivo

Se define como falso positivo, aquella botella marcada por el sistema, que no contiene ningún microorganismo. Esto puede ocurrir por la presencia de recuentos altos de leucocitos, frascos sobrellenados y/o errores en la incubación. Estas botellas con falsos positivos requieren una reincubación en el sistema dentro de la hora siguiente a su descarga para reanudar el análisis de la botella (6).

Señal del instrumento falso negativo

Se define como una botella marcada como negativa por el sistema, aunque contiene bacterias u hongos. La causa principal de un falso negativo es por retraso de la inserción del frasco inoculado al sistema automatizado de cultivo. La señal de falso negativo también depende de la temperatura a la que se mantuvieron los frascos antes de insertarlos al sistema, el tipo de microorganismo involucrado y el instrumento de emparejamiento/tipo de frasco utilizado. En general, la tasa de señales negativas falsas puede ser mayor cuando la temperatura de preincubación es de 35°C, la duración de la preincubación es superior a las 24 h, con *Streptococcus sp.*, *Candida sp.* o *Pseudomonas*, y con sistemas Bactec. Una duración de preincubación < 12 h mantiene el riesgo de falsos negativos al mínimo (6).

Resulta de suma importancia determinar si el o los agentes aislados son producto de

PROCESAMIENTO DE HEMOCULTIVOS

contaminación durante la obtención de la muestra o de su procesamiento en el laboratorio, ya que esta circunstancia puede condicionar uso inapropiado de antimicrobianos y promover aparición de cepas resistentes (7).

Microorganismos con requerimientos especiales

Algunos microorganismos, como las micobacterias y los hongos dimórficos, requieren períodos de incubación más prolongados; otros pueden requerir medios de cultivo especiales o métodos de identificación no basados en cultivos.

Aunque los hongos filamentosos a menudo requieren medios de cultivo especiales o viales de lisis-centrifugación para la detección, la mayoría de las *Candida spp.* crecen muy bien en medios de hemocultivo estándar a menos que el paciente haya estado en terapia antifúngica (4).

En el Cuadro 1 (*Public Health England, National Health Service, Public Health Wales, 2019, p. 34-35*), se encuentra muy bien resumidos los diferentes requerimientos para hemocultivos, tanto para bacterias habituales, así como aquellos microorganismos con requerimientos especiales, diferentes de micobacterias.

Cuadro 1

Clínica/ condiciones	Muestra	Medio Estándar	Incubación Temperatura °C	Atmósfera	Tiempo	Lectura del cultivo	Organismo Diana
Todas las condiciones clínicas	Sangre	Agar sangre † Agar anaerobio fastidiosos	35-37 35-37	5 %-10 % CO ₂ Anaeróbica	40- 48h* 40- 48h*	Diario ≥40h y hasta 5d	Cualquier organismo puede ser significativo
Para estas situaciones, agregue lo siguiente							
Clínica/ condiciones	Muestra	Medio Estándar	Incubación Temperatura °C	Atmósfera	Tiempo	Lectura del cultivo	O r g a n i s m o Diana
Sospecha de meningococemia o meningitis por diplococos o pequeños bacilos Gram negativos visto en microscopio	Sangre	Agar Chocolate†	35 - 37	5 %-10 % CO ₂	40- 48h*	Diario	<i>Haemophilus species</i> <i>N. meningitidis</i> <i>N. gonorrhoeae</i>
Bacilos Gram negativos visto al microscopio	Sangre	MacConkey/ agar CLED o agar cromogénico	35 - 37	Aire	16-24h	≥16h	<i>Enterobacteriaceae</i> Organismos No-fermentadores <i>Pseudomonas species</i>
Microscopia sugestiva de infección mixta o por anaerobios	Sangre	Agar Neomicina anaerobios fastidiosos con disco de metronidazol de 5µg	35 - 37	Anaeróbica	5-7d	≥40h y a los 5d	Anaerobios
Infección fúngica sistémica #	Sangre	Agar Sabouraud	28 - 30	Aire	5d	2 d y 5 d	Levaduras Mohos

Continúa en la pág. S841...

...continuación del Cuadro 1.

Clínica/ condiciones	Muestra	Medio Estándar	Incubación Temperatura	Atmósfera	Tiempo	Lectura del cultivo	Organismo Diana
Cultivo primario negativo y curva de crecimiento positivo ‡ (subcultivo todas las botellas)	Sangre	Agar sangre	35 - 37 35 - 37 35 - 37	Micro aeróbica 5 %-10 % CO ₂ anaeróbica	5d 40- 48h 5d	≥3d y 5d ≥40h ≥40h y a los 5d	<i>Campylobacter sp.</i> <i>Helicobacter sp.</i> <i>Abitrophia sp.</i> organismos anaerobios Dependiente de cisteína
		Agar sangre con racha de <i>S. aureus</i> (NCTC 6571) Agar anaerobios fastidiosos					
		MacConkey/ agar CLED	35 - 37	Aire	16- 24h	≥16h	Organismos Dependiente de cisteína

Nota: traducido y adaptada de: UK Standards for Microbiology Investigations Investigation of blood cultures (for organisms other than Mycobacterium species) by Public Health England, National Health Service, Public Health Wales: London, 2019.p.34-35 (3).

‡Se puede agregar un disco de optoquina si se observan estreptococos en el microscopio.

*La incubación puede extenderse hasta 5 días si es probable que haya un falso negativo o si está clínicamente indicado; en tales casos placas debe leerse a las ≥40 horas y dejarse en la incubadora/gabinete hasta por 5 días.

‡Es posible que sea necesario considerar otros organismos.

#Donde esté clínicamente indicado, los frascos de hemocultivo pueden requerir una incubación prolongada de hasta tres semanas para especies de *Cryptococcus* y hasta seis semanas para especies de *Histoplasma*

Bartonella spp.

La tasa de éxito para la recuperación de *Bartonella spp.* de la sangre, incluso cuando se utilizan métodos óptimos, es extremadamente baja. Requiere la inoculación de 10 mL de sangre en cada frasco de cultivo tipo lisis-centrifugación, se requieren 2 frascos. Los tubos de cultivo de lisis-centrifugación deben transportarse a temperatura ambiente al laboratorio lo antes posible y ser procesados dentro de las 8 h de inoculación de sangre (3). Se procesa según lo descrito en la sección de métodos convencionales para lisis-centrifugación. Seguido a la centrifugación, con el sedimento se realiza un subcultivo.

- El subcultivo debe hacerse en medio fresco de agar sangre o chocolate.
- Sellar las placas pasadas las primeras 24 horas. Incubar a 35-37°C en 5 %-10 % de CO₂ con 40 % de humedad.
- El tiempo de incubación es de 30-40 días.
- *Bartonella spp.* no enturbia los medios líquidos y los sistemas automáticos no detectan la producción de CO₂ por lo que hay que realizar

subcultivos ciegos a partir del séptimo día. Algunos autores recomiendan combinar el subcultivo con la tinción de naranja de acridina o de Jiménez. El estudio de PCR a partir de muestras clínicas, así como el estudio serológico, es muy útil para el diagnóstico (2).

Legionella spp.

La bacteriemia por *Legionella spp.* ocurre con poca frecuencia y rara vez se recupera el organismo de la sangre, incluso cuando se emplean técnicas de cultivo óptimas. Este microorganismo requiere 2 o más tubos de hemocultivo de lisis-centrifugación al que se le deben inocular 10 mL de sangre por tubo. Luego de la inoculación, deben ser transportados a temperatura ambiente al laboratorio lo antes posible y procesado dentro de las 8 h de inoculación de sangre (2,4).

Aislamiento de hongos/Leishmania

El aislamiento de hongos y protozoarios a partir de muestras de hemocultivo exige por parte

del microbiólogo del uso de medios de cultivo específicos, los cuales deben ser seleccionados con base a la sospecha clínica expresada en la solicitud de estudio, la cual debe especificar elementos clínicos y de epidemiología que orienten para la selección de los mismos.

Levaduras

Entre las levaduras de interés clínico destaca *Candida spp.* como productora de fungemia, siendo su confirmación microbiológica difícil, porque los hemocultivos pueden ser negativos hasta en el 50 % (9). Por esto han surgido métodos de detección antigénica, de anticuerpos o componentes estructurales de los hongos, fundamentalmente en muestras séricas. Entre estos se encuentran detección de manano/antimanano, el anticuerpo del tubo germinal de *Candida albicans*, el 1,3-D-glucano. Los valores predictivos positivos de estas pruebas son bajos cuando se evalúan en forma independiente de cultivo y los valores predictivos negativos son altos (9). La espectrometría de masas MALDI-TOF directa de los hemocultivos permite la identificación rápida de especies, y la resonancia magnética T2 está siendo ampliamente investigada con el objetivo de permitir una detección y caracterización rápida de la candidiasis invasora (10). Sin embargo, el Hemocultivo sigue siendo el principal método de diagnóstico para determinar la etiología de una candidemia u otra fungemia (4,8-10).

Tipo de muestra requerida

En adultos: 2 a 4 sets de hemocultivos o 20 a 30 mL de sangre inyectados en al menos 2 frascos de hemocultivo.

En lactantes y niños: 2 o más juegos de hemocultivos, la cantidad de sangre, depende del peso del niño.

Los organismos generalmente sobrevivirán en viales de cultivo inoculados incluso si no se incuban inmediatamente.

Los viales de cultivo inoculados deben transportarse lo antes posible a temperatura ambiente al laboratorio para la incubación temprana. Una vez en el laboratorio, se

procesan igual que otros hemocultivos bien sea por sistema convencional o automatizado. En donde esté disponible se puede utilizar un ensayo de resonancia magnética por T2 a los viales inoculados para detección directa de *Candida spp.* (4).

Cuando se sospecha de *Malassezia spp.* se recomienda utilizar el método lisis-centrifugación para su recuperación, adicionalmente requiere suplementos de lípidos (4). Además, este microorganismo y otros hongos dimórficos y levaduras pueden visualizarse en frotis de sangre periférica en algunos pacientes usando una variedad de tinciones fúngicas, para lo cual se debe solicitar este estudio directamente al laboratorio de microbiología (4).

Dado que las levaduras son altamente aerobias, cuando se sospecha fungemia causada por estas, podría ser prudente inocular al menos 1 muestra de sangre en 2 viales aerobios, en lugar del habitual par de viales aeróbicos y anaeróbicos. También se pueden usar un caldo de cultivo diseñado para mejorar el rendimiento de las levaduras por ej., MycoF/Lytic o se puede utilizar el método lisis-centrifugación (4).

Los hemocultivos deben ser procesados apenas se evidencien signos de crecimiento o el sistema automatizado comunique positividad.

- Se debe realizar un examen directo por microscopía con tinción de Gram y un subcultivo en diferentes medios de cultivo (agar sangre, agar Sabouraud) intentando, hacer la identificación y pruebas de susceptibilidad lo antes posible. Tras el examen se realizará el reporte de presencia de blastoconidios o pseudohifas y células levaduriformes (7).

Si se sospecha de una infección fúngica, por lo observado en la tinción Gram o por la clínica del paciente, se debe subcultivar no solo en medios tradicionales de cultivo como sangre y McConkey sino, también en una placa de agar Sabouraud y/o placas con medios cromogénicos para aislamiento de agentes fúngicos (7).

Hongos filamentosos y dimórficos

Muestra requerida; 2 o más frascos de lisis centrifugación, inoculados cada uno con 10 cm³ de sangre. La muestra debe transportarse lo antes

posible al laboratorio, y procesarse en las 8 horas siguientes a su inoculación.

El método de lisis-centrifugación ha demostrado una gran efectividad para recuperar hongos, especialmente *Histoplasma capsulatum*, ya que permite seleccionar los medios de subcultivo (2).

Si se sospecha que el agente causal es un hongo dimórfico o filamentoso la incubación es hasta por 30 días a 22-30°C con un subcultivo final antes de descartar como negativo.

Los pacientes con mayor riesgo de fungemia son los inmunodeprimidos, especialmente hematológicos y trasplantados. En los portadores del VIH debe sospecharse la posibilidad de que el causante de la fungemia sea *Cryptococcus neoformans* (2).

Micobacterias

El aislamiento de *Mycobacterium tuberculosis* en sangre no es un hecho común, y la detección del microorganismo, sigue siendo por baciloscopia en muestras respiratorias o tejidos, sin embargo, desde la aparición del VIH se hizo cada vez más frecuente el aislamiento del mismo en sangre, por lo que está indicada su investigación en pacientes en los que se sospeche enfermedad diseminada por el mismo (1). En tal sentido, la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 2007 propuso un algoritmo para diagnosticar la tuberculosis en pacientes gravemente enfermos, con baciloscopia negativa que presentaran tos de 2 a 3 semanas y ≥ 1 signo de peligro como frecuencia respiratoria > 30 respiraciones/minuto, frecuencia cardíaca > 120 latidos/minuto, temperatura $> 39^\circ\text{C}$ y no poder caminar sin ayuda, a quienes se le debe indicar Hemocultivo para micobacterias (11).

En la actualidad se pueden cultivar en sistemas de monitorización continúa utilizando frascos específicos para micobacterias. Aun no siendo los medios apropiados, la incubación prolongada hasta 6 semanas de los frascos aerobios de los diferentes sistemas permite también detectar la presencia de *M. tuberculosis* y *Mycobacterium avium*. Otro método muy útil es el de lisis-centrifugación. También puede ser eficaz realizar una combinación de dos métodos: en primer lugar, procesar la sangre por la técnica de lisis centrifugación y sembrar el sedimento después

en un frasco de los sistemas automáticos con el fin de acortar el período de incubación (2).

Se requieren frasco de cultivo con medio específico para bacterias ácido-alcohol resistentes, inoculados con 5 mL de sangre. Los viales de cultivo inoculados deben transportarse al laboratorio lo antes posible para una incubación temprana (4).

Parásitos

En muy contadas ocasiones se requiere de hemocultivos para el aislamiento e identificación de protozoarios. La microscopía sigue siendo la piedra angular de las pruebas de laboratorio para la identificación de la mayoría de los parásitos sanguíneos y muchos parásitos tisulares (4). La viabilidad y la morfología del organismo pueden verse afectadas negativamente por varios factores diferentes, como temperatura, humedad y exposición a fijadores o anticoagulantes. En esta sección se hablará de los que se pueden aislar por hemocultivo.

Los ensayos moleculares pueden ser de particular utilidad en pacientes con parasitemias muy bajas o en la identificación específica de organismos que no pueden diferenciarse microscópicamente.

En situaciones en las que la infección es potencialmente mortal, bien sea por hongos, micobacterias o parásitos, las pruebas iniciales se deben realizar en laboratorios locales y se debe considerar el tratamiento empírico mientras se esperan los resultados del laboratorio de referencia (4).

Tripanosoma cruzi

El cultivo se debe realizar en medio Novy-MacNeal-Nicolle (NNN) de fácil preparación o medios similares de cualquier muestra adecuada, bien sea sangre o tejido durante las etapas aguda y crónica, lo que aumenta la sensibilidad del diagnóstico de laboratorio. Este tipo de hemocultivo puede estar disponible en laboratorios de referencia especializados. Los tripanosomas vivos son altamente infecciosos y las muestras deben manipularse con cuidado

utilizando las “precauciones estándar” para el manejo de sangre y fluidos corporales (4). Posterior a la incubación, se observan con microscopia pudiendo observarse tripanosomas móviles.

La muestra óptima es sangre con anticoagulante o capa leucocitaria, aspirados de tejido y biopsias de tejido, las muestras frescas deben inocularse directo al medio de cultivo, realizando el transporte tan pronto como sea posible al laboratorio, preferiblemente dentro de 1 h de la recolección para la preservación de la viabilidad del organismo, obteniéndose resultados en 2 a 6 días (4).

Leishmaniasis visceral

Para el diagnóstico de enfermedad sistémica por este microorganismo, junto a la clínica y epidemiología, se toman en cuenta diferentes métodos como examen microscópico de aspirado/biopsia de médula ósea teñida con Giemsa, aspirado esplénico; el cultivo, la PCR y la serología. La serología positiva para rK39 es tanto sensible como específica para el diagnóstico de leishmaniasis visceral en varias áreas endémicas del mundo (4).

Sin embargo, si se va a realizar hemocultivo, el medio clásico utilizado es el NNN, al cual hay que añadir una tercera parte de su volumen de sangre desfibrinada de conejo. Es algo laborioso de preparar y fácil la contaminación de este. Otros medios útiles son el medio Drosophila de Schneider, al que se añade suero fetal bovino a una concentración del 30 %, y el medio MEM (*Eagle minimal essential medium*) al que también se le adiciona suero fetal bovino. Se inoculan dos o tres gotas de la muestra por tubo de medio preparado y se dejan a temperatura ambiente durante 1 mes. Se realiza un examen microscópico del medio de cultivo a 400 aumentos, colocando una gota entre porta y cubreobjetos el tercer día de incubación y después una vez a la semana (2).

REFERENCIAS

1. Ombelet S, Barbé B, Affolabi D, Ronat J-B, Lompo P, Lunguya O, et al. Best Practices of Blood Cultures in Low and Middle-Income Countries. *Front Med.* 2019;6:131.
2. Loza Fernández de Bobadilla E, Planes Reig A, Rodríguez Creixems M. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Procedimientos en Microbiología Clínica. Hemocultivos. 2003;3a:5-8.
3. Public Health England, National Health Service, Public Health Wales: UK Standards for Microbiology Investigations Investigation of blood cultures (for organisms other than Mycobacterium species). London: The Network; 2019. Disponible en https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/979833/B_37i8.2.pdf.
4. Miller JM, Binnicker MJ, Campbell S, Carroll KC, Chapin KC, Gilligan PH, et al. A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2018 Update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology. *Clin Infect Dis.* 2018;67(6):e1-e94.
5. Guna Serrano R, Larrosa Escartín N, Marín Arriaza M, Rodríguez Díaz JC. Diagnóstico microbiológico de la bacteriemia y la fungemia: hemocultivos y métodos moleculares. *Enferm Infecc Microbiol Clín.* 2019;37(5):335-340.
6. Lamy B, Dargère S, Arendrup MC, Parienti JJ, Tattevin P. How to Optimize the Use of Blood Cultures for the Diagnosis of Bloodstream Infections? A State-of-the-Art. *Front Microbiol.* 2016;7:697.
7. Doern GV, Carroll KC, Diekema DJ, Garey KW, Rupp MC, Weinstein MP, et al. Guidance for Clinical Microbiology Laboratories: A Comprehensive Update on the Problem of Blood Culture Contamination and a Discussion of Methods for Addressing the Problem. 2019;33(1):e00009-19.
8. Salas Cifuentes V. Diagnóstico microbiológico de candidiasis invasoras a partir de hemocultivos. Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia. Instituto de Salud Pública de Chile. 2020:3-11.
9. Clancy C, Nguyen MH. Diagnosing Invasive Candidiasis. *J Clin Microbiol.* 2018;56(5):e01909-17.
10. Posch W, Heimdörfer D, Wilflingseder D, Lass-Flörl. Invasive candidiasis: future directions in nonculture-based diagnosis. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2017;15(9):829-838.
11. Griesel R, Stewart A, van der Plas H, Sikhondze W, Rangaka MX, Nicol MP, et al. Tuberculosis Diagnosis in Human Immunodeficiency Virus-Infected Inpatients Meeting the Criteria of Seriously Ill in the World Health Organization Algorithm. *Clin Infect Dis.* 2018;66(9):1419-1426.

Procesamiento de hemocultivos positivos

Processing of positive blood cultures

Mariela del Socorro Acevedo Pedroza

RESUMEN

Los hemocultivos se encuentran dentro de las muestras más importantes para el diagnóstico de infecciones severas. Los focos más frecuentes de bacteriemia son el tracto genitourinario, las heridas quirúrgicas, el tracto gastrointestinal y los catéteres intravasculares, aunque un gran porcentaje de los casos su foco originario es desconocido. Los microorganismos grampositivos más frecuentemente implicados pertenecen a los géneros *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp. Entre los bacilos gramnegativos aislados las especies de la familia *Enterobacteriaceae* son de las de mayor frecuencia. La Tinción de Gram es la técnica de laboratorio más utilizada en el área de microbiología, además de la morfología se evalúa su respuesta al colorante que nos permite clasificar a las bacterias en dos grandes grupos. En cuanto a la fungemia, aunque *Candida albicans* ha sido la levadura más frecuentemente implicada, se ha observado un notable incremento de infecciones por otras especies. La interpretación óptima de los resultados de los hemocultivos positivo requiere del conocimiento de

la situación del paciente, su enfermedad, historia clínica, existiendo estrecha relación de comunicación con el facultativo al objeto de informar los hallazgos y valorar conjuntamente el proceso.

Palabras clave: Fungemia, bacteriemia, Enterobacterias, sepsis, hemocultivos.

SUMMARY

Blood cultures are among the most important samples for the diagnosis of serious infections. The most frequent sources of bacteremia are the genitourinary tract, surgical wounds, the gastrointestinal tract, and intravascular catheters, although a large percentage of cases have an unknown source of origin. The most frequently implicated gram-positive microorganisms belong to the genera *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., and *Enterococcus* spp. Among the isolated gram-negative bacilli, the species of the *Enterobacteriaceae* family are among the most frequent. Gram staining is the most used laboratory technique in the area of microbiology, in addition to morphology, its response to the dye is evaluated, which allows us to classify bacteria into two large groups. Regarding fungemia, although *Candida albicans* has been the most frequently implicated yeast, a notable increase in infections by other species has been observed. The optimal interpretation of the results of positive blood cultures requires knowledge of the patient's situation, disease, clinical history, and a close relationship of communication with the physician to report the findings and jointly evaluate the process.

Keywords: Fungemia, bacteremia, Enterobacteriaceae, sepsis, blood cultures.

DOI: <https://doi.org/10.47307/GMC.2022.130.s4.8>

ORCID: 0000-0003-2125-626X

Biocientífica Industrial, C.A. Tel: (+58) 0414-3482694.
Autor de Correspondencia: Mariela del Socorro Acevedo Pedroza.
E-mail: marielalaboratorio28@gmail.com

Recibido: 7 de julio 2022
Aceptado: 5 de agosto 2022

INTRODUCCIÓN

El hemocultivo sigue siendo actualmente el principal método de diagnóstico para determinar la etiología de una bacteriemia. Su fácil realización lo hace asequible a cualquier centro y es el único método que hasta el momento permite el aislamiento del microorganismo viable, necesario para determinar su sensibilidad antibiótica. Su utilidad, sin embargo, está muy asociada a que se realice exclusivamente en pacientes con clínica compatible con bacteriemia porque la extracción en otras circunstancias incrementa el gasto sanitario y no aporta información clínicamente útil. Su valor práctico en el diagnóstico se ve perjudicado por el retraso en la obtención de resultados y porque no es positivo en todos los pacientes, siendo su rendimiento más bajo en pacientes con tratamiento antibiótico o si la infección se produce por hongos, por bacterias de crecimiento lento o por aquellas con requerimientos especiales de crecimiento.

Tras la positividad del hemocultivo sigue siendo obligado realizar una tinción de Gram a partir de una alícuota de dicho hemocultivo para confirmar la presencia de bacterias u hongos en el frasco, orientar los procedimientos a seguir y realizar un informe preliminar, muy útil en la práctica clínica ya que dicha información aporta una primera aproximación sobre la etiología de la infección y por lo tanto debe ser comunicada de forma inmediata al médico responsable del paciente.

Los hemocultivos positivos se deben procesar en cuanto el sistema comunique su positividad. Cada laboratorio debe establecer los protocolos de trabajo para que dentro del horario del mismo se procesen de forma continuada y se informen de forma precoz los resultados disponibles. Cuando se detecta un hemocultivo positivo se debe realizar lo antes posible un examen directo mediante tinción y un subcultivo en diferentes medios de cultivo intentándose, dado que generalmente son monomicrobianos, hacer la identificación y el antibiograma de forma directa e inmediata para disminuir el tiempo de emisión de resultados (1).

Tinciones

La Tinción de Gram es una técnica de laboratorio diseñada por Christian Gramen el

año 1884. Es la tinción más utilizada en el área de microbiología. La tinción más utilizada es la de Gram. La observación se realiza al microscopio óptico con 1 000 aumentos anotándose, además de la morfología y de si es grampositivo o gramnegativo, todas aquellas características que puedan contribuir a orientar la especie. La tinción de Gram es una herramienta clave para detectar la presencia de infecciones polimicrobianas. También puede usarse la tinción de naranja de acridina, mucho más útil en la observación de bacterias. La observación se realiza al microscopio óptico con 1 000 aumentos, anotándose, además de la morfología y de su respuesta al colorante como el ser grampositivo o gramnegativo, todas aquellas características cualitativas y cuantitativas que puedan contribuir a orientar hacia el diagnóstico de la especie. La tinción de Gram es una herramienta clave para detectar la presencia de infecciones polimicrobianas (1,2).

Subcultivos

Los subcultivos se realizan independientemente del resultado del examen del Gram, incluso aunque no se observe ningún microorganismo en la tinción (1). Lo habitual es que unas gotas de la sangre extraída del frasco, una vez incubado 24 horas, se inoculen en diferentes medios de cultivo. Siempre se debe inocular en Agar Sangre y/o Agar Chocolate y en función de la tinción de Gram se debe valorar la adición de otros medios, como el Agar Mac Conkey, Cromoagar Candida y Agar Sabouraud (2). Esto último es con el objeto de detectar fácilmente la presencia de infecciones polimicrobianas y facilitar la identificación rápida de los microorganismos implicados, incluyendo placas selectivas para bacilos gramnegativos y para cocos grampositivos. Si hay sospecha de infección fúngica, por la tinción de Gram o por la sintomatología clínica del paciente, se debe incluir además una placa de agar Saboureaud o placas con medios cromogénicos para aislamiento e identificación rápida de levaduras, hifas y blastoconidias. Las placas se incubarán a 37°C y las que contienen sangre en atmósfera con 5 %-10 % de CO₂. Se deben revisar a las 24 h, manteniéndolas más tiempo si son negativas. Algunos microorganismos para su diagnóstico necesitan periodos de incubación más largo, hasta 15 días inclusive, con monitoreo a diario (3).

Las placas con medios de cultivo para hongos pueden requerir incubación prolongada e incluso incubación a diferentes temperaturas (30° y 37°C).

La sangre procedente del frasco anaerobio, además de en estos mismos medios de cultivo, se sembrará en medios específicos para anaerobios que se incubarán en atmósfera adecuada (2). Hay que tener en cuenta que frecuentemente estas bacterias se detectan en procesos asociados a infecciones polimicrobianas por lo que se deben incluir placas selectivas que favorezcan el crecimiento de estos microorganismos y limiten el de las bacterias anaerobias facultativas. Los tiempos de incubación serán de 48 h como mínimo. La dificultad metodológica de este cultivo hace que la incidencia de bacterias anaerobias sea muy dispar entre los diferentes centros, variando entre un 0,5 % y un 20 % (3,4).

Aunque se ha cuestionado la utilidad de los frascos para anaerobios debido al bajo porcentaje de bacterias anaerobias estrictas responsables de bacteriemia, actualmente se siguen recomendando en adultos ya que su utilización ayuda a localizar el foco de la infección y además en este tipo de frascos se recupera más rápidamente un 10 % de bacterias anaerobias facultativas (4,5). Esto es más discutible en población pediátrica ya que el riesgo de desarrollar bacteriemia por estos microorganismos es mucho menor que en la población adulta, lo que junto al escaso volumen de sangre del que se dispone en estos pacientes, hace que se recomiende cultivar toda la sangre en condiciones de aerobiosis a menos que el paciente presente una situación de riesgo elevado de infección por microorganismos anaerobios como en la sepsis de origen abdominal, de origen cutáneo asociada a mucositis oral, mordeduras, heridas por aplastamiento o úlceras sacras, sepsis nosocomial tras cirugía abdominal o traumatológica, sepsis con hipotensión refractaria, fiebre de origen dentario, infecciones crónicas como sinusitis, osteomielitis o pacientes inmunodeprimidos (2,3,5).

En aquellos casos en que no se logre ver microorganismos en el examen microscópico o no aparezca crecimiento visible en los subcultivos, las placas se deben incubar más tiempo (evitando la desecación de las mismas). También se deben revisar las tinciones y analizar las características clínicas del paciente con objeto de decidir los protocolos a seguir, valorando la posibilidad

que el paciente tenga una bacteriemia/fungemia causada por un microorganismo de crecimiento lento o con requerimientos especiales (1,3). Es muy importante en cada caso que el médico o el proveedor de salud llene correctamente el petitorio de examen colocando una breve historia de salud del paciente e indicando su impresión diagnóstica.

Prevención de las contaminaciones

La contaminación de los hemocultivos se considera un indicador de la calidad asistencial y no debería sobrepasar el 3 % de los hemocultivos totales recibidos en un laboratorio (1,4,6). Estas contaminaciones pueden llegar a representar hasta un tercio de los cultivos de sangre positivos y se ha visto que la tasa de contaminación se correlaciona inversamente con el volumen de sangre, de modo que un pequeño volumen de muestra podría aumentar la concentración de contaminantes y es un indicador de dificultad en el momento de la extracción de la muestra (3,4). También se ha correlacionado con el sitio de la punción y las dificultades del acceso venoso, de manera que la venopunción periférica se asocia a menor tasa de contaminaciones que el acceso arterial o los accesos venosos centrales. Algunos autores habían propuesto, en el caso de la venopunción, desechar el primer mililitro del hemocultivo para reducir la tasa de contaminación, aunque actualmente se ha visto que los argumentos que apoyaban esta recomendación no poseen evidencia científica. Estas contaminaciones pueden suponer la administración innecesaria de antibióticos con las complicaciones derivadas de ello, la realización de pruebas diagnósticas innecesarias, el aumento de la estancia hospitalaria y en definitiva de los costes de hospitalización y perjuicios ocasionados al paciente. En estos casos el microbiólogo debería informar específicamente que se sospecha que este microorganismo es un contaminante y no debe realizar ni informar estudios de sensibilidad antibiótica. Existen varios parámetros que pueden ayudar a identificar con precisión el significado de un hemocultivo positivo cuando la sintomatología clínica no es definitiva:

1. El número de extracciones positivas con respecto al total de extracciones efectuadas (no sólo botellas positivas, sino que en el

- caso de que se hayan extraído dos botellas por hemocultivo, las dos sean positivas).
2. El sitio de toma de la muestra: catéter versus punción venosa.
 3. El tiempo hasta la positividad, incluyendo el tiempo de diferencia de positividad entre pares recogidos en diferentes sitios. En lo que respecta a los *Estafilococos coagulasa negativa*, un tiempo de ≤ 15 h generalmente indica que el microorganismo tiene valor clínico y si es de ≥ 22 h sugiere contaminación; para analizar este parámetro con exactitud, debe asegurarse un transporte rápido de los hemocultivos al Servicio de Microbiología.
 4. La identidad del microorganismo, ya que la presencia de algunos microorganismos como *Propionibacterium acnes* en el cultivo de sangre tiene pocas posibilidades de indicar bacteriemia verdadera, a menos que el paciente esté expuesto a un riesgo particular (3,5).

Cuando varios hemocultivos dan resultado positivo y no se tiene clara su significación clínica por el tipo de microorganismo aislado y el número de frascos positivos, es importante analizar los datos fenotípicos de identificación y del antibiotipo, que, si coinciden, sugieren, aunque no de forma rotunda, que la bacteria está presente en la sangre del paciente. La comparación genotípica de las cepas, que sería el método más útil, al demorarse en el tiempo y no estar disponible en la mayoría de los laboratorios, no tiene utilidad práctica. Probablemente, en un futuro próximo, el desarrollo de la secuenciación masiva puede ofrecer una oportunidad en este sentido. En esta situación deben tenerse muy en cuenta las características clínicas del paciente ya que estos microorganismos suelen ser causa de bacteriemia en pacientes con implantes endovasculares y otros tipos de prótesis y en aquellos que padecen neutropenia (3,4).

Interpretación de resultados

La interpretación óptima de los resultados de los hemocultivos positivos requiere del conocimiento de la situación clínica del paciente, su enfermedad de base, los factores predisponentes a la infección y, a poder ser, de los tratamientos

antimicrobianos que le han sido administrados. Ello obliga a revisar la historia clínica de los pacientes, más ahora que es fácilmente accesible mediante los sistemas informáticos, siendo muy recomendable que exista una estrecha comunicación con el facultativo responsable del paciente con objeto de informar de los hallazgos de forma precoz y valorar conjuntamente el proceso. Para ello, deben establecerse cauces fluidos de comunicación utilizando los nuevos avances tecnológicos (3-5).

Un tema capital a la hora de establecer la importancia clínica de los hallazgos microbiológicos es lograr diferenciar entre contaminación e infección. El *National Healthcare Safety Network* (NHSN) de Estados Unidos define hemocultivo contaminado (falso positivo) como aquel en el que se aíslan especies propias de la microbiota comensal de la piel o propios del medio ambiente: *Estafilococos coagulasa negativa*, otros microorganismos de baja o nula virulencia como *Aerococcus spp* o *Micrococcus spp.*, la mayoría de las especies de los géneros *Bacillus spp.*, *Corynebacterium spp.* y algunos *Streptococos del grupo viridans*. Sin embargo, antes de considerar un aislamiento de estos microorganismos como contaminante, hay que analizar detenidamente las características clínicas del paciente y el número de hemocultivos en los que se aíslan ya que, en algunos casos, estos microorganismos pueden estar implicados en bacteriemias; en caso de niños, esta diferenciación es particularmente difícil porque habitualmente sólo tienen una extracción y por tanto deben extremarse las medidas para evitar la contaminación de los frascos y en caso de duda, se podría volver a extraer otra muestra. *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterobacterias*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans* están casi siempre implicados en bacteriemias verdaderas; por el contrario, *Corynebacterium spp.* y *Propionibacterium spp.*, suelen ser contaminantes. La recuperación de *Streptococcus del grupo viridans*, *Estafilococos coagulasa negativa* y *Enterococcus spp.*, tiene más difícil interpretación porque se ha comunicado que se asocian a verdadera bacteriemia en el 38 %, 15 % y 78 % de los casos, respectivamente. Es muy recomendable que se conserven las cepas aisladas en hemocultivos en el cepario de cada hospital.

Si esto no fuera técnicamente posible, al menos debe conservarse el vial positivo durante algunas semanas (2-4).

Crterios Generales de Interpretación

- **Bacteriemia significativa**

Aislamiento en pacientes con clínica compatible de gérmenes que siempre son considerados patógenos.

Aislamientos múltiples de potenciales patógenos dentro de las 24 horas.

- **Contaminantes**

Un solo hemocultivo (+) de un germen usualmente considerado contaminante y sin un foco relacionado o, con un potencial foco, pero sin clínica compatibles

Único hemocultivo positivo de un germen usualmente considerado contaminante y sucesivos hemocultivos negativos (dentro de las 48 horas).

- **Desconocido o dudoso**

Probable bacteriemia: un solo hemocultivo positivo para un potencial patógeno en un paciente con clínica compatible y no se tienen otros hemocultivos.

Probable contaminación: un solo hemocultivo en un paciente con clínica compatible pero no se tienen otros hemocultivos (6,7).

Otros puntos necesarios a analizar son:

- Tipo de microorganismo y el número de hemocultivos positivos. Ocasionalmente, aunque de mucha menor utilidad práctica, se ha utilizado también el momento de positivización del frasco y el número de colonias en sangre.
- Otros criterios que necesitan validación con futuros trabajos incluyen la determinación de marcadores biológicos, como, por ejemplo: Procalcitonina.
- El tipo de microorganismo es posiblemente el criterio más útil en la interpretación de los hemocultivos. Se podrían considerar

varias categorías que iremos desarrollando detenidamente (6).

Grupo A: Gérmenes que nunca son contaminantes:

El Grupo A incluye a microorganismos que “nunca” son contaminantes.

- *Streptococcus pneumoniae*
- *Haemophilus influenzae*
- *Neisseria meningitidis*
- *Brucella abortus*
- *Moraxella catarrhalis*
- *Mycobacterium tuberculosis*
- *Neisseria gonorrhoeae*
- *Pasteurella multocida*
- *Streptobacillus moniliformis*
- *Listeria monocytogenes*
- *Bacteroides fragilis*
- *Fusobacterium necrophorum* y otros

Este grupo incluye a dos subgrupos, aquellos cuyo aislamiento siempre tiene significado clínico (ej.: *Brucellas*, *M. tuberculosis*) y otros que pueden representar solo una bacteriemia transitoria a partir de mucosas y sin que necesariamente estén relacionados con un cuadro clínico determinado (ej.: *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Prevotella*, *Porphyromonas*) (6-8).

Los principales focos de bacteriemia

- *S. pneumoniae*: neumonía y meningitis, en menor medida: peritonitis bacteriana espontánea y artritis séptica. Poco frecuentes: otitis media y sinusitis.
- *H. influenzae* y otras especies: la vacuna tetravalente ha disminuido la incidencia de infecciones invasivas por el tipo b, en niños menores de 5 años. Los principales focos son: meningitis, epiglotitis (ambas cursan con alto grado de bacteriemia, >100 UFC/mL), artritis séptica, celulitis periorbitaria; en menor medida, neumonía. Todas estas últimas

PROCESAMIENTO DE HEMOCULTIVOS POSITIVOS

cursan con bajo grado de bacteriemia (< 100 UFC/mL).

En neonatos se puede producir sepsis asociada con cepas no encapsuladas o a serotipos distintos al b.

Otras especies, como *Agreggatibacter aphrophilus* se pueden asociar con endocarditis.

- Bacilos Gram negativos, anaerobios estrictos: bacteriemia a partir de foco abdominal, aborto séptico, trombosis de vena yugular (*Fusobacterium necrophorum*).
- *Neisseria meningitidis*: meningitis y meningococcemia sin meningitis.
- *Neisseria gonorrhoeae*: enfermedad gonocócica diseminada, menos frecuentes EPI, endocarditis (6,7,9).
- *Neisseria spp*: endocarditis y bacteriemia en pacientes neutropénicos con mucoviscidosis.
- *Moraxella catarrhalis*: neumonía y bronconeumonía en pacientes con enfermedad de base (6,10).
- *S. moniliformis*: asociado a mordedura de rata.
- *Brucella spp*: primera semana de brucelosis; tener presente antecedentes epidemiológicos como los laborales (veterinarios, personas que trabajan en mataderos o con ganado), o consumo de alimentos de riesgo (lácteos y derivados no pasteurizados, chacinados).
- HACEK: endocarditis. *Kingella kingae* y *Capnocytophaga* también pueden aislarse en hemocultivos de pacientes neutropénicos con ulceraciones bucofaríngeas debidas a drogas citotóxicas. En el caso de *K. kingae* otra asociación posible es con artritis séptica, sobre todo en niños menores de 3 años. *C. canimorsus* puede producir bacteriemia a partir de mordedura de perro en pacientes con enfermedades malignas
- *P. multocida*: infecciones de piel y partes blandas como consecuencia de mordedura de perros o gatos; también puede producirse a partir de endocarditis, neumonía, meningitis sobre todo en pacientes inmunocomprometidos. No siempre es claro el contacto con animales (2,3,6,11).

- *Campylobacter spp.*: aunque *C. fetus* puede producirse bacteriemia transitoria a personas inmunocompetentes, en inmunocomprometidos puede partir de endocarditis, tromboflebitis, aneurismas micóticos infectados, pacientes HIV positivo.
- Bacilos gramnegativos anaerobios estrictos. Infecciones intraabdominales, aborto séptico, necrotizantes de piel y partes blandas, trombosis de vena yugular (*Fusobacterium*), pacientes con tratamiento con corticoides y enfermedades malignas. *B. fragilis* es el más frecuente.
- *L. monocytogenes*: meningitis y sepsis neonatal; bacteriemia en pacientes inmunocomprometidos, endocarditis.
- *Erysipelothrix rhusiopathiae*: endocarditis.
- *Lactobacillus spp.*: endocarditis y bacteriemia relacionada al parto o en neonatos.
- *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma urealyticum*: bacteriemia posparto. *M. hominis* también se aisló de sangre en pacientes con múltiples traumas, quemados, leucémicos y pacientes con trasplante renal.
- *C. neoformans*: meningitis en HIV, tratamientos prolongados con corticoides y otros tipos de inmunosupresiones (2,5,6,11).
- *H. capsulatum*: histoplasmosis diseminada aguda en pacientes HIV positivo
- *M. tuberculosis*: micobacteriemia en pacientes HIV positivo; también puede producirse por otros tipos como el MAI (2,3,6,12).

Grupo B: gérmenes que raramente son contaminantes

El segundo grupo por considerar es el B, en este caso existe una probabilidad baja (<10 %) de que el aislamiento representa una contaminación, aunque puede ser que en realidad se haya tratado de una bacteriemia transitoria que al no tener significado clínico se asumió como contaminación (2,4).

- *Staphylococcus aureus*
- *Streptococcus pyogenes*

- *Streptococcus agalactiae*
- *Streptococcus grupo C y G*
- *Enterobacterias*
- BNF
- *Candida albicans*.

S. aureus: hoy en día el principal foco asociado a bacteriemia son los catéteres venosos centrales, sin embargo, también hay que considerar otras posibilidades como endocarditis en válvula nativa o protésica, infecciones de marcapasos y parches vasculares, infecciones osteoarticulares agudas, mediastinitis postquirúrgica, infecciones de piel y partes blandas (1,3,6,11,13).

Es conveniente mencionar que el aislamiento en urocultivo se asocia muchas veces con hemocultivos positivos, por lo que es conveniente descartar focos a distancia que originaron el aislamiento en orina.

Causa: Nosocomial, ambulatoria o asociada a cuidados de la salud.

- *S. agalactiae*: meningitis y sepsis neonatal. En adultos, además de sepsis puerperal, el punto de partida puede ser infecciones de piel y partes blandas en pacientes diabéticos, con insuficiencia renal, alcohólicas, con enfermedad vascular periférica, añosos y otros inmunocomprometidos. Nosocomial o ambulatoria o asociada a cuidados de la salud.
- *S. pyogenes* y beta hemolíticos Grupo C y G: piel y partes blandas, osteoarticulares. Muchos pacientes presentan enfermedad de base severa (alcoholismo/cirrosis, tumores, diabetes mellitus, enfermedad de tejido conectivo, terapia inmunosupresora, enfermedad vascular periférica, DIV).

Causa: Generalmente ambulatoria

- *P. aeruginosa*: Endocarditis, en drogadictos endovenosos y en pacientes con válvula cardíaca protésica. La bacteriemia nosocomial se asocia con neumonía asociada respirador, catéteres venosos centrales, infecciones urinarias, heridas quirúrgicas. En pacientes quemados el aislamiento en hemocultivos es de mal pronóstico.

- *A. baumannii*: infecciones asociadas a catéteres y en menor medida infecciones urinarias, neumonía asociada a respirador y heridas quirúrgicas infectadas. Generalmente nosocomial.
- Levaduras (*C. albicans*): catéteres, tratamientos prolongados con antibióticos de amplio espectro, alimentación parenteral, neutropenia. Generalmente nosocomial.
- Enterobacterias: todas pueden producir bacteriemia a partir de infecciones nosocomiales de las cuales los catéteres son el principal foco, sin embargo, hay que tener en cuenta además, a las infecciones urinarias, heridas quirúrgicas infectadas, neumonía asociada a respirador (2,3,6,11,14).

Aunque puede variar acorde al hospital, *E. coli* es la especie más frecuentemente aislada seguida por *K. pneumoniae*; luego *Enterobacter spp.* y *Proteus*.

A continuación, se describen los principales focos de las especies más frecuentes:

- *E. coli*: infecciones urinarias e intra-abdominales, meningitis y sepsis neonatal (*E. coli* K1). Nosocomial o ambulatoria.
- *K. pneumoniae/K. oxytoca*: catéteres, infecciones urinarias. La mayoría de origen nosocomial pero puede asociarse también a neumonía de la comunidad.
- *Enterobacter aerogenes/E. cloacae/Serratia marcescens*: catéteres y líquidos de infusión. Casi siempre es nosocomial. Se han documentado casos de endocarditis en drogadictos endovenosos por *S. marcescens*.
- *E. sakasakii*: meningitis y sepsis neonatal.
- *P. mirabilis*: infecciones urinarias. Nosocomial o ambulatoria.
- *P. vulgaris, M. morgani, Providencia spp.*: infecciones urinarias. Mayoría de origen nosocomial.
- *Citrobacter spp.*: infecciones urinarias e intraabdominales (tracto biliar). Nosocomial o ambulatoria.
- *Salmonella spp.*: fiebre tifoidea (*S. typhi*) y bacteriemia en neonatos e inmuno-

comprometidos (*Salmonella no Typhi*), de hecho el aislamiento de este último tipo de *Salmonella* debería llevar a un estudio del estado inmunológico del paciente, incluyendo la determinación de HIV y otras enfermedades con déficit de linfocitos T. Los pacientes con hemoglobinopatías como anemia drepanocítica, malaria y bartonelosis, también tienen mayor predisposición.

La bacteriemia puede producir focos metastásicos en placas ateroscleróticas y aneurismas micóticos (2,6,11).

Existen casos como pacientes indigentes u otros con pobre higiene, en los cuales si no se realiza una importante limpieza (no solo antisepsias de la piel) podría aumentar la probabilidad de contaminación con flora fecal que incluye a Enterobacterias y enterococos.

Grupo C: Gérmenes que en la mitad de las veces son clínicamente significativos

- *Streptococcus viridans*
- *Clostridium spp* (excepto *C. septicum*);
- *Candida tropicalis* y *Candida parapsilosis*.

Las posibilidades de contaminación, o de bacteriemia transitoria, o bacteriemia verdadera están repartidas en partes iguales.

- *S. viridans*: el principal foco a considerar es la Endocarditis donde la bacteriemia será de tipo continua y persistente. Otra posibilidad es la bacteriemia debida a ulceraciones orofaríngeas en paciente neutropénicos.

Es importante la determinación a nivel del grupo y en algunos casos, de especie, puesto que puede dar algunas claves clínicas importantes.

Por ejemplo, el aislamiento de *S. milleri* (o grupo intermedius o anginosus) que incluye a *S. anginosus*, *S. intermedius* y *S. constellatus* debe hacer pensar en abscesos en órganos profundos (intra-abdominales, cerebrales, pulmonares), aquí la bacteriemia será de tipo intermitente o transitoria. Este grupo de *S. viridans* raramente implica contaminación a partir de la piel (6,14).

La bacteriemia por *S. gallolyticus* se relaciona en un alto porcentaje (80 %-90 %) con cáncer de colon, el mismo puede no estar presente en el

momento del episodio y aparecer incluso años después por lo que el informe podría ayudar al médico a decidir un seguimiento estrecho del paciente para prevenir la aparición del mismo (5).

S. mitis y *S. salivarius* tienen mayor probabilidad de ser contaminantes.

Abiotrophia spp. y *Granulicatella spp.* se pueden asociar con endocarditis y raramente son contaminantes (11).

Clostridium spp. y *C. septicum* se asocian con cáncer de colon y enfermedades oncohematológicas y la probabilidad de que sea un contaminante es mucho menor que con respecto a *C. perfringens*. Los focos por considerar son infecciones necrotizantes de piel y partes blandas, intra-abdominales y aborto séptico.

Levaduras: *Malassezia furfur* puede producir fungemias en personas que están recibiendo infusiones lipídicas.

Grupo D: gérmenes que generalmente son contaminantes

El Grupo D, es el más problemático desde el punto de vista de la interpretación ya que si bien la mayoría son contaminantes de los hemocultivos, un cierto número puede representar bacteriemia verdadera y ser clínicamente significativos (6,9,12).

Gérmenes que generalmente son contaminantes:

- SCN (*Staphylococcus coagulasa negativo*), *Difteroides spp.*, *Bacillus spp.*, *P. acnés*.
- SCN (*Staphylococcus coagulasa negativo*): el porcentaje de aislamientos que presentan bacteriemia verdadera aumento en las últimas décadas con el incremento de las poblaciones de riesgo, aproximadamente 17 %-25 % de los aislamientos de sangre representan bacteriemia verdadera (7). Por otra parte, son los más frecuentes de todos los contaminantes (70 %-80 % del total): Los catéteres representan el principal foco de bacteriemia (2,4,6,9) luego, otros dispositivos médicos como válvulas cardíacas, parches vasculares y marcapasos: *S. epidermidis* es la especie más frecuentemente aislada.

- *P. acnés*: casi todos los aislamientos son contaminaciones, sin embargo, pueden asociarse con endocarditis protésica.
- *Micrococcos spp.*, *Bacillus spp.* y *Difteroides spp.*: el principal foco de bacteriemia son los catéteres y menos frecuentemente endocarditis en válvula protésica.
- Bacilos no fermentadores distintos de *P. aeruginosa* y *A. baumannii*: *B. cepacia*, *S. maltophilia*, *Flavobacterias spp.*, *Alcaligenes spp.* pueden ser contaminantes de desinfectantes pero también se pueden asociar a bacteriemia relacionada a catéteres y líquidos de infusión como así también a otras infecciones nosocomiales. *Acinetobacter spp.*, puede ser un contaminante de piel.

Como siempre la clínica del paciente es el punto de partida del análisis, pero también hay que considerar otros aspectos, como ser grupo de riesgo que incluyen a pacientes con dispositivos protésicos (especialmente catéteres, válvula cardíaca protésica, marcapasos, parches vasculares), neutropénicos, neonatos prematuros y otras inmunosupresiones (1,3,5,6,11).

A lo anterior se le pueden sumar otros criterios como número de hemocultivos positivos, tiempo de positivización, recuento de colonias en sangre.

Número de hemocultivos positivos

Es uno de los criterios más ampliamente usado para interpretar aislamientos del Grupo C y D, dado que a mayor número de hemocultivos positivos mayor probabilidad de bacteriemia por estos microorganismos (6).

Sin embargo, hay ciertas limitaciones que se deben tener en cuenta:

- 2 de 2 o 3 hemocultivos positivos con Grupo D, pueden ser causado por: una sola venopunción y no estar aclarado en la orden.
- Diferentes cepas de SCN, aunque la especie y el antibiotipo sean iguales (limitación de bio y antibiotipo vs. Técnicas moleculares).
- Re-contaminación a partir de la piel del paciente.

- Diferente volumen inoculado en los frascos.
- Diferente tipo de frasco utilizado (SCN desarrollan más en botellas anaeróbicas).
- Bacteriemia policlonal por SCN.
- Bacteriemia transitoria.
- 1 de 2 o 1 de 3 puede ser bacteriemia en cercada del 30 % de los casos (6).

En el caso de SCN, es importante no solo llegar a nivel de especie sino también poder comparar el resultado expresado en CIM de al menos 10 antibióticos en los laboratorios donde el antibiograma sea automatizado. Kathib y col. han demostrado, utilizando Vitek y analizando la CIM de esta cantidad ATBs para los diferentes aislamientos, que cuando eran cepas iguales (vs. Biología molecular) la concordancia en el antibiograma era del 100 %. Sin embargo, cepas diferentes podía aún presentar el mismo antibiograma cuantitativo en un 15 %. En el caso de utilizar difusión, el grado de incertidumbre es mucho mayor y se deberían analizar, al menos, unos 12 antibióticos (12,13).

Menos frecuentemente, aislamiento con distinto antibiograma podrán tratarse de la misma cepa; esto puede deberse a pérdida o adquisición de plásmidos o a mutaciones (6).

Si bien, los métodos moleculares como Electroforesis en gel de campos pulsantes (PFGE) como el Gold standard, no resultan prácticos y son muy costosos, son la alternativa de los antibiogramas cuantitativos por métodos automatizados (6,11).

Hay que recordar que el número de hemocultivos positivos no es un criterio demasiado importante para jerarquizar el aislamiento de los Grupos A y B, que nunca o raramente son contaminantes. Sin embargo, adquiere mayor importancia en el Grupo C y especialmente, en el Grupo D (6).

Por otro lado, también se ha demostrado que el número de botellas positivas dentro de un set (cantidad de botellas llenadas con la misma venopunción) no resulta útil para diferenciar bacteriemia de contaminación. Una venopunción no es correcta.

En cuanto al tiempo de positivización, tampoco resulta útil diferenciar de contaminación cuando el aislamiento se produce dentro de las 48 horas de incubación del frasco. En cambio, el aislamiento de SCN o *Bacillus spp.*, después del 3 día de incubación, casi siempre representa una contaminación (7).

En un trabajo publicado por la Fundación Favaloro sobre 942 episodios de bacteriemia, la medida en horas para la positivización de los hemocultivos cuando la cepa de SCN representaba una bacteriemia verdadera era de 25,2 h vs. 28 h, cuando era contaminante.

El recuento de colonias en sangre se utilizó como criterio por algunos autores que trabajaron, sobre todo, con neonatos, Nataro y col., encontraron un Valor Predictivo Positivo (VPP) y Valor Predictivo Negativo (VPN) de 69 % y 85 % respectivamente, cuando usaron como punto de corte >25 UFC/mL. En tanto que, con el valor de >50 UFC/mL los valores fueron de 86 % y 79 %, respectivamente. Este último punto de corte también fue propuesto por St. Geme quien encontró que los pacientes que tenían sepsis con recuentos inferiores a este valor tenían CVC o anomalías hematológicas. En conclusión, recuentos >100 UFC/mL raramente son contaminantes, con valores menores se debe analizar la presencia de los factores citados por St. Geme.

Recientemente, algunos autores han propuesto el uso de la determinación de procalcitonina para diferenciar bacteriemia de contaminación.

El aislamiento de la misma cepa en una válvula cardíaca protésica, LCR de pacientes con shunt, marcapasos, parches vasculares, prótesis osteoarticulares, catéteres (recuento significativo) es también un criterio muy valioso para jerarquizar a gérmenes de los Grupos C y D (6,10).

Información de resultados

Los hemocultivos pueden tener un impacto inmediato en las decisiones clínicas que afectan al paciente, por lo que los resultados clínicamente relevantes se deben informar de forma preliminar desde el mismo momento en que se dispone del resultado de la tinción de Gram del hemocultivo

positivo o la tinción de naranja de acridina. Es útil revisar otros cultivos previos o coincidentes del mismo paciente, incluso de otras localizaciones, que puedan orientar en cuanto al origen de la bacteriemia/fungemia y la identificación del microorganismo (1,3,6).

Ya se ha señalado que es importante tener en cuenta el número de frascos positivos, si estos pertenecen a una o varias extracciones, el tiempo de positividad y es fundamental la descripción del microorganismo que se ha visualizado en la tinción, así como el resultado de las técnicas rápidas disponibles que permitan disminuir el tiempo de emisión de resultados. Si a las 48 horas de incubación no se detecta crecimiento se recomienda emitir un informe (generalmente automático) preliminar negativo (2,3,7). Este informe debería tener, además, referencia de las características macroscópicas del medio que contiene el frasco, turbidez y/o crecimiento bacteriano en el mismo, producción de gas, lisis celular, cambio del indicador del medio si es el caso o alguna otra característica cualitativa que nos indique o refuerce la negatividad del mismo o que nos pueda sugerir que este negativo en este informe preliminar pero que posiblemente o no podría cambiar a positivos en subsiguientes subcultivos (6,8,12).

Al final del período de incubación deberán emitirse los informes negativos definitivos, indicando el número de días en que se incubó el hemocultivo. Por otra parte, cualquier comentario sobre la muestra o su manejo que pueda comprometer los resultados, como retrasos antes de la incubación de la botella en el instrumento en casos automatizados o volúmenes subóptimos, deben agregarse al informe. Comentarios interpretativos como la probable significación clínica del aislado o información sobre el mecanismo de resistencia deben redactarse cuidadosamente, con un formato claro y fácil de interpretar, sin lugar a confusiones, para que cualquiera de los profesionales peticionarios comprenda este informe sin necesidad de tener grandes conocimientos microbiológicos. Se ha demostrado repetidamente que la comunicación rápida de los resultados a grupos multidisciplinarios que apliquen esa información al manejo del paciente de forma correcta hace que los resultados aportados desde el Servicio de Microbiología adquieran valor en el manejo

clínico de estos procesos y mejoren su coste-eficacia; por tanto, es importante potenciar estos grupos en cada centro de salud y establecer cauces rápidos y eficaces de intercambio de información, utilizando todos los medios disponibles (3,8).

Los algoritmos y rutas de información y las personas o servicios a los que se debe informar varían según el centro. Además del empleo de los sistemas informáticos del Ministerio del Poder Popular para la Salud (MPPS), redes hospitalarias, hospital, redes del Instituto Venezolano de los Seguros Sociales (IVSS), ambulatorios, servicios de Epidemiología y todas las partes interesadas se pueden realizar reuniones frecuentes donde todos los profesionales implicados en el manejo del proceso intercambien información (microbiólogos, infectólogos, internistas, intensivistas, pediatras, preventivistas, epidemiólogos y equipo de control de la infección nosocomial fundamentalmente) (3-5,11). Cuando se utilizan estas vías alternativas, el microbiólogo debe documentar y registrar este proceso en el sistema informático del laboratorio (3,5,6).

REFERENCIAS

- Guna Serrano R, Larrosa Escartín N, Marín Arriaza M, Rodríguez Díaz JC. Diagnóstico microbiológico de la bacteriemia y la fungemia: hemocultivos y métodos moleculares. *Enferm Infec Microbiol Clín*. 2019;37(5):335-340.
- Koneman. Introducción a la microbiología (II) Guías para la recolección, el transporte, el procesamiento, el análisis y el informe de los cultivos a partir de muestras de localizaciones específicas. En: Winn, Allen, Janda, Koneman, Procop, Woods, editores. *Diagnóstico microbiológico. Texto y Atlas en color*. Argentina: Editora Médica Panamericana; 2008.p.100-103.
- Rodríguez Díaz JC. Procedimientos en Microbiología Clínica. En: Cercenado Mansilla E, Cantón Moreno R, editores. *Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC)*. 2017.
- Cercenado E, Canton R, editores. *Procedimientos en Microbiología clínica*. España. *Diagnóstico microbiológico de las infecciones relacionadas con catéteres intravasculares. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*; 2018. Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia15.pdf>
- Montes I. Diagnóstico de la Brucelosis. España. Control de la calidad SEIME. Publicaciones Didácticas. Com/Nº95. 2018 Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/serologia/diagbruce.pdf>.
- Núñez Tamayo EJ, Acevedo Pedroza MS. Interpretación Clínica del informe y resultado del hemocultivo. *Biocientífica Industrial*. Venezuela. 2022.
- Useche J, Núñez E, Torres H. Agentes implicados en infección neonatal nosocomial y patrones de sensibilidad antimicrobiana. *Salus*. 2012;16(3):33-39.
- Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Microbiología Médica*. 7ª edición. Editor Elsevier España. 2006. ISBN 8481749273, 9788481749274.
- Emonet S, Shah HN, Cherkaoui A, Schrenzel J. Application and use of various mass spectrometry methods in clinical microbiology. *Clin Microbiol Infect*. 2010;16:1604-1613.
- Greub G, Moran-Gilad J, Rossen J, Egli A. ESCMID Study Group for Genomic and Molecular Diagnostics (ESGMD). ESCMID postgraduate education course: applications of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical microbiology. *Microbes Infect*. 2017;19(9-10):433-442.
- Jordana-Lluch E, Martró Catalá E, Ausina Ruiz V. La espectrometría de masas en el laboratorio de microbiología clínica. *Enferm Infec Microbiol Clin*. 2012;30:635-644.
- Meex C, Neuville F, Descy J, Huynen P, Hayette MP, De Mol P, et al. Direct identification of bacteria from positive anaerobic BacT/Alert(R) blood cultures by MALDI-TOF MS: MALDI Sepsityper(R) kit (Bruker) versus in-house saponin method for bacterial extraction. *J Med Microbiol*. 2012;61:1511-1516.
- Neville SA, Lecordier A, Ziochos H, Chater MJ, Gosbell IB, Maley MW, et al. Utility of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry following introduction for routine laboratory bacterial identification. *J Clin Microbiol*. 2011; 49:2980-2984.
- Rodríguez JC, Bratos MA, Merino E, Ezpeleta C. Utilización de MALDI-TOF en el diagnóstico rápido de la sepsis. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2016;34(Suppl 2):19-25.

Lectura interpretada del antibiograma

Interpretative reading of the antibiogram

Tatiana Drummond-Suinaga¹, Benny Rodríguez-Anderson², María Eugenia Galíndez-Landaeta³,
Mariana Stanchieri-Andueza⁴

RESUMEN

La lectura interpretada del antibiograma consiste en el análisis del patrón de sensibilidad para así intentar predecir los mecanismos de resistencia que pudieran estar presentes en las diferentes bacterias. Para realizar la lectura interpretada del antibiograma es necesario conocer el espectro de los antimicrobianos, ciertas características farmacocinéticas y farmacodinámicas, así como los principales mecanismos de resistencia a los mismos, lo que permite así optimizar su uso con respecto a la elección empírica inicial y la terapia secuencial durante el tratamiento de las diferentes bacterias. Se plantea como objetivo del presente informe establecer los patrones de resistencia tanto natural como adquirida para las principales bacterias de importancia en la práctica clínica a fin de permitir

una selección de la terapia antimicrobiana óptima con la consiguiente disminución de la resistencia a los antibióticos.

Palabras clave: Antibiótico, resistencia, antibiograma, bacterias, sensibilidad.

SUMMARY

The interpretative reading of the antibiogram consists of the analysis of the sensitivity pattern to try to predict the resistance mechanisms that could be present in the different bacteria. To perform the interpreted reading of the antibiogram, it is necessary to know the spectrum of antimicrobials, certain pharmacokinetic and pharmacodynamic characteristics, as well as the main mechanisms of resistance to them, thus allowing their use to be optimized with respect to the initial empirical choice and therapy sequential during the treatment of the different bacteria. The objective of this report is to establish both natural and acquired resistance patterns for the main bacteria of importance

DOI: <https://doi.org/10.47307/GMC.2022.130.s4.9>

ORCID: 0000-0002-5112-4738¹

ORCID: 0000-0001-8092-629X²

ORCID: 0000-0003-2888-260X³

ORCID: 0000-0002-1157-5761⁴

¹Médico Pediatra Infectólogo. Adjunto Departamento de Pediatría Médica Infecciosa, Hospital Universitario de Caracas, Venezuela.

²Médico Pediatra Infectólogo. Adjunto Departamento de Pediatría Médica Infecciosa, Hospital Universitario de Caracas, Venezuela.

³Médico Pediatra Infectólogo. Adjunto Departamento de Pediatría Médica Infecciosa, Hospital Universitario de Caracas, Venezuela.

⁴Médico Pediatra Infectólogo. Adjunto Departamento de Pediatría Médica Infecciosa, Hospital Universitario de Caracas, Venezuela.

Autor de correspondencia: Tatiana J. Drummond Suinaga.

E-mail: tjds44@gmail.com. Tel: +58412-307-7528. Dirección: Servicio Pediatría Médica Infecciosa. Hospital Universitario de Caracas, Los Chaguaramos, Caracas, Venezuela. Especialista en Infectología Pediátrica.

Recibido: 7 de julio 2022
Aceptado: 5 de agosto 2022

in clinical practice to allow a selection of the optimal antimicrobial therapy with the consequent decrease in antibiotic resistance.

Keywords: *Antibiotic, resistance, antibiogram, bacteria, sensitivity.*

INTRODUCCIÓN

Las pruebas de susceptibilidad a agentes antimicrobianos sirven para medir el efecto de la acción de una o varias sustancias determinadas en un microorganismo, o en el caso de las bacterias, medir la capacidad de uno o varios antibióticos de inhibir el crecimiento de estas *in vitro* y traducir su resultado como factor predictivo de la eficacia clínica. Los resultados obtenidos pueden variar de manera considerable, según las condiciones experimentales, por lo que dichas condiciones se encuentran estandarizadas de manera estricta a nivel internacional, siendo importante el riguroso control de calidad para estas pruebas de susceptibilidad, y así disminuir las variables tanto físicas como químicas que puedan afectar los resultados (1,2).

Es importante conocer distintos conceptos básicos al momento de realizar la lectura de un antibiograma:

- Concentración mínima inhibitoria (CMI): concentración mínima o más baja de un antimicrobiano necesaria para inhibir un determinado inóculo bacteriano.
- Concentración mínima bactericida (CMB): concentración mínima o más baja de un antimicrobiano necesaria para matar o eliminar un determinado inóculo bacteriano (1).
- Efecto bacteriostático: capacidad de un antibiótico de inhibir el crecimiento bacteriano.
- Efecto bactericida: capacidad de un antibiótico para destruir la población bacteriana (1-3).

La importancia y utilidad de la realización de estos antibiogramas se basa en múltiples beneficios: adecuación de los tratamientos antimicrobianos a los perfiles de sensibilidad y resistencia, vigilancia de la sensibilidad de un microorganismo a través del tiempo y sus mecanismos de resistencia, obtención de datos de

interés epidemiológico para establecer medidas en el control de las infecciones producidas por las bacterias resistentes y aplicación de políticas de antimicrobianas adaptadas a cada centro de salud y cada paciente afectado (1,2,4,5).

Una vez realizado el antibiograma y conocer la CMI de un antimicrobiano al microorganismo en estudio, dependiendo del sitio o localización de la infección, se interpreta esta CMI según el rango de concentraciones del antimicrobiano que permitan observar las tres principales categorías de susceptibilidad o puntos de corte (sensible, intermedio o resistente) los cuales se derivan de estudios clínicos prospectivos en humanos donde se compara la evolución de la patología del paciente con la CMI del patógeno.

- Sensible: cuando un aislado bacteriano es inhibido *in vitro* por una concentración determinada de un antimicrobiano. Establece el punto de corte donde existe una alta probabilidad de éxito terapéutico.
- Resistente: cuando un aislado bacteriano es inhibido *in vitro* por una concentración determinada de un antimicrobiano que se asocia a alta probabilidad de fracaso terapéutico.
- Intermedio: rango de concentración de antimicrobiano donde la cepa en estudio es inhibida asociado a un efecto terapéutico incierto o cuya respuesta terapéutica puede ser inferior a la presentada por las cepas sensibles (1-3).

Los parámetros de laboratorio a seguir, según las guías internacionales, han sido consensuados por el grupo European Committee of Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) y por el Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) en Estados Unidos (2,5,6).

La lectura interpretada de un antibiograma realiza un análisis fenotípico de los resultados de las pruebas de sensibilidad, basado en el conocimiento de sus mecanismos de resistencia, infiriendo su presencia a partir de los fenotipos obtenidos (2,4,7)

Los mecanismos de resistencia bacterianos hacia los antimicrobianos se pueden dividir en 4 principales:

- Modificación del sitio diana o sitio de acción del antimicrobiano.
- Inhibición enzimática o producción de enzimas inhibidoras.
- Disminución de la permeabilidad del microorganismo.
- Bombas de eflujo o expulsión.

Para la adecuada lectura del antibiograma se debe tomar en cuenta la CMI del antimicrobiano, los índices de farmacocinética y farmacodinámica (Pk/Pd), su efecto en el crecimiento y multiplicación de los microorganismos, concentración o tiempo de administración del antibiótico según su mecanismo de acción, mecanismos de resistencia tanto intrínsecos como adquiridos del patógeno determinado (según género y especie) en la prueba de susceptibilidad, edad del paciente, el sitio o localización de la infección y su gravedad, factores relevantes para la elección del tratamiento antimicrobiano acertado (1-3,5).

RESISTENCIA ANTIMICROBIANA SEGÚN PATÓGENO AISLADO

A) Resistencia *Streptococcus pneumoniae*

El *Streptococcus pneumoniae* es uno de los principales agentes causales de cuadros de neumonía adquirida en la comunidad, meningitis, sepsis, bacteriemia y otitis media. El tratamiento de estas infecciones se ha vuelto problemático por el aumento de la resistencia antibiótica de este microorganismo (8). En Venezuela para el año 2019 el Programa Venezolano de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos (PROVENRA) (9) en las cepas aisladas de *Streptococcus pneumoniae* se registró un 37 % de resistencia a la penicilina, 65 % para la eritromicina, 33,3 % para la clindamicina, azitromicina y claritromicina, 19 % para cefotaxime y 66 % de resistencia al trimetoprim/sulfametoxazol.

Para *S. pneumoniae*, se recomienda evaluar la susceptibilidad en grupos de distintos niveles, grupos A, B y C, donde el primero agrupa a aquellos antimicrobianos que se deben probar y reportar inicialmente (penicilina, eritromicina y trimetoprim-sulfametoxazol), el segundo grupo

abarca a aquellos antimicrobianos que se deben reportar o probar de manera opcional (ceftriaxone, cefotaxime, cefepime, clindamicina, doxiciclina, levofloxacina, meropenem y vancomicina). En el último grupo se concentran los antibióticos suplementarios, los cuales se deben reportar de manera selectiva (amoxicilina, cefuroxime, ceftaroline, cloranfenicol, ertapenem, linezolid y rifampicina) (7,10).

Principales mecanismos de resistencia para el *S. pneumoniae*:

Resistencia β-lactámicos: el principal mecanismo de resistencia del *S. pneumoniae* a los betalactámicos es la modificación de las proteínas unidoras de penicilina (PBP por sus siglas en inglés), por ejemplo, PBP2b, 1a, 2x, codificado por alteración en el gen murM. Estas son las que tienen mayor implicación del desarrollo de resistencia, siendo la primera la responsable de la resistencia a penicilina, mientras que las siguientes a las cefalosporinas (4,8,11).

Las guías de la Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas (IDSA por sus siglas en inglés), recomienda terapia empírica para pacientes hospitalizados con neumonía adquirida en la comunidad o enfermedad neumocócica invasiva, consistiendo en un fármaco betalactámico intravenoso, como ampicilina o ceftriaxone dependiendo del patrón de resistencia local, así como realizar una transición temprana a terapia oral en cuanto el paciente haya mejorado clínicamente (10).

La CLSI no solo diferencia entre meningitis y no meningitis, sino que también categoriza los puntos de corte de CMI basados en la ruta de administración del tratamiento con penicilina (8). Para aislamientos diferentes a meningitis, una CMI de $\leq 0,06 \mu\text{g/mL}$ de penicilina (o diámetro ≥ 20 mm de oxacilina) puede predecir susceptibilidad a los siguientes betalactámicos: ampicilina (oral o parenteral), ampicilina-sulbactam, amoxicilina, amoxicilina-clavulanato, cefepime, cefotaxime, ceftarolina, ceftriaxone, cefuroxima, ertapenem, imipenem, meropenem, entre otros, ya que no exponen algún mecanismo de resistencia a betalactámicos, por lo que serían sensibles a todos los betalactámicos (4,10,12). Para las infecciones cuyo aislamiento sea extrameningeo, la susceptibilidad a penicilina estará dada por una CMI $\leq 2 \mu\text{g/mL}$ (4,8,11-13).

Resistencia a los Macrólidos, Lincosamidas y Estreptograminas: la modificación ribosomal (modificación del sitio diana), codificada por el gen *erm*, y las bombas de expulsión activa, codificadas por los genes *mef* (*mefE*, *mefA* y *mefL*), son los mecanismos de resistencia más comunes hacia estos grupos de antibióticos (4,8).

Las metilasas, codificadas por los genes *ermA* y *ermB*, confieren el fenotipo de resistencia MLS_B, que puede ser constitutivo o inducible. Mientras que, en el fenotipo constitutivo, se observa resistencia a todos los macrólidos, lincosamidas y estreptograminas, en el fenotipo inducible las cepas aparecen falsamente sensibles a algunos macrólidos y a la clindamicina. Por lo que se debe estudiar la presencia de la resistencia inducible a clindamicina mediante difusión de disco, con el método D-test, o por caldo de microdilución, antes de reportar la clindamicina como sensible para los aislamientos que resultan resistentes a eritromicina y sensibles o intermedio a clindamicina (4,8,11,12).

La susceptibilidad o resistencia del neumococo a azitromicina y claritromicina puede ser predicha ensayando eritromicina (12).

Resistencia a las Fluoroquinolonas: la resistencia del *S. pneumoniae* hacia las fluoroquinolonas, está dada por la mutación de la topoisomerasa IV, codificadas por los genes *parC* y *parE*, y ADN girasa, codificado por *gyrA* y *gyrB*. Las bombas de expulsión activa proporcionan un bajo nivel de resistencia (4,8,11). La resistencia de levofloxacina y moxifloxacina implica resistencia al resto de las quinolonas (4,12).

B) Resistencia a los *Staphylococcus aureus*

El *Staphylococcus aureus* es causa de infecciones tanto comunitarias como nosocomiales, abarcando desde infecciones leves de piel y tejidos blandos hasta endocarditis, osteomielitis, neumonías y bacteriemia (14).

Según PROVENRA, en Venezuela para el año 2019 el 50 % de las cepas aisladas de *S. aureus* eran resistentes a la oxacilina, el 28 % a clindamicina, 22 % a ciprofloxacina, 21 % a trimetoprim/sulfametoxazol y 1 % a vancomicina y teicoplanina (9).

La resistencia antibiótica de *Staphylococcus aureus* se debe principalmente a la disminución

de la afinidad y susceptibilidad al sitio diana (proteína fijadora de penicilina PBP); sin embargo, también pueden involucrarse en menor grado otros mecanismos de resistencia como la expulsión activa del antibiótico, producción de β -lactamasas e inactivación enzimática (11,15).

Resistencia a las penicilinas por producción de β -lactamasas: este mecanismo es muy frecuente con una prevalencia mayor al 90 %. La betalactamasa producida es una penicilinasas codificadas por el gen *blaZ*, que hidroliza exclusivamente las penicilinas, se inhiben con inhibidores de betalactamasas y por tanto son sensibles a las combinaciones de betalactámico con inhibidor de betalactamasa, asimismo no hidrolizan las penicilinas semisintéticas (oxacilina, meticilina, cloxacilina) ni tampoco las cefalosporinas y carbapenems (11,16,17).

Resistencia a la metacilina (oxacilina): se debe a la adquisición del gen *mecA*, que codifica a la PBP2a, que posee baja afinidad por los betalactámicos, esto implica resistencia a todos los betalactámicos, incluyendo penicilinas, combinaciones de betalactámico con inhibidor de betalactamasa, cefalosporinas (excepto ceftobiprole y ceftarolina), monobactámicos y carbapenémicos (11,17). La cefoxitina es un marcador alternativo ya que es un inductor más potente del sistema regulatorio de *mecA* que las penicilinas y por ello mejora también la detección de la resistencia a la meticilina. La utilización del disco de cefoxitina es especialmente útil y de preferencia sobre el disco de oxacilina (16).

Existen cepas que presentan resistencia de bajo nivel o resistencia borderline a la oxacilina (BORSA) y se caracterizan por una resistencia intermedia a la oxacilina y valores de concentración mínima inhibitoria (CMI) según la CLSI en rango 2-4 $\mu\text{g/mL}$. Si estas cepas son resistentes a la cefoxitina (*mecA* positivas), entonces se deben considerar resistente a todos los betalactámicos (16,18,19).

Resistencia a los macrólidos-lincosaminas-estreptograminas (MLS): la resistencia a los macrólidos (eritromicina, claritromicina, azitromicina) y a la clindamicina puede asociarse a diferentes fenotipos, entre los cuales se encuentran: 1) resistencia a la eritromicina y a la clindamicina (resistencia constitutiva cMLS); 2) resistencia a la eritromicina y sensibilidad

a la clindamicina, pero con un achatamiento del halo de la clindamicina (D-test positivo) debido a resistencia constitutiva de expresión inducible (iMLS); 3) resistencia a la eritromicina y sensibilidad a la clindamicina sin achatamiento del halo (D-test negativo), mediada por bomba de expulsión activa y 4) resistencia a la clindamicina con sensibilidad a la eritromicina por la acción de enzimas que inactivan las lincosaminas (16,17).

Resistencia a las quinolonas: mutaciones en las dianas de acción (ADN topoisomerasa IV y en la ADN-girasa).

Resistencia a los glucopéptidos: las cepas de estafilococos han mantenido en general una elevada sensibilidad a este grupo, de manera que lo más frecuente es que sean sensibles, sin embargo, existen cepas con sensibilidad disminuida. Actualmente se define una cepa como VISA (*vancomycin intermediate Staphylococcus aureus*) cuando la CMI de vancomicina es de 4-8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y se considera resistente si CMI >16 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Las cepas VISA pueden presentar también sensibilidad disminuida o resistencia a la teicoplanina, denominándose GISA (*glycopeptide-intermediate S. aureus*); por alteraciones en la estructura del peptidoglicano que conducen a un engrosamiento de la pared bacteriana, lo que determina un secuestro de las moléculas del glucopéptido. Asimismo, se han descrito algunas cepas con alto nivel de resistencia a la vancomicina VRSA (*vancomycin resistant S. aureus*), esto último se deben a la adquisición del transposón Tn1546 de enterococos, en el cual se localiza el gen vanA (16,17,20).

C) Resistencia *Enterococcus*

Los *Enterococcus* se encuentran entre los principales patógenos nosocomiales debido a la dificultad de tratamiento condicionada por su resistencia intrínseca a todas las cefalosporinas, trimetoprim/sulfametoxazol, aminoglucósidos y clindamicina; además presentan una moderada sensibilidad a las penicilinas. La mayoría de las infecciones están causadas por *Enterococcus faecalis* (80 %), sin embargo, la especie *Enterococcus faecium* es la que con mayor frecuencia es multirresistente y presenta mayores porcentajes de resistencia adquirida (11,21,22). Según informe de PROVENRA para el año 2019 entre las cepas aisladas en Venezuela se

registró para el *E. faecalis* 10 % de resistencia a la ampicilina y a la vancomicina y teicoplanina 2 %, 3 % de resistencia para el linezolid (9). Mientras para el *E. faecium* se registró 84 % de resistencia a la ampicilina, 31 % resistencia a la vancomicina y 41 % de resistencia a la teicoplanina y ninguna resistencia al linezolid (9).

Resistencia a los betalactámicos: poseen cierta resistencia natural intrínseca a los betalactámicos, debido a la baja afinidad de sus PBP por estos antibióticos. Los aislados clínicos de enterococo, principalmente de *E. faecium* (y muy rara vez de *E. faecalis*), han desarrollado cada vez mayor resistencia a la ampicilina por hiperproducción de la PBP5 (21).

Resistencia a los aminoglucósidos: presentan un mecanismo de resistencia intrínseco de bajo nivel debido al transporte deficiente de estos antimicrobianos, sin embargo, cuando se asocia con otro antimicrobiano que actúa a nivel de la pared celular (betalactámico o glucopéptido) se produce un efecto sinérgico de gran utilidad para el tratamiento de infecciones graves. No obstante, adquieren con facilidad determinantes genéticos asociados a la producción de enzimas modificadoras de aminoglucósidos, lo que conlleva la expresión de altos niveles de resistencia a dichos compuestos y la pérdida del efecto sinérgico anteriormente indicado (16,21,22).

Resistencia a las quinolonas: mutaciones en las dianas de acción (ADN topoisomerasa IV y en la ADN-girasa).

Resistencia a los glucopéptidos: se basa en la modificación de la diana: el pentapéptido de la pared celular terminado en D-Ala-D-Ala. Se han descrito 8 operones distintos denominados vanA, vanB, vanD, vanE, vanG, vanL, vanM y vanN, y uno que media resistencia intrínseca, denominado vanC de los enterococos móviles (*E. casseliflavus*, *E. gallinarum* y *E. flavescens*) (11,16,21).

El operón vanA codifica resistencia inducible de alto nivel a vancomicina y a teicoplanina. El operón vanB produce resistencia inducible de bajo o alto nivel a la vancomicina, pero no a teicoplanina. El operón vanC de codificación cromosómica produce bajo nivel de resistencia a la vancomicina y sensibilidad a teicoplanina. El operón vanD codifica una resistencia de nivel

moderado a vancomicina y a teicoplanina. Los operones *vanE* y *vanG* producen bajo nivel de resistencia a la vancomicina y sensibilidad a teicoplanina. (11,16,21,22).

D) Resistencia a las enterobacterias

El gran número de especies dentro de la familia de las enterobacterias conlleva una gran variabilidad de patrones de resistencia natural. Esta diversidad se ve, además, incrementada por la posibilidad de adquirir genes de resistencia tanto de microorganismos de la misma especie como de otras. La adquisición de multiresistencia puede llevar a la ineficacia de la mayoría de los antimicrobianos utilizados en clínica (23). El realizar una lectura interpretada de los patrones de resistencia, tanto naturales como adquiridos presupone deducir el mecanismo de resistencia asociado a un fenotipo y predecir así la respuesta clínica aun determinado antimicrobiano, haya sido este evaluado *in vitro* o no (2).

Según PROVENRA la resistencia registrada para la *E. coli* en el año 2019 fue de 67 % para la ampicilina, 33 % para la amoxicilina/clavulanato, 17 % para cefixime, 20 % para cefotaxime y ceftriaxone, 47 % para la ciprofloxacina, 20 % para gentamicina, 2 % para carbapenémicos y 53 % para el trimetoprim/sulfametoxazol (9). Para la *Klebsiella pneumoniae* en ese mismo año se registró una resistencia para la ampicilina de 93 %, ampicilina/sulbactam 49 %, cefepime 43 %, cefotaxime 46 %, gentamicina 25 %, ciprofloxacina 42 %, carbapenémicos 12 % (9).

1. Mecanismos de resistencia a antibióticos β -lactámicos en Gram negativas

Existen 4 mecanismos de resistencia en el cual las bacterias pueden inactivar los antibióticos β -lactámicos:

- La producción de enzimas β -lactamasas es el mecanismo de resistencia más común en los microorganismos Gram negativos.
- Cambios en el sitio activo de las proteínas de unión a la penicilina (PBP) pueden bajar la afinidad de los antibióticos β -lactámicos.
- Disminución de la expresión de las proteínas de la membrana externa (OMPs). Este mecanismo

se ha descrito en algunas Enterobacterias (*E. coli*, *K. pneumoniae* y *Enterobacter spp.*) y en *P. aeruginosa* y cuando se presenta asociado con otros mecanismos como este mecanismo pueden presentar resistencia a carbapenemes basado en la pérdida de esta OMPs.

- Mecanismo de bombas de eflujo, como parte de un fenotipo de resistencia adquirido o intrínseco, las bacterias son capaces de exportar una amplia gama de sustratos del periplasma al ambiente circundante. Estas bombas de eflujo son un importante determinante de multiresistencia en bacterias Gram negativas particularmente patógenos como *P. aeruginosa* y *Acinetobacter spp.* (24).

2. Detección de Resistencia en Gram negativos

2.1 β -lactamasas: las β -lactamasas son enzimas catalíticas que rompen el enlace amídico del anillo betalactámico haciendo que el antibiótico pierda su capacidad para unirse a las proteínas de unión a la penicilina y su acción bactericida. Existen 2 esquemas de clasificación de las enzimas β -lactamasas, la clasificación molecular según Ambler, basado en la secuencia de los aminoácidos y divididas en 4 grupos de enzimas clases A, C y D las cuales poseen serina en su sitio activo para hidrólisis de los β -lactámicos y clase B o metaloenzimas las cuales requieren iones divalentes de zinc para su hidrólisis (25) y la clasificación funcional esquema de Bush-Jacoby-Medeiros basado en los perfiles de sustratos e inhibición de las β -lactamasas (25).

Fenotipos de resistencia natural: las enterobacterias de interés clínico, con la única excepción de *Salmonella* y *Proteus mirabilis*, son portadoras de una betalactamasa cromosómica natural propia de cada especie (26). Estos fenotipos de sensibilidad pueden clasificarse en 3 grupos.

- El primer grupo (Grupo1),** formado por *E. coli*, *Shigella*, *Salmonella entérica* y *P. mirabilis*, presenta un fenotipo sensible a todos los betalactámicos. Tanto *E. coli* como

Shigella son portadoras de una betalactamasa cromosómica de clase C de Ambler (23) que en su forma natural o salvaje se expresa a nivel muy bajo, y no confiere resistencia de trascendencia clínica (26).

2. **El segundo grupo (Grupo 2)**, en el que se encuentran *Klebsiella spp.*, *Citrobacter koseri* y *Citrobacter amalonaticus*, entre otras especies, presenta resistencia de bajo nivel a aminopenicilinas (ampicilina) y carboxipenicilinas (ticarcilina) y sensibilidad disminuida o intermedia a ureidopenicilinas (piperacilina), manteniéndose sensibles a cefalosporinas, monobactámicos (aztreonam), carbapenémicos (imipenem) y a las asociaciones con inhibidores de betalactamasa (amoxicilina-ac. clavulánico). La resistencia es debida a la producción de una betalactamasa cromosómica de clase A (25), con actividad penicilinasasa (26).
3. **El tercer grupo (Grupo 3)** está compuesto por *Citrobacter freundii*, *Enterobacter spp.*, *Providencia spp.*, *Morganella morganii*, *Serratia spp.*, *Hafnia alvei*, *Proteus vulgaris*, y *P. penneri*. Todas presentan una betalactamasa cromosómica inducible con actividad cefalosporinasasa que, en general, les confiere resistencia a aminopenicilinas y cefalosporinas de primera generación (C1G), manteniéndose sensibles a carboxipenicilinas y ureidopenicilinas, cefalosporinas de tercera (C3G) y cuarta (C4G) generación, monobactámicos y carbapenémicos (26).

Si bien los patrones de resistencia a los betalactámicos comentados previamente están mediados por diferentes betalactamasas, debe tenerse presente la existencia de otros mecanismos naturales como por ejemplo la disminución de la permeabilidad, por la cual *Proteus*, *Morganella* y *Providencia*, presentan una menor sensibilidad a los carbapenémicos (26).

La resistencia adquirida modifica el patrón natural de resistencia de una especie determinada, siendo el patrón de resistencia resultante la suma de la resistencia natural más la adquirida:

1. **Producción de penicilinasas:** la adquisición de betalactamasas plasmídicas de clase A (27) denominadas de amplio espectro o

betalactamasas clásicas, como TEM-1, TEM-2 y SHV-1, es responsable de la resistencia a aminopenicilinas y carboxipenicilinas y de la sensibilidad disminuida o intermedia a ureidopenicilinas.

2. **Producción de betalactamasa de espectro extendido (BLEE):** las primeras BLEE que se describieron fueron TEM-1, TEM-2 y SHV-1. Posteriormente aparecieron otras familias de BLEE como las CTX-M. Las BLEE se caracterizan por ser capaces de inactivar la práctica totalidad de cefalosporinas a excepción de las cefamicinas, manteniendo la sensibilidad a los inhibidores y a los carbapenémicos.
3. **Producción de betalactamasas resistentes a los inhibidores:** estas betalactamasas derivan también de las betalactamasas clásicas y se caracterizan por conferir resistencia a aminopenicilinas, carboxipenicilinas y ureidopenicilinas; no son sensibles a la acción de los inhibidores y no tienen actividad sobre el resto de β -lactámicos (26,28).
4. **Hiperproducción de betalactamasa cromosómica de clase A:** este fenotipo puede encontrarse en especies como *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *P. penneri*, *P. vulgaris* y *C. koseri*. En el caso de *K. oxytoca* su patrón de resistencia es muy similar al de una BLEE. La sospecha de tratarse de una hiperproducción de la betalactamasa cromosómica (denominada K1) y no de una BLEE viene dada por la sensibilidad a ceftazidima y la elevada resistencia al aztreonam (26).
5. **Hiperproducción de betalactamasa cromosómica de clase C y AmpC plasmídicas:** este fenotipo se caracteriza por presentar resistencia a la práctica totalidad de betalactámicos con la única excepción de los carbapenémicos, aunque las diferentes cefalosporinas serán más o menos hidrolizadas en función del nivel de hiperproducción.
6. **Producción de betalactamasas activas frente a carbapenémicos:** las carbapenemasas son betalactamasas que hidrolizan la mayor parte de betalactámicos incluidos los carbapenémicos (29). La incidencia de estas enzimas en enterobacterias es muy baja. En enterobacterias se han descrito las

tres clases de enzimas con actividad frente a carbapenémicos, las carbapenemasas de clase A (como por ejemplo la betalactamasa KPC), que suelen ser sensibles a la acción del ácido clavulánico, y presentan una menor actividad frente a meropenem que a imipenem, las de clase B (metalobetalactamasas como por ejemplo las VIM o las IMP), las cuales no presentan actividad frente a aztreonam y su acción es inhibida con EDTA y de la clase D, la oxacilinasas OXA-48 (29,30).

2.2 Detección de resistencia a Aminoglucósidos: los aminoglucósidos son generalmente activos contra *Enterobacteriaceae*, la resistencia adquirida a los aminoglucósidos se debe a 3 mecanismos básicos (31):

1. **Presencia de enzimas que modifican aminoglucósidos:** Es el mecanismo más común y ha sido detectado en diferentes bacilos gramnegativos. Se trata de diversas enzimas (acetilasas, adenilasas y fosfatasa) que modifican grupos sustituyentes de la molécula, lo que resulta en un compuesto de baja afinidad por el ribosoma bacteriano.
2. **Alteraciones en los sitios de unión:** Se debe a mutaciones en los genes que codifican los sitios de unión a estas drogas. Es un mecanismo poco frecuente y ha sido hallado en *E. coli*.
3. **Disminución del ingreso:** Determinado por alteraciones a nivel de la membrana externa para el caso de *Pseudomonas aeruginosa*, que dificultan la entrada de la droga a la bacteria.

2.3 Detección de Resistencia a Quinolonas (31): las quinolonas son activas frente a las bacterias gramnegativas; sin embargo, el uso de quinonas se ha incrementado y han empezado a aparecer cepas resistentes a este antimicrobiano y es medida por alteraciones genéticas en la Topoisomerasa y ADN Girasa. Para lo cual se ensaya el disco de levofloxacina como predictor de la familia (31).

E) Resistencia bacilos gram negativos no fermentadores:

Con el término de bacilos gramnegativos no fermentadores se designa un grupo heterogéneo

de microorganismos incapaces de fermentar diversos hidratos de carbono, entre ellos la glucosa. La mayoría de ellos son aerobios estrictos y abundan en reservorios naturales como el suelo y agua, formando también parte de la microbiota normal del hombre. Muchos de ellos se comportan como patógenos oportunistas y pueden causar infecciones graves en el hombre. Los más importantes desde el punto de vista clínico son: *Pseudomonas aeruginosa*, complejo *Acinetobacter baumannii* y *Stenotrophomonas maltophilia* y complejo *Burkholderia cepacia* (32).

1. ***Pseudomonas aeruginosa*:** Es uno de los patógenos más frecuentes en las infecciones asociadas a la atención de salud En Venezuela según reporte de PROVENRA para el año 2019 la resistencia adquirida a la amikacina y a la ceftazidime era de un 28 %, a la ciprofloxacina de un 36 %, a los carbapenémicos sobre un 30 % (9).

Resistencia intrínseca (cromosómica): La *Pseudomonas* constituye un reto a nivel de resistencia antimicrobiana pues en ella confluyen todos los mecanismos de resistencia, la *Pseudomonas* presente resistencia natural a penicilina, aminopenicilinas, incluidas las combinadas con inhibidores de betalactamasas, cefalosporinas de primera y segunda generación, cefotaxima, ceftriaxona, cefalosporinas de tercera generación orales, ertapenem, cloranfenicol, nitrofurantoína, sulfonamidas, trimetoprima, tetraciclina (32,33).

Según el CLSI 2022 (18) los discos que deben ser reportados en el antibiograma para identificación de resistencia adquirida: ceftazidime, cefipime, aztreonam, piperacilina/tazobactam, ticarcilina/clavulanato, imipenem, meropenem, gentamicina, amikacina, tobramicina, ciprofloxacina, levofloxacina.

En general, la resistencia a los antibióticos β -lactámicos en *P. aeruginosa* se debe a mutaciones que conducen a la hiperproducción de cefalosporinasas AmpC (cefalosporinasas derivadas de *Pseudomonas*). En el caso de las cepas resistentes a los carbapenems, suele haber una interacción de mutaciones en la porina OprD (suficiente para excluir el imipenem), aumento de la excreción mediante bombas de flujo del fármaco (normalmente necesarias para excluir el

meropenem), mutaciones en las proteínas de unión a penicilina (PBP) y disminución de la expresión de PBP. Estos mecanismos mutacionales están implicados en la aparición *in vivo* de resistencia a todos los β -lactámicos (32,34).

2. **Complejo *Acinetobacter baumannii***: Es la especie aislada con más frecuencia y con mayor importancia clínica, además de ser de manera significativa la especie más resistente a los antibióticos y causante de infecciones asociadas a la atención de salud, sobre todo aquellas asociadas a ventilación mecánica (32,34). En Venezuela para el año 2019 según reporte de PROVENRA se registró una resistencia en las cepas aisladas de *Acinetobacter baumannii* para la amikacina en un 53 %, aztreonam 90 %, cefoperazone sulbactam 23 %, ceftazidime 73 %, ciprofloxacina 71 %, imipenem, meropenem y levofloxacina 70 % cada una y colistin 5 % (9).

Es naturalmente resistente a la ampicilina, amoxicilina, aztreonam, ertapenem, cloranfenicol, fosfomicina.

En la elaboración del antibiograma se recomienda imipenem, meropenem, ceftazidima, cefotaxime o ceftriaxone, ceftazidima/avibactam, cefepime, piperacilina/tazobactam, ticarcilina/clavulanato, amikacina, gentamicina, ciprofloxacina, ampicilina/sulbactam, trimetoprim/sulfametoxazol, piperacilina, se debe realizar screening para detectar producción de betalactamasa de espectro extendido (BLEE) y carbapenemasas (18).

Mecanismos de resistencia adquirida incluyen numerosas β -lactamasas (más comúnmente AmpC o cefalosporinas derivadas de *Acinetobacter*; ADC), carbapenemasas de tipo OXA, bombas de eflujo, así como alteraciones de proteínas de membrana externa y alteración en la expresión de PBP. También existen informes de aislamientos que contienen carbapenemasas.

3. ***Stenotrophomona maltophila***: Es un patógeno oportunista que presenta resistencia natural a todos los betalactámicos incluyendo los carbapenémicos (34), ocasiona brotes hospitalarios en sitios donde se usa antibióticos de amplio espectro tales como unidades de terapia intensiva, trasplantes. Tiene resistencia natural a las penicilina, aminopenicilinas,

piperacilina, ampicilina/sulbactam, amoxicilina/clavulanato, cefalosporinas de primera, segunda, cefotaxim, ceftriaxone, aztreonam, ertapenem, imipenem, meropenem, fosfomicin (32,33).

En la elaboración del antibiograma se debe utilizar los discos de ticarcilina/clavulanato, ceftazidime, levofloxacina, trimetoprim/sulfametoxazol, este último antimicrobiano recomendado en su tratamiento (18).

4. **Complejo *Burkholderia cepacia***: Son patógenos ambientales ubicuos que se encuentran en todo el mundo en el agua, el suelo y las plantas, suele causar infección en pacientes inmunocomprometidos. Suele aparecer en forma de brotes, identificando como fuentes de infección a las vías respiratorias y los catéteres intravasculares. Presenta tolerancia a la clorhexidina por lo que puede contaminar soluciones desinfectantes como la clorhexidina ampliamente utilizada (34).

En Venezuela para el año 2019 PROVENRA (9) reporta un 3 % de resistencia para ceftazidime, 17 % para levofloxacina, meropenem 10 %, trimetoprim/sulfametoxazol 6 %.

Es naturalmente resistente a: ampicilina, ticarcilina, piperacilina, sultamicilina, amoxicilina/clavulanato, ertapenem, ceftiraxone, cefotaxime, aztreonam, ciprofloxacina, aminoglucósidos, fosfomicina, colistin

En la elaboración del antibiograma deben ensayarse: ticarcilina/clavulanato, ceftazidime, levofloxacina, meropenem, trimetoprim/sulfametoxazol.

REFERENCIAS

1. Soriano-García F. Pharmacokinetic and pharmacodynamic aspects of interpretive reading of the antibiogram. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2010;28(7):461-466.
2. Canton R. Interpretive reading of the antibiogram: A clinical necessity. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2010;28(6):375-385.
3. Giuliano C, Patel CR, Kale-Pradhan PB. A guide to bacterial culture identification and results interpretation. *Pharm Ther*. 2019;44(4):192-200.

4. Hernández JM, Llanes CP, Fabra RRL. Basic principles of reading and understanding antibiograms for attending physicians. *Rev Habanera Cienc Méd.* 2018;17(4):603-619.
5. Size O, All F. One size fits all? Application of susceptible-dose-dependent breakpoints to pediatric patients and laboratory reporting. *J Clin Microbiol.* 2019;58(1):1-8.
6. Coronell-Rodríguez W, Arteta-Acosta C, Dueñas-Castell C. Interpretive reading of the antibiogram: A tool for clinical practice. In: Ortiz-Ruiz G, Dueñas-Castell C, editors. *Sepsis.* Colombia. 2018.p.95-115.
7. Alós JI, Rodríguez-Baño J. Which antibiotics should we report in an antibiogram, and how? *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2010;28(10):737-741.
8. Cherazard R, Epstein M, Doan T-L, Salim T, Bharti S, Smith MA. Antimicrobial Resistant *Streptococcus pneumoniae*: Prevalence, Mechanisms, and Clinical Implications. *Am J Ther.* 2017;24(3):e361-369.
9. Programa Venezolano de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos. Gráficos y Reportes PROVENRA. Available from: <https://provenra.com.ve/graficos-reportes>
10. Murphy ME, Powell E, Courter J, Mortensen JE. Predicting Oral Beta-lactam susceptibilities against *Streptococcus pneumoniae*. *BMC Infect Dis.* 2021;21(1):679.
11. Torres C, Cercenado E. Interpretive reading of the antibiogram in gram positive COCCI. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2010;28(8):541-553.
12. Weinstein M, Lewis J, Bobenchik A, Campeau S, Cullen S, Galas M, et al. CLSI 2020. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 30th edition. USA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2020. Available from: <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100/>
13. De la Osa-Busto M, Reyes-Hernández K, Reyes-Gómez U, Perea-Martínez A, Luévanos-Velázquez A, Hernández-Lira I, et al. Sensibilidad antimicrobiana de cepas de *Streptococcus pneumoniae*. Período 2012-2015, en niños menores de 6 años que cursaron con neumonía. *Rev Méd-Cient Secr Salud Jalisco.* 2017;3(4):161-167.
14. Guo Y, Song G, Sun M, Wang J, Wang Y. Prevalence and Therapies of Antibiotic-Resistance in *Staphylococcus aureus*. *Front Cell Infect Microbiol.* 2020;10:107.
15. Jubeh B, Breijyeh Z, Karaman R. Resistance of Gram-positive bacteria to current antibacterial agents and overcoming approaches. *Molecules.* 2020;25(12):2888.
16. Morosini MI, Cercenado E, Ardanuy C, Torres C. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en microorganismos grampositivos (Internet). En: Cercenado E, Cantón R, editores. *Enferm Infecc Microbiol Clín.* España; 2011.p.325-332. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2011.09.009>
17. Lozano C, Torres C. Actualización en la resistencia antibiótica en Gram positivos. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2017;35:2-8.
18. Lewis J, Weinstein M, Melvin B, Campeau S, Cullen S, Galas M, et al. CLSI Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility. 32nd edition. USA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2022.
19. Foster TJ. Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. Current status and future prospects. *FEMS Microbiol Rev.* 2017;41(3):430-449.
20. Mukherjee R, Priyadarshini A, Pati Pandey R, Samuel Raj V. Antimicrobial Resistance in *Staphylococcus aureus* (Internet). In: Amjad Aqib, editor. *Intech Open.* London: 2021.p.252. Available from: <https://doi.org/10.5772/intechopen.96888>
21. Cercenado E. *Enterococcus*: resistencias fenotípicas y genotípicas y epidemiología en España. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2011;29(Supl 5):59-65.
22. Miller WR, Munita JM, Arias CA. Mechanisms of antibiotic resistance in enterococci. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2014;12(10):1221-1236.
23. Bradford P. Extended-Spectrum Beta-lactamases in the 21st Century: Characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev.* 2001;14(4):933-951.
24. Drawz SM, Bonomo RA. Three decades of β -lactamase inhibitors. *Clin Microbiol Rev.* 2010;23(1):160-201.
25. Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54(3):969-976.
26. Livermore DM, Winstanley TG, Shannon KP. Interpretative reading: Recognizing the unusual and inferring resistance mechanisms from resistance phenotypes. *J Antimicrob Chemother.* 2001;48(Suppl 1):S87-S102.
27. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother.* 1995;39(6):1211-1233.
28. Miró E, Navarro F, Mirelis B, Sabaté M, Rivera A, Coll P, et al. Prevalence of clinical isolates of *Escherichia coli* producing inhibitor-resistant β -lactamases at a University Hospital in Barcelona, Spain, over a 3-year period. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002;46(12):3991-3994.
29. Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: The versatile β -lactamases. *Clin Microbiol Rev.* 2007;20(3):440-458.
30. Cornaglia G, Akova M, Amicosante G, Cantón R, Cauda R, Docquier JD, et al. Metallo- β -lactamases as emerging resistance determinants in Gram-negative

LECTURA INTERPRETADA DEL ANTIBIOGRAMA

- pathogens: Open issues. *Int J Antimicrob Agents*. 2007;29(4):380-388.
31. Yagci D, Yoruk F, Azap A, Memikoglu O. Prevalence and risk factors for selection of quinolone-resistant *Escherichia coli* strains in fecal flora of patients receiving quinolone therapy. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009;53(3):1287-1289.
 32. Vila J, Marco F. Interpretive reading of the non-fermenting gram-negative bacilli antibiogram. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2010;28(10):726-736.
 33. Crespo P. La lectura interpretativa del antibiograma: una herramienta para predecir la resistencia bacteriana en el laboratorio de microbiología de rutina. *Colomb Med*. 2002;33(4):179-193.
 34. El Chakhtoura NG, Saade E, Iovleva A, Yasmin M, Wilson B, Pérez F, et al. Therapies for multidrug resistant and extensively drug-resistant non-fermenting gram-negative bacteria causing nosocomial infections: a perilous journey toward 'molecularly targeted therapy'. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2018;16(2):89-110.