

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 antibiograma, 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. sakasaki*: 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 immuno-

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 multidisciplinares 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/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/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia15.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 (ESGMID). 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.