



66.  
201

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**"EVALUACIÓN DE DOS MÉTODOS PARA LA DETECCIÓN  
DE MICROORGANISMOS CAUSANTES DE SEPTICEMIAS"**

**T E S I S**  
**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**  
**QUÍMICA FARMACEÚTICA BIÓLOGA**  
**P R E S E N T A:**  
**RUTH EDITH MARTÍN FUENTES**



**MEXICO, D.F.**

**1995**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

**FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

**JURADO ASIGNADO**

EXAMENES PROFESIONALES  
FAC. DE QUÍMICA

**PRESIDENTE** PROFA. MA. DEL CARMEN CORTÉS DECUIR.

**VOCAL** DR. RAFAEL GARCÍA GONZÁLEZ.

**SECRETARIO** PROFA. MA. ELSA ESCUDERO GARCÍA.

**1er SUPLENTE** PROF. RAÚL GARZA VELASCO.

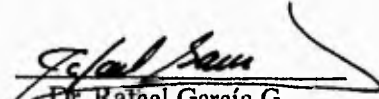
**2do SUPLENTE** PROFA. MAYTE AZTIGARRAGA ZA VALETA.

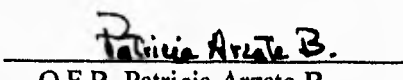
**Sitio donde se desarrolló el tema:**

LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA  
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA, INP-SS

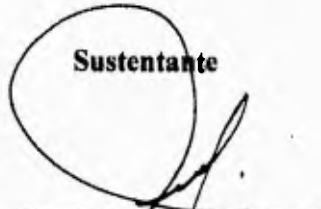
**Asesor del tema**

**Supervisor técnico**

  
Dr. Rafael García G.

  
Q.F.B. Patricia Arzate B.

**Sustentante**

  
Ruth Edith Martín Fuentes.

## **DEDICATORIAS**

**A mis padres**  
*por su apoyo incondicional.*

**A mis hermanos Gerardo, Gabriela y Georgina**  
*su paciencia fue un obstáculo menos para realizarme profesionalmente.*

**A Adriana Romero "Pony"**  
*su amistad perdurará a través de los años.*

**A Adriana Mejía**  
*tu ejemplo me impulsó a seguir adelante.*

**A Maru**  
*tu singular forma de ser enriqueció mi vida.*

**A Angie**  
*por ayudarme a dar estos últimos pasos.*

**A Pepe, Maricarmen y Claudia**  
*estar con ustedes fue una agradable experiencia que nunca olvidaré.*

**A Boris**  
*por lo que nunca fue +.*

*Mi más sincero agradecimiento*

**Al Dr. Rafael García González**  
*por su incondicional ayuda y por compartir sus  
conocimientos en forma generosa, en la realización de este trabajo.*

*Al personal del Laboratorio de Bacteriología del INP,  
en especial a Q.F.B. Patricia Arzate Barbosa,  
Q.F.B. Rosalía Guevara Leonel y  
Q.F.B. Ma. del Refugio Pedroza Vargas,  
por su ayuda en el trabajo práctico de esta tesis.*

**Al Dr. Hector Villalobos Villalobos**  
*por su disposición en la recolección del  
material biológico.*

**"EL QUE NO ES CAPAZ DE SOÑAR,  
JAMÁZ REALIZARÁ SUS SUEÑOS"**

***Eraclito***

## INDICE

1. INTRODUCCION	1
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	17
3. OBJETIVOS	18
4. HIPÓTESIS	19
5. MATERIAL Y MÉTODOS	20
5.1 SISTEMAS EMPLEADOS PARA HEMOCULTIVOS	20
SISTEMA <i>Ruíz Castañeda</i>	20
SISTEMA <i>Signal-Oxoid</i>	22
5.2 POBLACIÓN DE ESTUDIO	24
5.3 DISEÑO EXPERIMENTAL	25
6. RESULTADOS	29
7. ANÁLISIS DE RESULTADOS	38
8. CONCLUSIONES	46
9. BIBLIOGRAFIA	47
10 ANEXOS	52
I GLOSARIO	52
II CONTEO LEUCOCITARIO Y PLAQUETARIO NORMAL, DE ACUERDO A LA EDAD	54
III FRECUENCIA CARDÍACA ESPECÍFICA A LA EDAD	55
IV FRECUENCIA RESPIRATORIA NORMAL	56
V HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS CLÍNICOS DE PACIENTES CON HEMOCULTIVOS	57

# 1. INTRODUCCIÓN

Los términos bacteremia y septicemia con frecuencia se utilizan indistintamente:

Bacteremia es "*la presencia de bacterias viables en la sangre*".

La presencia de otros microorganismos se clasifica como<sup>(6)</sup>:

- Presencia de virus - *viremia*
- Presencia de hongos - *fungemia*
- Presencia de parásitos - *parasitemia*

Las bacteremias se clasifican como:

1. *Bacteremia transitoria* - resulta de la manipulación en cirugías de tejidos infectados, por uso de instrumentación en superficies mucosas o cateterización.
2. *Bacteremia intermitente* - es característicamente asociada con la diseminación de abscesos y ocurre fácilmente en el curso de una variedad de enfermedades sistémicas y localizadas.
3. *Bacteremia continua o persistente* - es característica de una infección intravascular y particularmente de endocarditis bacteriana<sup>(40)</sup>.

Septicemia ha sido definida como:

*"la presencia de microorganismos en la sangre"*<sup>(6)</sup>;

*"enfermedad sistémica causada por la multiplicación de microorganismos en la circulación sanguínea"*<sup>(7)</sup>;

*"enfermedad sistémica causada por la diseminación de microorganismos en la vía de circulación sanguínea"*<sup>(34)</sup>.

En la actualidad el término septicemia denota una infección presente en la sangre<sup>(35)</sup>.



Debido a que el término no es equivalente a bacteremia e involucra una respuesta sistémica de sepsis (Anexo I, pág. 52), crea una serie de confusiones en la interpretación de datos, además, no describe adecuadamente la imagen total de organismos patógenos que pueden infectar la sangre (6,8,35). Por esto, los miembros de "The American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine" (ACCP/SCCM), resolvieron eliminar este término del lenguaje común (35). Ellos recomiendan desde 1992 el uso de una terminología uniforme, eliminando "septicemia" para usar únicamente el término sepsis y así ser diferenciado de bacteremia además de los estados relacionados con sepsis como: sepsis severa y shock séptico (con sus respectivos criterios)(5,6) (Anexo I).

Sepsis: *"sospecha de infección, además de la respuesta sistémica incluyendo taquipnea, taquicardia, hipotermia o hipertermia, leucocitosis o leucopenia, y trombocitopenia"* (6,22,29,35) (Anexo I), con estos criterios se puede determinar el diagnóstico de sepsis o excluir a pacientes con esta sospecha.

El uso del hemocultivo ante la sospecha de sepsis o bacteremia, es uno de los procedimientos del Laboratorio de Bacteriología más importantes, ya que es de gran ayuda al diagnóstico clínico (14).

***"En el paciente con fiebre, con o sin signos o síntomas de localización, el hemocultivo es la prueba más útil y más comúnmente usada para demostrar la frecuencia de infección sistémica".***

**JAWETZ**

Los hemocultivos son realizados siempre que exista motivo de sospecha clínica de una bacteremia significativa. La entrada de microorganismos al torrente sanguíneo, puede presentarse por diversos caminos:

1. Como una sepsis clásica, con invasión de la corriente sanguínea, o foco de infección, acompañado de malestar, pulso elevado, hipo o hipertermia y postración.
2. Como sepsis del recién nacido, niños y adultos inmunológicamente comprometidos, a veces con pocos signos clínicos.
3. En infecciones crónicas tales como una afección gonocócica diseminada o bacteremia meningocócica.
4. Diseminación en ciertas infecciones severas tales como meningitis, neumonía, abscesos profundos (hígado, riñón, etc.) o infecciones biliares.
5. Como resultado de una infección intravascular localizada, como una válvula cardíaca (endocarditis bacteriana) o un vaso sanguíneo trombosado o infectado.
6. En ciertas infecciones de multisistemas: fiebres entéricas, leptospirosis o brucelosis y a menudo, en fiebres de origen desconocido.
7. Introducción de bacterias de la flora normal dentro del torrente sanguíneo, por traumatismos o cirugía de superficies infectadas, por ejemplo: cateterización del tracto urinario o contaminación por catéteres intravenosos (2,3).

En muchas situaciones, los hemocultivos son la única fuente inmediata, posible de hallazgo del agente etiológico, para la determinación de sensibilidad a antimicrobianos (40). En otros casos indican la severidad y el grado de diseminación de una infección. Por esto, los hemocultivos deben ser realizados bajo una técnica adecuada, con procedimientos seleccionados y evitando la contaminación para un diagnóstico correcto (3, 29).

### **Sistema de Ruiz Castañeda**

Es el más comúnmente usado en los laboratorios de Bacteriología Clínica, fue el primero diseñado para el cultivo de sangre, considerándose como una contribución de utilidad práctica, en el que se ha visto que pueden desarrollarse la mayoría de las bacterias que invaden el torrente circulatorio. Consiste en un medio bifásico, donde la fase sólida estéril, es depositada aún líquida en un costado del frasco (de diseño especial llamado botella de Ruiz Castañeda), que, al solidificar, permanece en posición vertical mientras que al introducir la fase líquida estéril ésta se deposita en el fondo del frasco. El medio tiene una formulación especial, que permite el desarrollo de una amplia gama de microorganismos con distintos requerimientos nutricionales y de difícil crecimiento, además, la fase líquida contiene un anticoagulante que reduce la actividad fagocítica y de algunos antibióticos para asegurar la sobrevivencia de los microorganismos. La detección de crecimiento microbiano es a través de la formación de colonias en el medio sólido, o bien por los cambios que se presentan en el medio líquido, en algunos casos no hay que esperar desarrollo bacteriano en el caldo que en realidad sólo sirve para mantener la sangre en estado fluido, de manera que los microorganismos que pudieran estar presentes encuentren dentro del citoplasma de los fagocitos a la vez que protección contra los elementos inhibidores, material nutritivo para su multiplicación. Cuando el desarrollo intracelular llega a un máximo determinado, al hacer las transferencias bañando la capa sólida, los fagocitos liberan su carga de bacterias, las que continúan su desarrollo libres de los elementos inhibidores de la fase líquida del equipo. Las colonias podrán ser fácilmente observadas a través de la pared de la botella y de la capa transparente de gelosa, si el sistema se encuentra perfectamente cerrado no es necesario introducir CO<sub>2</sub> pues la experiencia ha demostrado que es suficiente con el anhídrido carbónico de la sangre venosa inoculada<sup>(32,33)</sup>.

Actualmente, existen sistemas comerciales para hemocultivos con el mismo fundamento que el sistema Ruiz Castañeda utilizando medios de cultivo enriquecidos, además de otros sistemas con fundamentos de detección distintos <sup>(39)</sup>. Entre ellos cabe mencionar:

### **Hemoline performance blood cultures (bioMérieux)**

Consta de dos frascos, uno con un medio especial para microorganismos anaerobios y otro con un medio bifásico para el desarrollo de microorganismos aerobios y facultativos, el fundamento de detección es el mismo que para el Ruiz Castañeda. Las ventajas que presenta es la adición de nutrientes para mayor y más rápida detección de multiplicación microbiana.

### **Sistema Vacutainer**

Utiliza un tubo con medio de cultivo líquido el cual es inoculado por medio de sistema de vacío que se toma directamente en el tubo, la detección es visual tomando en cuenta los cambios en el medio, presenta ventajas como la facilidad de transportación, inoculación e incubación, ya que ocupa un espacio muy reducido.

### **Micrognost-Combo Blood Culture System (Biotest Diagnostics)**

Emplea dos frascos con medios especiales, uno para cultivos anaerobios y otro para cultivos aerobios, ambos, enriquecidos con hemina y análogos de NAD<sup>(39)</sup>, que permiten el crecimiento de microorganismos de difícil desarrollo. El sistema tiene adaptado al tapón una placa, la cual sostiene medio de agar chocolate, que al sumergirse en la fase líquida al invertir el frasco, permite el depósito de microorganismos ahí presentes y la formación de colonias. Para inocular cada uno de los frascos, se utilizan de 5 a 6 mL de sangre, los cuales se extraen mediante un sistema de vacío. Esto presenta ciertas ventajas como son: no es necesario hacer subcultivos; se reduce el tiempo y el material utilizado; se emplea el frasco dependiendo de la sospecha que se tenga; fácil aislamiento en cultivos positivos; se minimizan los resultados falsos positivos al reducir la contaminación; y no requiere de equipo especializado para su uso.

### **Septi-Chek Blood Culture System (Roche Diagnostic)**

Es un sistema cerrado con el mismo principio que Micrognost-Combo Blood Culture System (Biotest Diagnostics) y con las mismas ventajas. Septi-Chek emplea como diferencia cuatro medios líquidos distintos, según las necesidades y en cada frasco la placa adaptada al tapón sostiene tres medios sólidos selectivos de bacterias y hongos, que permite que aumente la especificidad del sistema.

### **Pediatric Septi-Chek Blood Cultures System (Roche Diagnostics)**

La diferencia que presenta este sistema con el anteriormente descrito, es que los medios sólidos empleados en las placas son: agar chocolate, agar McConkey y agar Malta, por lo tanto permite el crecimiento primario en estos medios, de microorganismos aerobios y facultativos. Las ventajas son similares a los anteriores.

Diversos sistemas de detección física han sido propuestos para detectar tempranamente el crecimiento de microorganismos en hemocultivos. Estos sistemas están basados en la medición de cambios de impedancia entre dos electrodos, medición de ATP por luminiscencia o detección de dióxido de carbono generado durante el metabolismo microbiano (12).

Diversos laboratorios han ideado una detección semiautomática en sus sistemas desde hace más de 20 años:

**Bactec 460 System (Becton Dickinson Diagnostic Instrument Systems; Towson, Md)**

Usa sustratos radiactivos en un medio de cultivo bacteriológico enriquecido para microorganismos aerobios o anaerobios. El metabolismo de los microorganismos presentes en la muestra de sangre produce dióxido de carbono ( $^{14}\text{CO}_2$ ) que es liberado en la parte superior de un frasco cerrado. Un detector es usado para cuantificar la radiactividad en la muestra de gas e identificar los cultivos como positivos. Este sistema produce resultados más rápidos que el método convencional de hemocultivo ya que ahorra trabajo y reduce la contaminación microbiana. Sin embargo, el costo es elevado, el uso de reactivos radiactivos no es de uso común en un laboratorio clínico de rutina y el riesgo de manejo y desecho es alto (12,18).

**Bactec NR-660 System (Becton Dickinson Diagnostics Instrument System; Towson, Md)**

En este sistema también se detecta la producción de gas ( $\text{CO}_2$ ) generado durante el crecimiento microbiano, sin embargo, no se usan sustratos radiactivos; se emplea un sistema computarizado, que por medio de espectroscopía infrarroja, determina la cantidad de  $\text{CO}_2$  producido (18). Los resultados son muy similares al sistema Bactec 460 radiométrico, pero se tiene la ventaja de no usar sustratos radiactivos, con lo cual se disminuye el costo y el riesgo en el trabajo en el laboratorio (11,12,14). Más recientemente se ha adicionado al medio, resinas que absorben antibióticos y factores naturales contra los microorganismos, con lo cual este sistema ha aumentado su sensibilidad (20).

**Bactec 26 Plus (Becton Dickinson Diagnostics Instrument System; Towson, Md)**

Utiliza un sólo frasco con medio enriquecido para microorganismos aerobios y facultativos, además adicionado con resinas. El sistema de detección es por medio de espectroscopía infrarroja lo mismo que el Bactec NR-660 System (37).

**Bactec Peds Plus (Becton Dickinson Diagnostics Instrument System; Towson, Md)**

Recientemente, diversos sistemas de hemocultivos han sido diseñados para pacientes pediátricos, uno de estos es el Bactec Peds Plus. Los cambios significativos incluyen un volumen menor de medio enriquecido; resinas que remueven antibióticos; una concentración menor de polianetol sulfonato de sodio para no inhibir a microorganismos susceptibles a este; y un sistema no radiométrico de detección (41).

**BioArgos (Sanofi Diagnostics Pasteur, Marnes-la-Coquette, France)**

Este sistema usa el mismo principio que el Bactec NR-660 System, para la detección, con un equipo computarizado muy sofisticado y costoso de espectroscopía infrarroja, utilizando medios enriquecidos para el crecimiento de microorganismos anaerobios, aerobios y facultativos según el vial inoculado (12).

**BacT/Alert (Organon Teknica Corp., Durham, N.C.)**

Este sistema se basa en la detección colorimétrica del CO<sub>2</sub> producido durante el metabolismo microbiano. El CO<sub>2</sub> reacciona con el agua liberando iones hidrógeno, que interactúan con un sensor el cual en condiciones alcalinas es de color azul o verde oscuro. La alta concentración de iones hidrógeno provoca la disminución del pH y por lo tanto el cambio de coloración en el sensor, de verde a eventualmente amarillo. Estos cambios o

menores se revelan a través de un detector que aumenta la sensibilidad del sistema. Se usa un medio enriquecido que favorece el desarrollo de los microorganismos, además de no utilizar reactivos peligrosos, que evitan resiembra inútiles con lo que se disminuye el tiempo de la prueba, así como el riesgo de contaminación. Sin embargo requiere del uso de aparatos extra para su utilización (12,38).

Existe otro método para determinar hemocultivos positivos, al medir bioluminiscencia del ATP generado por la multiplicación bacteriana (4).

#### **Oxoid Signal Blood Culture Systems (Basingstoke, United Kingdom)**

Utiliza un solo frasco que contiene un medio formulado para permitir el desarrollo de microorganismos aerobios, anaerobios o microaerofílicos. La detección se basa en que al haber desarrollo microbiano, hay liberación de productos metabólicos como CO<sub>2</sub> que en un sistema cerrado como lo es el vial, crean una presión positiva. Este sistema, usando el principio del manómetro coloca una salida, que es una aguja que termina en un colector, en el cual se deposita la sangre infectada junto con el medio de cultivo líquido los cuales, sangre y medio de cultivo, serán desplazados por la presión que se ejerce dentro del vial debido al desarrollo microbiano. De este colector se toman muestras para realizar los subcultivos que sean necesarios para el aislamiento e identificación de hemocultivos positivos. La metodología presenta ciertas ventajas: no requiere de un equipo costoso y especial para la detección; eliminación de subcultivos innecesarios, lo que acarrea una disminución en la cantidad de medios de cultivo empleados y una reducción que puede ser total en la contaminación por el procesamiento en el laboratorio (14, 34).

Se han desarrollado otras técnicas para la detección de microorganismos en sangre, con lo cual se acelera la identificación de los mismos; estos sistemas no utilizan medios de cultivo:



### **Isolator System (E.I. du Pont Nemours and Co. Inc. Wilmington, Del)**

Se basa en el uso de un vial que contiene reactivos que provocan la lisis de células fagocíticas, y resinas que absorben antibióticos y otras sustancias inhibitorias -factores naturales contra los microorganismos- de las muestras sanguíneas. Este vial al ser centrifugado provoca la liberación de los microorganismos presentes en la muestra, la cual es inoculada en placas de agar facilitando el desarrollo de los microorganismos aunque se encuentren en un número reducido y disminuyendo el tiempo de la prueba al realizar la detección y aislamiento simultáneos (9, 20).

### **The Isolator System (Wampole Laboratories, Cranbury, N.J.)**

Utiliza un colector especial en el cual los reactivos que contiene provocan la lisis de los eritrocitos e inactivan al VIH (Virus de Inmunodeficiencia Humana) durante un mínimo de 60 minutos después de ser colectada la muestra. Después de la lisis, se requiere una centrifugación de la muestra para su posterior inoculación en placas con agar. Este sistema además de proporcionar al personal del laboratorio cierta protección, reduce el tiempo de duración del estudio en cultivos positivos por ser simultánea la detección y aislamiento de microorganismos, con lo cual se facilita la identificación del microorganismo y, por lo tanto, se reduce el tiempo para la realización de las pruebas de susceptibilidad a antimicrobianos. Sin embargo, se requiere de material y equipo adicional para su empleo, por lo que la técnica resulta costosa (37).

El uso de cualquiera de los sistemas de hemocultivos, depende de las necesidades del laboratorio y de los recursos económicos con los que cuenta, para poder adquirir el material y equipo del sistema elegido.

Existe, como ya se mencionó, una gran variedad de microorganismos que pueden introducirse al torrente sanguíneo por diversos caminos, la incidencia con la que se presenta cada uno de ellos depende de muchos factores, como son: edad, sexo, tipo de afección primaria, estado inmunológico del paciente, así como la situación geográfica del lugar donde habita, tipo de clima, etc., por lo tanto, no se puede generalizar la frecuencia

con que se presentan estos microorganismos, sin embargo, existen datos de los cuales, los más comúnmente aislados en hemocultivos son:

Staphylococcus coagulasa-negativos

Staphylococcus aureus

Escherichia coli

Klebsiella pneumoniae

Pseudomonas aeruginosa

Proteus sp

Enterobacter sp

Candida albicans

Otras levaduras

Acinetobacter sp

Otros miembros de la familia Enterobacteriaceae

Corynebacterium sp

Moraxella sp

Micrococcus sp

Ref. (2, 11, 26, 29, 37, 41)

**Staphylococcus coagulasa negativos (SCN).**

Constituyen el principal componente de la microflora normal, especialmente de la piel. Este fue formalmente considerado como saprófito o de baja virulencia para los humanos. El aislamiento de SCN de muestras clínicas se interpretaba como una contaminación insignificante. Sin embargo, ahora son reconocidos como patógenos oportunistas en los humanos y causantes de infecciones intrahospitalarias (2).

Al mismo tiempo que las sepsis son las infecciones nosocomiales más comúnmente causadas por SCN, este microorganismo también causa infecciones gastrointestinales, pulmonares, del tracto urinario y de piel; generalmente se presentan en diversos casos, como inmunosupresión, cirugía, implantación de sistemas extraños y prótesis (catéteres, sondas cardíacas, sondas urinarias, etc.) (13, 30). S. epidermidis es el agente causal de la mayoría de este tipo de infecciones; tiene la capacidad de producir una sustancia mucoide de naturaleza polisacárida (slime) que recubre las bacterias cuando se encuentran adheridas a la superficie del material

protésico y que actúa estructurando la adherencia, impidiendo la acción de antimicrobianos y fagocitos circulantes (15, 29).

Los SCN se encuentran entre los microorganismos más comúnmente aislados en el laboratorio de microbiología clínica, pero su frecuente aislamiento de fluidos normalmente estériles como la sangre, tejidos, líquido cefalorraquídeo (LCR), dializados, secreciones, etc., representa un reto para su distinción entre infección y contaminación (36), por lo cual se tienen que tomar en cuenta valores hematológicos, signos clínicos y otros estudios microbiológicos (13, 36).

### ***S. aureus***

Normalmente la sepsis por *S. aureus* se desarrolla a partir de una infección localizada que se extiende hasta alcanzar el torrente circulatorio y se ve favorecida por condiciones locales o generales: traumatismos, cirugía, cuerpos extraños, etc. La mayoría de las sepsis ocurren en ambientes intrahospitalarios, y el foco más frecuente son los catéteres intravasculares y en menor grado, sondas urinarias o tubos endotraqueales. La existencia de un foco conocido disminuye el riesgo de una endocarditis u otras complicaciones metastásicas causadas por sepsis, sin embargo se encuentra elevado en drogadictos parenterales y pacientes con válvulas cardíacas protésicas (29).

### Familia *Enterobacteriaceae*

Las enterobacteriáceas comensales, carecen de uno o varios de los sistemas de penetración y resistencia a las defensas del huésped. Sin embargo, cuando se produce una vía de penetración accidental (heridas, úlceras, instrumentaciones), o un fracaso de los mecanismos de defensa, se pueden establecer como patógenos oportunistas, dando lugar a infecciones de topografía, curso y pronóstico variables, dependiendo de los factores que los han facilitado.

Proteus mirabilis y P. vulgaris son, después de E. coli, las especies con mayor frecuencia aisladas en productos clínicos que causan infecciones oportunistas, urinarias, en heridas quirúrgicas y sepsis, entre otras. Se encuentran en el tubo digestivo del hombre y numerosos animales.

Klebsiella pneumoniae y K. oxytoca, microorganismos ubicuos en la naturaleza, se aíslan del hombre con gran frecuencia, en particular

K. pneumoniae como comensal o causando neumonía, infecciones urinarias, sepsis y otras.

Enterobacter agglomerans, E. cloacae y E. aerogenes, ampliamente distribuidas en la naturaleza, pueden aislarse del tubo digestivo del hombre y como causantes de patología oportunista. Su amplia difusión en el medio ambiente, propicia la contaminación del instrumental médico y quirúrgico, incluyendo líquidos de perfusión, y se han descrito epidemias de sepsis de este origen (27).

Serratia marcescens, se aísla de muestras clínicas como comensal de vías respiratorias y tubo digestivo, o como oportunista. Citrobacter freundii se aísla con frecuencia del tubo digestivo de hombres y animales, así como del medio ambiente; posee interés, por la frecuencia con que causa infecciones oportunistas (10), por presentar caracteres bioquímicos semejantes a los de la Salmonella, con la que puede confundirse. La amplia difusión en el medio ambiente de S. marcescens y C. freundii pueden causar infecciones nosocomiales.

### **Escherichia coli**

Es la especie más abundante del tubo digestivo del hombre y otros animales, es la aislada con mayor frecuencia del conjunto de muestras clínicas estudiadas en el laboratorio de Bacteriología; es causante de diversas infecciones oportunistas, sobre todo urinarias, de heridas quirúrgicas, sepsis e infecciones neonatales sistémicas entre otras.

### **Salmonella sp**

Su hábitat primario es el tracto intestinal de animales y hombres. Generalmente la gastroenteritis causada por *Salmonella* cursa con un periodo de bacteremia, sin embargo, resulta difícil elucidar la verdadera frecuencia de bacteremia por serotipos de *Salmonella* distintos a *S. typhi*, ya que además de los rasgos inherentes a la edad y existencia o no de enfermedad de base, constituyen una minoría los pacientes con gastroenteritis a los que se les realizan hemocultivos <sup>(29)</sup>.

### **Pseudomonas aeruginosa**

Puede formar parte de la flora microbiana normal del hombre (piel, mucosa nasal, faringe y heces). Produce con frecuencia infecciones nosocomiales. Ello debe relacionarse con la capacidad del microorganismo para sobrevivir en los reservorios húmedos del hospital y para resistir a los agentes antimicrobianos (antibióticos y desinfectantes). Se han implicado como reservorios: incubadoras, nebulizadores, soluciones y líquidos de lavado, infusiones, instrumental de anestesia, sistemas de hemodiálisis, agua de macetas, ensaladas, entre otros. El personal sanitario infectado transmite *Pseudomonas* de un paciente a otro o queda colonizado, sirviendo así como fuente permanente de contagio.

*P. aeruginosa* es un saprófito relativamente frecuente, que rara vez produce enfermedades en personas sanas. La mayoría de los casos de enfermedad se asocian a una disminución de las defensas del huésped. Puede deberse a la rotura de la integridad de piel o mucosas (quemaduras), al uso de dispositivos médicos (catéteres intravenosos, sondas urinarias, tubos endotraqueales), inmunosupresión y recién nacidos.

*Acinetobacter sp*, *Pseudomonas sp*, *Alcaligenes sp* y otros persisten bien en el medio ambiente, en soluciones antisépticas o fluidos para administración parenteral, respiradores e instrumental diverso que se mantiene húmedo, dando lugar a infecciones cruzadas en hospitales.

### *Candida sp*

La presencia de *Candida* en el torrente cardiocirculatorio, no implica necesariamente la invasión tisular. La fungemia transitoria, es un fenómeno relativamente común, aparece tras maniobras de cateterización, nutrición parenteral, cirugía mayor o hemodialisis. Es importante por sus implicaciones terapéuticas, discriminar entre una candidiasis transitoria, en la que no habrá que administrar antifúngicos, bastando con eliminar el foco primario, y una candidemia significativa, que es indicio de candidiasis sistémica y que requiere la instauración rápida de tratamiento antifúngico. Se habla de candidemia significativa cuando se aísla *Candida* a partir de dos o más hemocultivos seriados obtenidos utilizando una vía distinta de acceso en cada ocasión (29).

Ya que los hemocultivos constituyen uno de los análisis más importantes del Laboratorio de Bacteriología Clínica presentándose, en ocasiones, como el único camino viable para detectar al agente causal de una bacteremia, es indispensable que el laboratorio cuente con una metodología de hemocultivos adecuada para brindar un resultado correcto y confiable al médico. La metodología convencional para la realización de hemocultivos (Botella de Ruiz Castañeda), emplea un medio de cultivo bifásico cuya disponibilidad se encuentra limitada a su preparación en el laboratorio que lo emplea. La experiencia observada en el Laboratorio de Bacteriología del Instituto Nacional de Pediatría (INP), es que este medio presenta un alto número de aislamientos de microorganismos presentes en el medio ambiente y de la flora habitual de piel que pueden introducirse en el sistema. Esta introducción puede ocurrir al transportar los hemocultivos donde el tapón de caucho se bote al aflojarse el tapón rosca interno (Ver esquema en "Material y Métodos"), en el momento de la toma de muestra (en caso de no desinfectar correctamente el área de punción), al inocular la muestra de sangre en el hemocultivo (si no se desinfecta el tapón de caucho y el tapón rosca interno, o si se remueven estos), o bien durante la manipulación en el laboratorio al practicar subcultivos ciegos. El desarrollo de estos microorganismos puede ocasionar en algunos casos el enmascaramiento de algún microorganismo patógeno.

Lo anterior lleva al laboratorio a una emisión de resultados falsos, ocasionando altos costos de la calidad (gasto de recursos económicos y humanos) y además, contribuyendo a la realización de un diagnóstico incorrecto que impida dar el tratamiento adecuado al paciente.

El conocimiento de la sensibilidad, especificidad y confiabilidad de otra metodología para realización de hemocultivos, permitirá que nuestro Laboratorio tenga una firme alternativa para la realización de este análisis disminuyendo la incidencia de resultados falsos positivos.

## **2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

1. ¿Existe diferencia significativa en los resultados obtenidos al emplear, simultáneamente, el medio convencional de Ruiz Castañeda y el medio de cultivo comercial (SIGNAL-OXOID<sup>MR</sup>)?
2. ¿Disminuye la incidencia de contaminación bacteriana al usar un sistema cerrado (SIGNAL-OXOID<sup>MR</sup>) en comparación con un sistema de cultivo ciego?
3. La sensibilidad de una metodología para hemocultivos, ¿se ve favorecida dependiendo del fundamento técnico de la misma?
4. La detección de un microorganismo en especial, ¿se ve favorecida al emplear el medio de cultivo comercial (SIGNAL-OXOID<sup>MR</sup>)?



### **3. OBJETIVOS**

#### **OBJETIVO GENERAL**

1. Realizar un estudio comparativo entre dos metodologías para hemocultivos, estableciendo la sensibilidad y especificidad de ambos métodos.

#### **OBJETIVOS PARTICULARES**

1. Establecer la existencia de diferencias significativas, en cuanto a contaminación bacteriana, entre las dos metodologías al momento de la toma de muestra y manipulación en el laboratorio.
2. Establecer la sensibilidad de dos metodologías con distintos fundamentos en base a su detectabilidad.
3. Establecer la sensibilidad de dos metodologías distintas en base a sus componentes nutricionales.

## 4. HIPÓTESIS

1. Debido a que, el frasco Ruiz Castañeda con medio de cultivo bifásico puede ser abierto durante la toma de muestra sin poder percatarse posteriormente en el laboratorio de esto, se espera encontrar que el medio de cultivo comercial (SIGNAL-OXOID<sup>MR</sup>), cerrado herméticamente -es un frasco ampolla-, presente menor incidencia de contaminación microbiana.
2. Debido a que la metodología empleada en el laboratorio utilizando el frasco de Ruiz Castañeda implica subcultivos ciegos, a diferencia del medio de cultivo comercial (SIGNAL-OXOID<sup>MR</sup>) que no los emplea, se espera encontrar, en el medio comercial, menor número de cultivos con desarrollo de microorganismos provenientes del medio ambiente o del material utilizado, inoculados accidentalmente durante la manipulación, lo que ocasiona problemas de interpretación.
3. El medio de cultivo comercial (SIGNAL-OXOID<sup>MR</sup>) tiene un fundamento basado en la detección manométrica de CO<sub>2</sub> producido por el crecimiento, visible o no, del o los microorganismos; en base a esto, se espera que se presenten diferencias significativas y favorables, al compararlo con la metodología convencional.
4. El medio de cultivo comercial (SIGNAL-OXOID<sup>MR</sup>) está enriquecido con componentes que facilitan el desarrollo de microorganismos de difícil crecimiento, por lo cual se espera encontrar que en este exista crecimiento de algunos microorganismos que en el medio de Ruiz Castañeda tienen un desarrollo escaso o nulo.

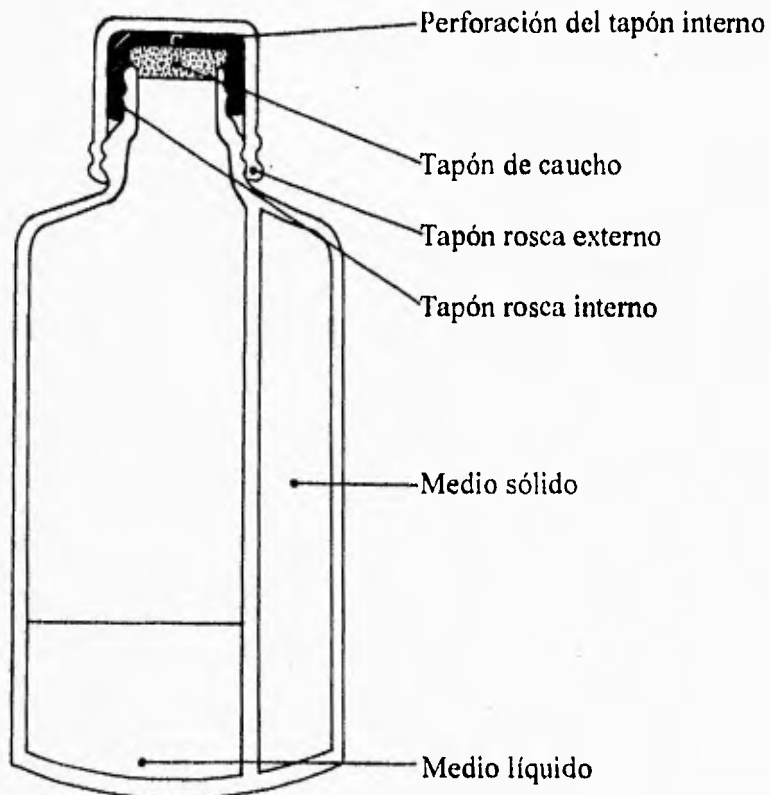
## 5. MATERIAL Y MÉTODOS

### 5.1 *Sistemas empleados para hemocultivos*

#### *Sistema Ruiz Castañeda*

##### Componentes del sistema

Frasco rectangular con doble tapón rosca, que contiene medio en dos fases: una sólida (20 mL) y una líquida (15 mL).



### **Formulación del medio**

Medio enriquecido que por sus dos fases permite el crecimiento de microorganismos aerobios, microaerófilos y anaerobios.

#### **Medio sólido**

	Gramos/Litro
Peptona de caseína	17.0
Peptona de harina de soya	3.0
D(+)Glucosa	2.5
Cloruro de sodio	5.0
Fosfato dipotásico	2.5
Agar	10.0

#### **Medio líquido**

	Gramos/Litro
Peptona de caseína	17.0
Peptona de harina de soya	3.0
D(+)Glucosa	2.5
Cloruro de sodio	5.0
Fosfato dipotásico	2.5
Polianetol sulfonato de sodio	0.5

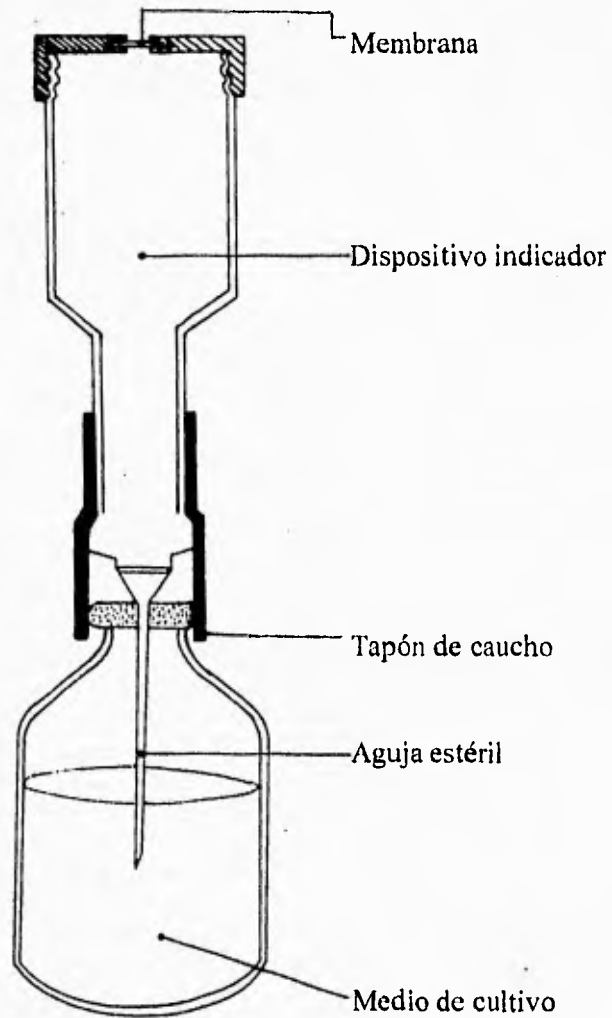
### **Fundamento**

Al desplazar la muestra de sangre con medio líquido, sobre el medio sólido, la presencia de microorganismos en la muestra provocará el desarrollo de los mismos, ya sea únicamente en la fase líquida (desarrollo de anaerobios y microaerófilos), que se evidencia por cambios en el medio como turbiedad, lisis de los eritrocitos, etc, o bien en ambas. Los microorganismos aerotolerantes regularmente forman colonias en la fase sólida del medio con lo que la evidenciación es absoluta.

### *Sistema Signal-Oxoid*

#### **Componentes del sistema**

1. Frasco ámpula sellado de hemocultivo conteniendo 80 mL con medio de cultivo especial.
2. Dispositivo indicador de crecimiento estéril, con membrana de ventilación hidrofóbica de  $0.2\mu$  de diámetro.



### Formulación del medio

La composición del medio, favorece el crecimiento de organismos aerobios, anaerobios y microaerófilos.

	Gramos/Litro
Caldo triptona soya	10.0
Gelatina-peptona	10.0
Extracto de levadura	5.0
Extracto de carne	5.0
Cloruro sódico	8.0
Nitrato potásico	2.0
Glucosa	1.0
L-arginina	1.0
Piruvato sódico	1.0
Gelatina	1.0
Tioglicolato sódico	0.5
Clorhidrato de cistina	0.4
Bicarbonato sódico	0.4
Buffer de fosfatos	0.3
Polianetol sulfonato sódico	0.3
Ditiotreitol	0.2
Sulfato de adenina	0.01
Succinato sódico	0.01
Cloruro amónico	0.008
Sulfato de magnesio	0.008
Menadiona	0.005

pH 7.0

Se ha adicionado 0.03% de polianetol sulfonato sódico (SPS), para impedir la coagulación de la sangre, neutralizar la acción bactericida del suero humano, evitar la fagocitosis, e inactivar parcialmente algunos antibióticos (estreptomina, kanamicina, gentamicina y polimixina B). El SPS puede inhibir algunas cepas de *N. meningitidis* y *N. gonorrhoeae*, por lo que se ha adicionado gelatina al medio para contrarrestar esta inhibición. Cuando se adiciona sangre humana a este medio, se produce la liberación de CO<sub>2</sub> en el espacio superior del frasco, en la proporción 2.5 a 5% V/V.

## **Fundamento**

El medio está ideado para crear cierta presión en el frasco cerrado, conforme el microorganismo se va desarrollando. El aumento de presión positiva se aprecia en el dispositivo indicador de crecimiento, conectado con el frasco después de haber adicionado la muestra de sangre. La presión positiva en el frasco desplaza una cantidad de la mezcla sangre/caldo a esta cámara indicadora de la actividad microbiana.

## ***5.2 Selección de muestras***

### ***Población objetivo***

Muestras sanguíneas obtenidas para su cultivo, de pacientes hospitalizados en el INP (Instituto Nacional de Pediatría) con diagnóstico presuntivo de sepsis ó sometidos a una intervención quirúrgica, exangineotransfusión, cateterización, etc.

### ***Criterios de inclusión***

1. Muestras sanguíneas obtenidas del mismo paciente, en el mismo sitio de punción y que de manera paralela y simultánea fueron inoculadas en ambos sistemas para hemocultivos.

### ***Criterios de exclusión***

1. Muestra sanguínea obtenida del paciente e inoculada en uno sólo de los sistemas para hemocultivos.
2. Muestras sanguíneas obtenidas del mismo paciente de lugares distintos de punción e inoculadas cada una en cada uno de los sistemas para hemocultivos.
3. Muestras sanguíneas obtenidas del mismo paciente y sitio de punción, inoculando cada uno de los sistemas en días distintos.

### ***Criterios de eliminación***

1. Muestras sanguíneas obtenidas bajo los criterios de inclusión y que al momento de inocularse en los sistemas para hemocultivos, alguno de estos o ambos fueron abiertos en su totalidad, pudiéndose evidenciar posteriormente en el laboratorio.
2. Muestras sanguíneas que fueron obtenidas anteriormente y llevadas al laboratorio en recipientes no estériles para su posterior cultivo.

### ***5.3 Diseño experimental***

Se les entregó, a cada médico que requería del análisis de hemocultivo para su paciente, un frasco con medio de cultivo de Ruiz Castañeda y un segundo frasco con el medio de cultivo comercial SIGNAL-OXOID<sup>MR</sup>; adjunto a estos frascos, un instructivo señalando que la muestra sanguínea debía ser tomada del mismo sitio de punción del paciente, inoculada en ambos sistemas para hemocultivos de manera paralela y simultánea, y que debían ser remitidos al Laboratorio de Bacteriología Clínica del INP.

#### ***Toma de muestra***

Cuando el sitio de venopunción ha sido seleccionado, es necesaria la descontaminación de la piel, ya sea con alcohol al 70% o solución al 2% de yodo (cuando no existe hipersensibilidad). La punción se realiza con aguja y jeringa estériles, teniendo cuidado de no tocar con la mano la zona ya desinfectada. La cantidad de sangre que se extrae varía de acuerdo con la edad y el estado del paciente. Usualmente 10 mL de sangre en el adulto y de 1 a 2 mL en niños son suficientes para el cultivo. Sin embargo en recién nacidos no es posible extraer la cantidad de sangre recomendada y lo que más se puede obtener son 0.5 mL.



### ***Inoculación de los hemocultivos***

Antes de extraer la muestra sanguínea se preparan los frascos para hemocultivos. Se revisan de que no presenten ninguna alteración y enseguida se remueve el tapón rosca externo del sistema Ruiz Castañeda y la protección de plástico verde del sistema OXOID, dejando ver en ambos sistemas el tapón de caucho, que en el sistema Ruiz Castañeda se observa a través del tapón rosca interno el cual tiene un orificio y en el sistema OXOID rodeado por una rosca metálica. Estos tapones se desinfectan con alcohol o solución de yodo cuidando de no dejar un exceso.

Ya extraída la muestra sanguínea se inocula la mitad del volumen a través del tapón de caucho de cada uno de los sistemas para hemocultivos de manera equitativa. La cantidad de sangre requerida para los sistemas es variada, se ha recomendado que la dilución sea de 1:10 a 1:20 volumen de sangre/volumen de medio de cultivo líquido, sin embargo en el sistema OXOID de 0.5 mL a 10 mL. y en el sistema Ruiz Castañeda de 0.5 mL hasta igualar la cantidad de medio de cultivo líquido, han reportado buenos resultados.

Después de inoculados los hemocultivos son rotulados para ser identificados posteriormente en el laboratorio.

### ***Procedimiento del laboratorio***

Al recibirse la muestra en el laboratorio de Bacteriología se realizó el registro de ambos sistemas en base al número de identificación del paciente, nombre, edad, servicio hospitalario en que se encuentra, número de cama y fecha de recolección de los hemocultivos. Al mismo tiempo se le asignó un número progresivo interno del laboratorio.

El sistema Ruiz Castañeda fue inclinado para que la mezcla sangre medio de cultivo líquido permaneciera por espacio de 30 minutos sobre la pared de medio sólido para facilitar la formación de colonias (observar esquema en *Sistemas para hemocultivos*, página 20), mientras el hemocultivo comercial fue incubado durante una hora a 37°C previa agitación, en la mayoría de los casos esto no se hizo necesario ya que los

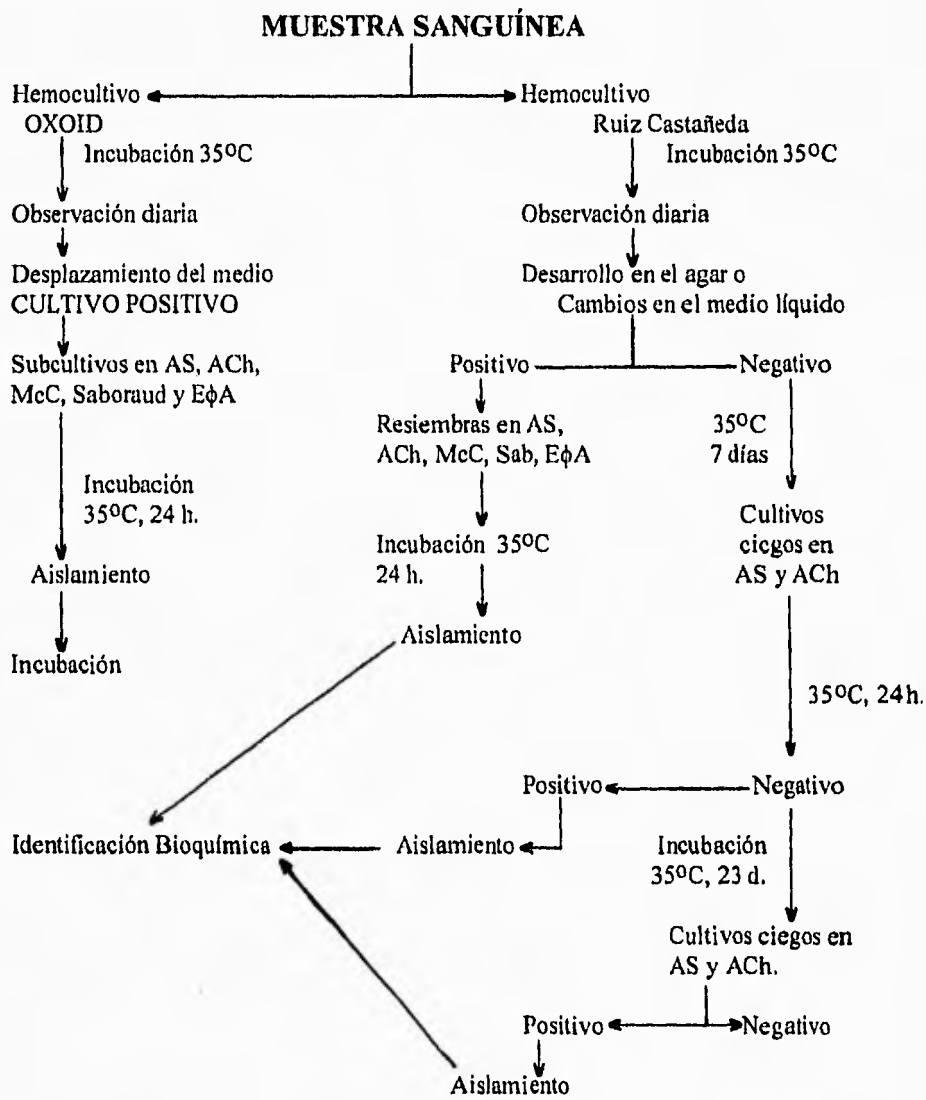
hemocultivos no eran enviados inmediatamente al laboratorio sino algunas horas después de haber sido inoculados, sin embargo en algunos casos los cultivos si eran llevados luego de haberse inoculado y por lo tanto requerían de esta incubación para la posterior introducción del dispositivo indicador el cual es colocado en condiciones de esterilidad, limpiando el tapón de caucho del frasco con medio de cultivo/sangre y destapando de manera cuidadosa la aguja del dispositivo para introducir esta a través del tapón. Luego del tratamiento ambos hemocultivos fueron incubados en iguales condiciones (35°C).

Los hemocultivos fueron revisados diariamente en busca de positividad, de lo contrario el hemocultivo de Ruiz Castañeda era inclinado durante unos segundos. Los hemocultivos se manifestaban como positivos cuando en el sistema de Ruiz Castañeda presentaba formación de colonias en el medio sólido o bien cambios como turbidez en el medio líquido, y en el sistema OXOID cuando existía desplazamiento de la mezcla sangre/medio de cultivo hacia el contenedor del dispositivo indicador.

En los hemocultivos positivos se realizaron subcultivos en medios distintos: enriquecidos (Agar Sangre y Agar Chocolate), selectivos (Etil fenil agar y Saboraud), y diferenciales (Agar McConkey), para el posterior aislamiento e identificación del microorganismo presente.

A los hemocultivos negativos, en el caso del sistema Ruiz Castañeda se realizaron subcultivos en Agar Sangre y Agar Chocolate a los 7 y 30 días de incubación en búsqueda de microorganismos de lento crecimiento, en el caso del sistema OXOID no es recomendado hacer subcultivos periódicos después de 7 días de incubación, sin embargo se realizó un subcultivo a los 30 días de incubación para buscar microorganismos que no produzcan la cantidad suficiente de CO<sub>2</sub> durante su desarrollo para manifestarse como positivo, como es el caso de las *Brucellas sp.*

El procedimiento seguido en el laboratorio con los hemocultivos se resume en el siguiente diagrama:



AS	Agar Sangre
ACh	Agar Chocolate
EφA	Etil Fenil Agar
Sab	Saboraud
A McC	Agar McConkey

## 6. RESULTADOS

1. De 98 muestras recolectadas e inoculadas en ambos sistemas de hemocultivos, se obtuvieron 25 aislamientos (Tabla 1), encontrándose que sólo en 11 de ellos el resultado es el mismo, mientras que en el resto de los aislamientos (14) se tiene resultado distinto. Teniendo así, que para el sistema Ruíz Castañeda la positividad fue de 21.4% (21 resultados de un total de 98) y para el sistema comercial de 17.3% (17 resultados de un total de 98).
2. Los microorganismos recuperados en ambos sistemas varían en número y género (Gráfica 1).
3. En el hemocultivo de Ruíz Castañeda los microorganismos con mayor frecuencia aislados son los SCN; se presentan en un 47.6% (10 aislamientos, del total de 21 resultados positivos), en tanto que en el sistema OXOID la frecuencia es de 35.3% (6 aislamientos, del total de 17 resultados positivos).
4. Sólo en el sistema OXOID se recuperó *S. pneumoniae* y únicamente en el sistema Ruíz Castañeda se aislaron *Micrococcus sp* y *Penicillium sp*.
5. En los 14 casos de aislamientos con resultados distintos, la aplicación de cuestionarios de datos clínicos y hematológicos del paciente, simultáneos al procesamiento de los hemocultivos (Anexo V), permitieron llegar a una conclusión que permite diferenciar si se trata de una sepsis verdadera o una contaminación (Tabla 3).

Nota: Los valores fueron interpretados en base a la edad de los pacientes (Anexos II-IV).

**TABLA 1. MICROORGANISMOS RECUPERADOS EN  
HEMOCULTIVOS.  
OXOID VS RUIZ CASTAÑEDA.**

**MICROORGANISMOS**

	<b>OXOID</b>	<b>RUIZ CASTAÑEDA</b>
1.	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>
2.	SCN	SCN
3.	SCN	SCN
4.	Negativo	SCN
5.	<i>S. aureus</i>	Negativo
6.	<i>Salmonella sp</i>	<i>Salmonella sp</i>
7.	<i>Aeromonas sp</i>	<i>Aeromonas sp</i>
8.	<i>Aeromonas sp</i>	<i>Aeromonas sp</i>
9.	Negativo	SCN
10.	SCN	SCN
11.	Negativo	<i>Micrococcus sp</i>
12.	<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. pneumoniae</i>
13.	<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. pneumoniae</i>
14.	Negativo	<i>Candida sp</i>
15.	Negativo	SCN
16.	Negativo	SCN
17.	SCN	<i>Penicillium sp</i>
18.	Negativo	SCN
19.	SCN	Negativo
20.	Negativo	SCN
21.	<i>K. pneumoniae</i>	SCN
22.	SCN	Negativo
23.	<i>S. pneumoniae</i>	Negativo
24.	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>
25.	<i>Candida sp</i>	<i>Candida sp</i>

SCN *Staphylococcus coagulasa* negativos

**TABLA 2. COMPARACIÓN DE AISLAMIENTOS EN HEMOCULTIVOS. OXOID VS RUIZ CASTAÑEDA.**

Microorganismos	OXOID	Ruiz Castañeda
<b>Gram (+)</b>	58.8%	61.9%
SCN	35.3%	47.6%
<i>S. aureus</i>	17.6%	9.5%
<i>S. pneumoniae</i>	5.9%	ND
<i>Micrococcus sp</i>	ND	4.8%
<b>Gram (-)</b>	35.3%	23.8%
<i>Salmonella sp</i>	5.9%	4.8%
<i>Aeromonas sp</i>	11.8%	9.5%
<i>K. pneumoniae</i>	17.6%	9.5%
<b>Hongos</b>	5.9%	14.3%
<i>Candida sp</i>	5.9%	9.5%
<i>Penicillium sp</i>	ND	4.8%

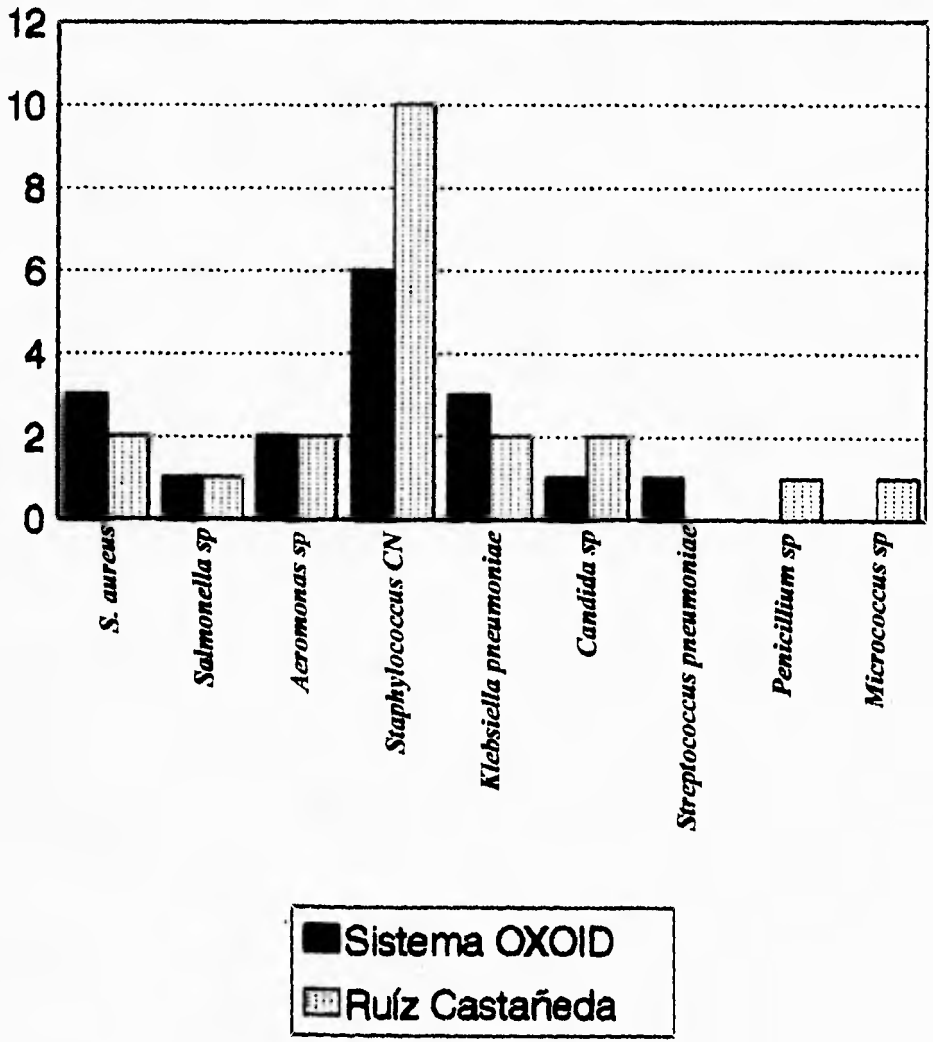
SCN *Staphylococcus coagulasa* negativos  
 ND No desarrollo

**TABLA 3. RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE LOS 14 AISLAMIENTOS DISTINTOS PARA DIFERENCIAR ENTRE SEPSIS Y CONTAMINACIÓN.**

No. de aislamiento *	Sistema OXOID	Sistema RC	Conclusión
4	Negativo	SCN	Contaminación por catéter.
5	<i>S. aureus</i>	Negativo	Sepsis por transfusión.
9	Negativo	SCN	Contaminación.
11	Negativo	<i>Micrococcus sp</i>	Contaminación.
14	Negativo	<i>Candida sp</i>	Sepsis verdadera.
15	Negativo	SCN	Contaminación
16	Negativo	SCN	Contaminación.
17	SCN	<i>Penicillium sp</i>	Contaminación.
18	Negativo	SCN	Contaminación.
19	SCN	Negativo	Contaminación
20	Negativo	SCN	Contaminación.
21	<i>K. pneumoniae</i>	SCN	Sepsis verdadera.
22	SCN	Negativo	Contaminación
23	<i>S. pneumoniae</i>	Negativo	Sepsis verdadera.

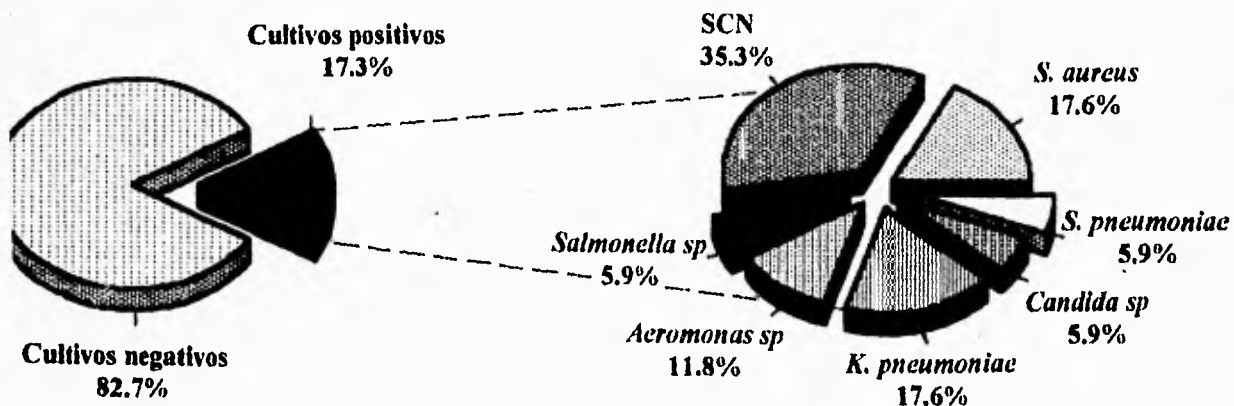
\* No. asignado de acuerdo a la Tabla 1.

**GRÁFICA 1. MICROORGANISMOS RECUPERADOS EN HEMOCULTIVOS OXOID VS RUIZ CASTAÑEDA**

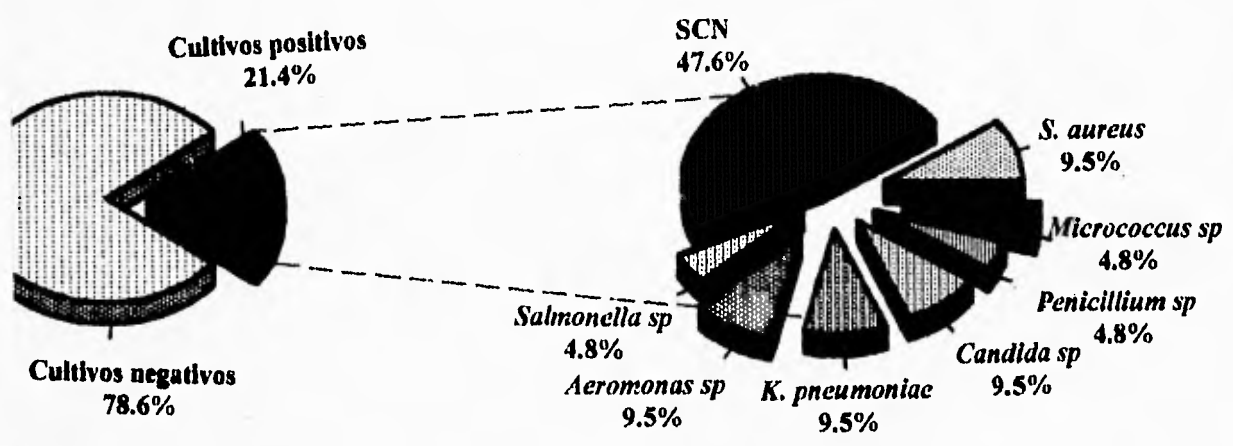




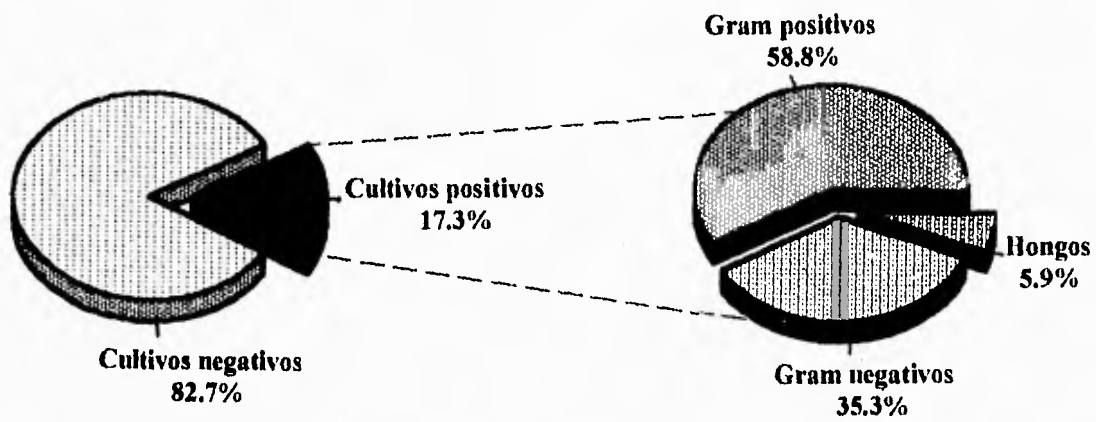
**GRÁFICA 2. MICROORGANISMOS RECUPERADOS SISTEMA OXOID**



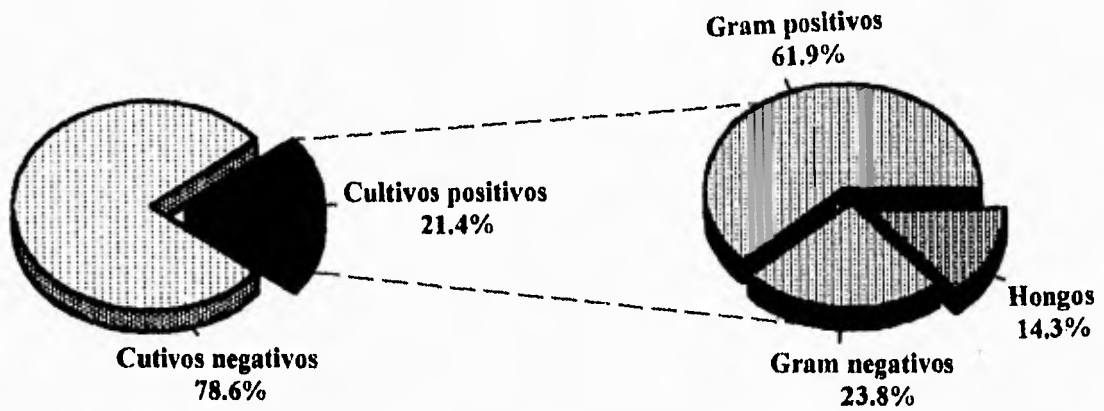
**GRÁFICA 3. MICROORGANISMOS RECUPERADOS SISTEMA RUIZ CASTAÑEDA**



**GRÁFICA 4. MICROORGANISMOS RECUPERADOS SISTEMA OXOID**



**GRÁFICA 5. MICROORGANISMOS RECUPERADOS  
SISTEMA RUIZ CASTAÑEDA**



## 7. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Los resultados obtenidos para ambos sistemas de hemocultivos son muy variados, esto radica en que se utilizaron para la comparación muestras clínicas, nuestro interés fue el de observar como era el comportamiento de los sistemas en muestras de pacientes reales, donde existe una diversidad de factores antagónicos para el desarrollo de los microorganismos como son: altos niveles de antimicrobianos, anticuerpos circulantes, factores del complemento, etc.

En el sistema de Ruiz Castañeda, el número de aislamientos fue superior, en relación con el sistema OXOID. Sin embargo, el principal microorganismo recuperado fue SCN, que por ser flora habitual de la piel, está considerado como el principal contaminante de hemocultivos; además se aislaron en el sistema Ruiz Castañeda otros microorganismos contaminantes provenientes del medio ambiente (*Micrococcus sp* y *Penicillium sp*), en tanto que en el sistema OXOID la recuperación de SCN fue menor. Estos resultados tienen razón de ser, ya que el sistema Ruiz Castañeda no es hermético, mientras que el sistema comercial si lo es.

De 25 aislamientos totales, en 14 de ellos, el resultado no fue el mismo y aquí surgió la duda en cuanto a la interpretación del resultado, para conocer si el microorganismo aislado era realmente causante de bacteremia, o bien provenía de una contaminación, por lo cual, fue necesaria la aplicación de un cuestionario para cada caso en donde se recopilaron datos clínicos y otros estudios de laboratorio que indicaran por una parte rasgos de infección y por otra, cuál podría ser el origen del microorganismo aislado (los datos se recopilaron en base al día en que se recolectaron los hemocultivos) (AnexoV).

En los 11 casos donde el resultado fue el mismo se interpretaron como sepsis verdadera, mientras que en los 14 casos con aislamientos distintos, el análisis de cada uno es el siguiente (el número es asignado de acuerdo con la Tabla 1):

#### **Aislamiento 4:**

Paciente femenino de 17 años de edad con diagnóstico de síndrome encefálico. Presentó fiebre, frecuencia respiratoria aumentada y taquicardia, además con conteo leucocitario ligeramente elevado, sin presencia de células inmaturas. En los hemocultivos tomados el mismo día se aisló en el sistema Ruiz Castañeda SCN, mientras que en el sistema OXOID el resultado fue negativo, en otros hemocultivos tomados un día anterior y dos días después, así como el cultivo de LCR y urocultivo, los resultados fueron negativos, sin embargo al retirar el catéter y ser cultivado se aisló SCN. Esto sugiere que el aislamiento de SCN del hemocultivo provino de catéter, por lo tanto se trata de una contaminación por colonización del catéter.

#### **Aislamiento 5:**

Paciente masculino de 4 meses de edad, con diagnóstico de probable cardiopatía acianógena, ictericia en estudio y hemorragia. No presentó fiebre, su frecuencia respiratoria y cardíaca se ignoran, conteo leucocitario normal, sin presencia de células inmaturas y trombocitopenia, debido a la hemorragia, fue sometido a exanguineotransfusión y venodisección para la implantación de un catéter. Los hemocultivos tomados ese día reportan los siguientes resultados: sistema Ruiz Castañeda negativo, y sistema OXOID *S. aureus*, no se realizaron otros estudios bacteriológicos y el resultado del cultivo del catéter no se encontró (o tal vez no se realizó). Ya que el paciente se había cubierto contra Gram positivos con vancomicina desde cuatro días anteriores a la recolección de los hemocultivos, el aislamiento de *S. aureus* del hemocultivo puede ser el resultado de una bacteremia transitoria, causa de una exanguineotransfusión, que sólo fue detectada en el sistema OXOID por el bajo número de microorganismos circulantes y el nivel de antimicrobiano presente en la sangre.

**Aislamiento 9:**

Paciente masculino de 2 meses de edad, con diagnóstico de bronconeumonía. Presentó fiebre, frecuencia respiratoria elevada, frecuencia respiratoria elevada y frecuencia cardíaca normal, conteo leucocitario normal, sin presencia de neutrófilos inmaduros y trombocitopenia. Los resultados de los hemocultivos fueron para el sistema OXOID, negativo y para el sistema Ruiz Castañeda SCN, sin existir otros estudios bacteriológicos, ya que no se encuentran otros factores que indique que se trataba de sepsis bacteriana, el padecimiento pudo deberse a otro origen y por lo tanto el SCN provino de una contaminación.

**Aislamiento 11:**

Paciente femenino de 4 años de edad HIV(+), con diagnóstico de bronconeumonía e infección de vías urinarias por *Candida sp.* Presentó fiebre, frecuencia respiratoria elevada, taquicardia, leucopenia y trombocitosis, además de candidiasis oral. Los resultados de los hemocultivos tomados en dos días diferentes son: para el sistema OXOID, negativos y para el sistema Ruiz Castañeda, el primero negativo y el segundo con un aislamiento de *Micrococcus sp.*, sin haber referencia de otro estudio bacteriológico. Se administraron tres diferentes antimicrobianos (vancomicina, ceftazidime y fluconazol), para cubrir al paciente contra cocos Gram positivos, bacilos Gram negativos y levaduras. Los signos clínicos y valores hematológicos del paciente indican que presentó sepsis sin embargo el uso de antimicrobianos impidieron el aislamiento de *Candida sp.*, que en el estado inmunológico del paciente, es el principal microorganismo oportunista. Por lo tanto el aislamiento de *Micrococcus sp.*, que es un microorganismo presente en el ambiente es debido a una contaminación durante la manipulación del hemocultivo.

**Aislamiento 14:**

Paciente femenino de 14 años de edad, con diagnóstico de insuficiencia hepática y eritema múltiple medicamentoso. Presentó candidiasis oral y vulvovaginitis, fiebre, frecuencia respiratoria y cardíaca normales, así como valores hematológicos normales. Los resultados de los hemocultivos son: para el sistema OXOID negativo y para el sistema Ruiz Castañeda *Candida sp.*, ambos tomados a través del catéter, otros hemocultivos tomados con anterioridad reportaron resultados negativos, al igual que el

resultado del catéter, sin embargo los resultados del urocultivo y exudado faríngeo reportaron aislamiento de *Candida sp.* Por lo tanto, esto indica que el paciente presentó sepsis por *Candida sp.* y únicamente fue recuperado en el sistema Ruiz Castañeda, además de que no se tenía cubierto al paciente contra levaduras, si no únicamente con vancomicina y ceftazidime.

#### **Aislamiento 15:**

Paciente femenino de 10 años de edad con diagnóstico de síndrome febril debido a una probable endocarditis, probable otitis media crónica o probable mononucleosis infecciosa. Presentó vómito, fiebre y leucocitosis, mientras que sus demás valores hematológicos y signos clínicos fueron normales, según lo reportado por el médico. El cultivo de sangre en el sistema OXOID fue negativo, mientras que el sistema Ruiz Castañeda, SCN, en otros hemocultivos posteriores no se obtuvo aislamiento, en tanto que en exudado faríngeo y cultivo de secreción nasal se aislaron *Neisseria sp.* y *S. aureus* respectivamente. No se administró al paciente ningún tipo de antimicrobiano, por lo tanto el aislamiento de SCN fue probablemente provocado por contaminación que pudo provenir de piel y la fiebre no fue causada por bacterias, sino por otra etiología.

#### **Aislamiento 16:**

Paciente femenino de 1 mes de vida, habiendo nacido a las 38 semanas de gestación durante un parto séptico, se diagnóstico una probable endocarditis bacteriana y probable sepsis. Presentó enterocolitis, hemorragia e hiperbilirrubinemia por lo que la paciente fue transfundida. No presentó fiebre, su frecuencia cardíaca y respiratoria fueron normales, con conteo leucocitario normal, sin presencia de formas inmaduras y trombocitosis. En los hemocultivos simultáneos se aisló del sistema de Ruiz Castañeda SCN y en el sistema OXOID no hubo desarrollo; en un hemocultivo previo así como en el urocultivo y en el coprocultivo sólo se encontró flora normal, se reportó presencia de catéter sin que se le haya practicado cultivo, por lo cual el SCN aislado pudo provenir de una contaminación de piel, o bien que el catéter se encontraba colonizado. El paciente tiene el antecedente de haber recibido antimicrobiano contra cocos Gram positivos.



**Aislamiento 17:**

Paciente masculino de 5 meses de vida con diagnóstico de otitis media izquierda supurativa y neumonía basal derecha. Presentó fiebre, frecuencia cardíaca normal y aumento en la frecuencia respiratoria debido a la neumonía, además de letargo, trombocitopenia, el conteo de leucocitos fue normal, sin presencia de neutrófilos inmaduros. En los hemocultivos se aisló en el sistema Ruiz Castañeda, *Penicillium sp* y en sistema OXOID, SCN sin haber otros estudios bacteriológicos; no se administró previamente al paciente algún antimicrobiano. Por esto, la diferencia del tipo de microorganismos aislados en los hemocultivos, sugiere que se trata de una contaminación y el estado del paciente fue provocado por otro agente no bacteriano.

*Penicillium sp* es un hongo presente en el ambiente, mientras que SCN es flora habitual de piel, además de que al paciente no se le había implantado catéter que pudiera ser colonizado por SCN justificando el aislamiento de este microorganismo.

**Aislamiento 18:**

Paciente femenino de 15 años de edad con diagnóstico de celulitis de miembro torácico izquierdo y crisis convulsivas tónico crónicas generalizadas; el día que se tomaron los hemocultivos se presentó afebril, con frecuencia respiratoria disminuida y frecuencia cardíaca normal, sin embargo, se refiere con síndrome disúrico y picos febriles con anterioridad; no se reportó conteo de leucocitos y el conteo plaquetario fue normal, mientras que el tratamiento antimicrobiano anterior a la toma de la muestra fue con amikacina. El resultado de los hemocultivos reportan para el sistema Ruiz Castañeda, SCN y para el sistema OXOID negativo, además de un urocultivo con aislamiento negativo. Aunque es posible aislar SCN por infecciones urinarias, el urocultivo no respalda al aislamiento del hemocultivo, por lo que puede ser que el resultado se deba a una contaminación en el momento de la obtención de la sangre o bien del sistema, ya que los signos clínicos y valores hematológicos no apoyan la presencia de sepsis y no existen sondas o catéteres implantados que pudiesen haber sido fuente de infección.

**Aislamiento 19:**

Paciente masculino de 3 años de edad, con diagnóstico de bronconeumonía, otitis media aguda izquierda y síndrome encefálico en estudio; presenta fiebre, frecuencia respiratoria elevada, taquipnea, alteraciones neurológicas, irritabilidad, conteo de leucocitos ligeramente elevados y conteo de plaquetas normal. En el hemocultivo de Ruiz Castañeda el resultado fue negativo mientras que en el sistema OXOID se aisló SCN, sin haber referencia de otros estudios bacteriológicos, se comenzó a administrar amikacina y PGP (Penicilina G potásica) días antes de la toma de la muestra. Aunque los signos clínicos del paciente reflejan la presencia de sepsis, la ausencia de otros estudios bacteriológicos que confirmen el aislamiento del hemocultivo, así como el tratamiento antimicrobiano administrado indican que se trata de una contaminación al tomar la muestra.

**Aislamiento 20:**

Paciente femenino de 1 año de edad con diagnóstico de bronconeumonía; presenta fiebre, frecuencia respiratoria elevada, taquicardia, gastroenteritis, conteo de leucocitos bajo y conteo plaquetario normal. Los hemocultivos fueron tomados al ingreso de la paciente sin haberse administrado antimicrobianos y los resultados fueron: para el sistema Ruiz Castañeda SCN y para el sistema OXOID negativo; posteriormente se comenzó el tratamiento con PGS (Penicilina G sódica) y no se realizó otro estudio bacteriológico. Por lo que, la mayoría de las cepas de SCN son sensibles a PGS y el paciente presentó las condiciones de sepsis, el SCN no se relaciona dentro de los principales microorganismos causantes de bronconeumonía, por lo que es más factible que provenga de piel, adquirido durante la toma de la muestra.

**Aislamiento 21:**

Paciente masculino de 1 mes de vida con diagnóstico de bronconeumonía, presentó febrícula, frecuencia respiratoria elevada, taquipnea, leucopenia y trombocitopenia. El resultado de los hemocultivos simultáneos fue: para el sistema Ruiz Castañeda SCN y para el sistema OXOID *K. pneumoniae*, cultivos posteriores reportaron para sangre, urocultivo y catéter aislamiento de *K. pneumoniae*. Por esto se deduce que se produjo una metástasis séptica. El no haberse aislado el microorganismo en ambos sistemas en un principio fue debido a la amplia variedad de antimicrobianos administrados al

paciente contra bacilos Gram negativos (ceftazidima, amikacina y ampicilina), que redujeron el número de microorganismos viables, inhibiendo el desarrollo de *K. pneumoniae*, y permitiendo el crecimiento de SCN. El deceso del paciente fue provocado por choque séptico.

#### **Aislamiento 22:**

Paciente femenino de 3 años de edad con diagnóstico de edema de glotis, cardiopatía congénita y probable endocarditis bacteriana por *S. aureus*, *S. epidermidis* y *Pseudomonas sp*, lo que sugirió la toma de hemocultivos y administrar tratamiento antimicrobiano para cubrir al paciente contra estos microorganismos, sin embargo, se presenta afebril, frecuencia respiratoria elevada, frecuencia cardíaca normal, conteo de leucocitos y plaquetas normales. El resultado de los hemocultivos simultáneos fue: para el sistema de Ruiz Castañeda negativo y para el sistema OXOID, SCN y en cultivos diversos el resultado también fue negativo, aún el cultivo del catéter. Ya que no existen condiciones ni cultivos que apoyen el aislamiento del SCN, además de que el paciente murió a causa de insuficiencia cardíaca, la presencia de este microorganismo es debida a una contaminación al momento de la toma de la muestra.

#### **Aislamiento 23:**

Paciente masculino de 4 años de edad, con diagnóstico de derrame pleural derecho, empiema, neumonía, presentó fiebre, frecuencia respiratoria aumentada, taquicardia, leucocitosis y trombocitosis. El resultado de los hemocultivos reportó para el sistema Ruiz Castañeda negativo y para el sistema OXOID *S. pneumoniae* sin haberse realizado otros cultivos bacteriológicos. Los signos y síntomas clínicos, así como los valores hematológicos apoyan el aislamiento de *S. pneumoniae*, además de reportarse como el principal agente causal de neumonía. Es un microorganismo de difícil crecimiento, por lo cual no puede ser tomado como contaminación, aunado a que se realizó una coagulación en latex en el suero del paciente encontrándose antígeno para *S. pneumoniae*.

En base al análisis de cada caso se llegó a una conclusión en cada uno de ellos (Tabla 3), donde se observa que 6 de los SCN recuperados en el sistema Ruiz Castañeda, son provenientes de contaminación de diversas

fuentes, en tanto que en el sistema OXOID 3 de los aislamientos tienen las mismas características.

El aislamiento de *Micrococcus sp* y *Penicillium sp*, pueden atribuirse al mismo factor.

Se encontró que los restantes 5 aislamientos del análisis, si correspondían a una bacteremia o septicemia, siendo apoyados por los cuestionarios; 3 de estos aislamientos se realizaron en el sistema OXOID y 2 en el sistema Ruiz Castañeda.

Observamos por lo tanto, que en el sistema OXOID se recuperaron en total 14 microorganismos causantes de septicemia y en el sistema Ruiz Castañeda 13. La diferencia es insignificante, sin embargo, cabe mencionar que el tipo de microorganismos aislados en ambos sistemas es igual, a excepción de que únicamente en el sistema OXOID se aisló *S. pneumoniae*, que es un microorganismo de difícil recuperación.

## 8. CONCLUSIONES

1. De 98 muestras recolectadas, se obtuvo un aislamiento microbiano de 21.4% para sistema Ruiz Castañeda y de 17.3% para el sistema OXOID.
2. En 56% de los aislamientos, el resultado fue distinto y en 44% fue igual para ambos sistemas en cuanto al aislamiento e identificación de los siguientes microorganismos: *S. aureus*, SCN, *Salmonella sp.*, *Aeromonas sp.*, *Klebsiella sp.* y *Candida sp.*
3. Del total de los aislamientos, se confirmaron 16 como bacteremia, que corresponde al 64%, mientras el 36% restante es proveniente de contaminación.
4. La frecuencia mas alta de aislamientos de microorganismos considerados como contaminantes se observó en el sistema Ruiz Castañeda con 72%, mientras que en el sistema OXOID sólo 28%.
5. El microorganismo aislado con mayor frecuencia considerado como contaminante, fue SCN.
6. En el sistema OXOID se detectaron 14 bacteremias, en tanto que en el sistema de Ruiz Castañeda 13.
7. Únicamente en el sistema OXOID se recuperó *S. pneumoniae*.
8. En el sistema comercial OXOID presenta hasta el momento, una buena alternativa para ser usado en el laboratorio de rutina, en sustitución del sistema de Ruiz Castañeda, sin embargo, el trabajo continúa ya que aún el número de muestras es escaso para tomar un decisión definitiva.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

1. Artam M., Domenech E., and Weiner M. (1983). "Growth of Haemophilus influenzae in simulated blood cultures supplemented with hemin and NAD". *Journal of Clinical Microbiology*. 18(2):376-379.
2. Balows A., Hausler W.J., Hermann K.L., Isenberg H.D., and Shadomy H.J. (1991). "Manual of Clinical Microbiology" Fifth edition. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
3. Bartlett R.C., Ellner P.D., and Washington J.A. II. (1974). "Blood Cultures" Cumitech I. Coordinating editor J.C. Sherris. American Society for Microbiology. Washington D.C.
4. Beckers B., and Lang H.R.M. (1982). "Bioluminescent measurement of ATP for the rapid detection of positive blood cultures". *Naturwissenschaften*. 69:145-146.
5. Bone Roger C. (1992). "Definitions for sepsis and organ failure". *Critical Care Medicine* 20(6):724-726.
6. Bone Roger C. and Members of the American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference Committee. (1992). "Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis". *Critical Care Medicines* 20(6):864-874
7. Bone Roger C. (1991). "Let's agree on terminology: Definitions of sepsis". *Critical Care Medicine*. 19(7):973-976

8. Canadian Multiple Organ Failure Study Group. (1991). "Sepsis-Clarity of existings terminology... or more confusion?". *Critical Care Medicine*. 19(8):996-998.
9. Cashman J.S., Boshard R., and Matsen J.M. (1983). "Viability of organisms held in the isolator blood culture system for 15h and their rapid detection by acridine orange staining". *Journal of Clinical Microbiology*. 18(3):709-712.
10. Christo G.G., Mathai J., Nalini B., Baliga M., and Venkatesh A. (1990). "Neonatal Citrobacter sepsis: Clinical and epidemiological aspects". *Indian Journal Pediatrics*. 57:781-784.
11. Courcol R.J., Fruchart A., Roussel-Del Vallez M., and Martin G.R. (1986). "Routine evaluation of the nonradiometric Bactec NR 660 system". *Journal of Clinical Microbiology*. 24(1):26-29.
12. Courcol R.J., Duhamel M., Decoster A., Lemaire V.M., Rastorgoueff M.L., Ochin D., and Martin G.R. (1992). "BioArgos: a fully automated blood culture system". *Journal of Clinical Microbiology*. 30(8):1995-1998.
13. Dato V.M. and Thirunoorthis (1987). "Recurrent broviac catheter infections". *The Journal of Infectious Diseases*. 155(5):1079.
14. Daley C., Modra I.L.J., and Wilkinson I. (1990). "Comparative evaluation of nonradiometric Bactec and improved Oxoid signal blood culture systems in a clinical laboratory". *Journal of Clinical Microbiology*. 28(7):1585-1590.
15. Davenport D.S., Massanari R.M., Pfaller M.A., Bale M.J., Streed S.A., and Hierholzer W.J. Jr. (1986). "Usefulness of a test for slime production as a marker for clinically significant infections with coagulase-negative Staphylococci". *The Journal Infectious Diseases*. 153(2):332-339.
16. Jawetz E., Melnick J.L., and Alderberg E.A. (1992). "Microbiologia Médica". Editorial El Manual Moderno. México, D.F.

17. Johnson Kevin B. (1993). "The Harriet Lane Handbook". A manual for pediatric house officers the Harriet Lane service, children's medical and surgical center of Jonhsons Hopkins Hospital. Thirteenth edition. Editorial Mosby Year Book.
18. Jungking D., Millan J., Allen S., Dyke J., and Hill E. (1986). "Clinical comparison of a new automated infrared blood culture system with the Bactec 460 system". *Journal of Clinical Microbiology*. 23(2):262-266.
19. Karppers-Klune M.C., Degener J.E., Stijnen T., and Abels J. (1989). "Complications from long-term indwelling central venous catheters in hematologic patients with special reference to infection". *Cancer* 64:1747-1752.
20. Kelley M.T., Roberts F.J., Henry D., Geere I., and Stith J.A. (1990). "Clinical comparison of Isolator and Bactec 660 resin media for blood culture". *Journal of Clinical Microbiology*. 28(9):1925-1927.
21. Kiehn T.E., Wong B., Edwards F.F., and Armstrong D. (1983). "Comparative recovery of bacteria and yeast from lysis-centrifugation and a conventional blood culture system". *Journal of Clinical Microbiology*. 18(2):300-304.
22. Knaus W.A., Sun X., Nystrom P., and Wagner D.P. (1992). "Evaluation of definitions for sepsis". *Chest*. 101:1656-1662.
23. MacFaddin Jean F. (1991). "Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica". Editorial Médica Panamericana. México, D.F.
24. Miale John B. (1985). "Hematología, Medicina del Laboratorio". Editorial Reverté. Barcelona, España.
25. Muller E., Takeda S., Goldman D.A., and Pier G.B. (1991). "Blood proteins do not promote adherence of coagulase-negative Staphulococci to materials". *Infection and Immunity*. 59(9):3323-3326.

**ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA**



26. Murray P.R., Traynor P., and Hopson D. (1992). "Critical assessment of blood culture techniques: analysis or recovery of obligate and facultative anaerobes, strict aerobic bacteria, and fungi in aerobic and anaerobic blood culture bottles". *Journal of Clinical Microbiology*. 30(6):1462-1468.
27. Muytjens Harry L., Zanen H.C., Sonderkamp H.J., Kolle L.A., Kaye Wachsmuth I., and Farmer J.J. III. (1983). "Analysis of eight cases of neonatal meningitis and sepsis due *Enterobacter sakasaki*". *Journal of Clinical Microbiology*. 18(1):115-120.
28. Noel G.J., O'Loughlin J.E., and Edelson P.J. (1988). "Neonatal *Staphylococcus epidermidis* right-sided endocarditis: description of five catheterized infants". *Pediatrics* 82(2):234-239.
29. Perea Evelio (1992). "Enfermedades infecciosas y Microbiología Clínica". Volúmenes 1 y 2. Editorial Dyoma. Barcelona, España.
30. Pfaller M.A., and Herwaldt L.A. (1988). "Laboratory, clinical, and epidemiological aspects of coagulase-negative *Staphylococci*". *Clinical Microbiology Reviews*. 1(3):281-299.
31. Reller B., Murray P.R., and MacLowry J.D. (1982). "Blood Cultures II". Cumitech 1A. Coordinating editor J.A. Washington II. American Society for Microbiology. 1-11
32. Ruiz Castañeda M. (1947). "A practical method for routine blood cultures in Brucellosis". *Pro. Exp. Biol. and Med.* 64:114-115
33. Ruiz Castañeda M. "Pruebas emergentes de laboratorio". Capítulo: Hemocultivos. Editorial A.I.C.A. 1984. México, D.F. Páginas 55-61
34. Sawhney D., Hinder S., Swiane D., and Bridson E.Y. (1986). "Novel method for detecting micro-organisms in blood cultures". *Journal Clinical Pathology*. 39:1259-1263.
35. Sprung C.L. (1991). "Definitions of sepsis- Have we reached a consensus?". *Critical Care Medicine*. 19(7):849-851.

36. St Geme J.W., Bell L.M., Baumgart S., D'Angio C.T., and Harrys M.C. (1990). "Distinguishing sepsis from blood culture contamination in young infants with blood cultures growing coagulase-negative Staphylococci". *Pediatrics* 86(2):157-162.
37. Tarrand J.J., Guillot C., Wenglar M., Jackson J., Lajeunesse J.D., and Rolston K.V. (1991). "Clinical comparison of the resin-containing Bactec 26 plus and the Isolator 10 blood culturing systems". *Journal of Clinical Microbiology*. 29(10):2245-2249.
38. Thorpe T.C., Wilson M.L., Turner J.E., Diguseppi J.L., Willert M., Mirrett S., and Reller L.B. (1990). "BacT/Alert: an automated colorimetric microbial detection system". *Journal Clinical Microbiology*. 28:1608-1612.
39. Washington J.A. (1990). "Improved laboratory diagnosis of septicemia". *Cleveland Clinical Journal of Medicine*. 58(5):377-378.
40. Washington J.A. II, and Iltrup D.M. (1986). "Blood cultures: Issues and controversies. *Reviews of Infectious Diseases*". 8(5):792-802.
41. Welby P.L., Zusag T.M., and Storch G.A. (1992). "Comparison of the Bactec Peds plus pediatrics blood culture vial with Roche pediatric Septi-Check for blood cultures from pediatric patients". *Journal of Clinical Microbiology*. 30(5):1361-1362.
42. York Mary K. (1990). "*Bacillus* species pseudobacteremia traced to contaminated gloves used in collection of blood from patients with acquired immunodeficiency syndrome". *Journal of Clinical Microbiology*. 28(9):2114-2116.
43. Zimmerman S.J., Gillikin S., Sofat N., Bartvholomew W.R., and Amsterdam D. (1990). "Case report and seeded blood culture study of *Brucella* bacteremia". *Journal of Clinical Microbiology*. 28(9):2139-2141.

## 10. ANEXOS

### *ANEXO I*

#### GLOSARIO

**Bacteremia.** La presencia de bacterias viables en la sangre.

**Bradycardia.** Disminución de la respuesta cardíaca por debajo del percentil 2.

**Falla orgánica múltiple.** Presencia de una alterada función orgánica.

**Febrícula.** Temperatura del cuerpo comprendida entre 37.6 a 37.9°C.

**Fiebre.** Temperatura corporal por encima de 38°C.

**Hipotermia.** Temperatura corporal por debajo de 35.6°C.

**Infeción.** Fenómeno caracterizado por una respuesta inflamatoria a la presencia de microorganismos por la invasión de tejidos del huésped normalmente estériles.

**Leucocitosis.** Aumento del número total de leucocitos por encima del límite superior normal para la edad y sexo.

**Leucopenia.** Es un descenso del número total de leucocitos por debajo de los valores normales.

**Sepsis.** La respuesta sistémica a la infección. Esta respuesta sistémica es manifestada por dos o más de las siguientes condiciones como el resultado de infección:

- Temperatura mayor a 38°C o menor a 36°C.
- Frecuencia cardíaca mayor a 90 latidos/min.
- Frecuencia respiratoria mayor a 20 respiraciones/min.
- Leucocitos, conteo mayor a 12,00 cells/mm<sup>3</sup>, menor a 4,000 cells/mm<sup>3</sup>  
o más de 10% de formas inmaduras.

**Sepsis severa.** Sepsis asociada con la disfunción de un órgano, hipoperfusión, o hipotensión. Hipoperfusión y anomalías en la perfusión pueden ser incluidas, pero no delimitan a la acidosis láctica, oliguria, o una alteración de la conciencia.

**Shock séptico.** Sepsis con hipotensión.

**Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica.** La respuesta inflamatoria sistémica a una variedad de severos insultos clínicos. La respuesta es manifestada por dos o más de las siguientes condiciones:

- Temperatura mayor a 38°C o menor a 36°C.
- Frecuencia cardíaca mayor a 90 latidos/min.
- Frecuencia respiratoria mayor a 20 respiraciones/min.
- Leucocitos, conteo mayor a 12,00 cells/mm<sup>3</sup>, menor a 4,000 cells/mm<sup>3</sup>  
o más de 10% de formas inmaduras.

**Taquicardia.** Aumento de la respuesta cardíaca.

**Taquipnea.** Aumento de la frecuencia respiratoria.

**Trombocitopenia.** Disminución del número de plaquetas circulantes (ejemplo: infección, hemorragia).

**Trombocitosis.** Aumento del recuento plaquetario.

## ANEXO II

### CONTEO LEUCOCITARIO Y PLAQUETARIO NORMAL, DE ACUERDO A LA EDAD.

Edad	Leucocitos/mm <sup>3</sup> X 1000 media (+2SD)	Plaquetas (103/mm <sup>3</sup> ) media
26-30 semanas	44	254
Gestación	(2-7)	(180-327)
28 semanas	---	275
32 semanas	---	290
Term <sup>2</sup> (cord)	18.1 (9-30) <sup>3</sup>	290
1-3 días	18.9 (9.4-34)	192
2 semanas	11.4 (5-20)	252
1 mes	10.8 (5-19.5)	
2 meses		
6 meses	11.9 (6-17.5)	
6 m a 2 años	10.6 (6-17)	(150-350)
2 a 6 años	8.5 (5-15.5)	"
6 a 12 años	8.1 (4.5-13.5)	"
12 a 18 años		
hombres	7.8 (4.5-13.5)	"
mujeres	7.8 (4.5-13.5)	"
Adultos		
hombres	7.4 (4.5-11)	"
mujeres	7.4 (4.5-11)	"

<sup>3</sup> Media (95% de confiabilidad). The Harriet Lane Handbook. 13th edition. 1993.

### ANEXO III

#### FRECUENCIA CARDÍACA ESPECÍFICA A LA EDAD

Edad	(Latidos/min)		
	2%	Media	98%
< 1 día	93	123	154
1 a 2 días	91	123	159
3 a 6 días	91	129	166
1 a 3 semanas	107	148	182
1 a 2 meses	121	149	179
3 a 5 meses	106	141	186
6 a 11 meses	109	134	169
1 a 2 años	89	119	151
3 a 4 años	73	108	137
5 a 7 años	65	100	133
8 a 11 años	62	91	130
12 a 15 años	60	85	119

The Harriet Lane Handbook. 13th edition. 1993.

**ANEXO IV**

**FRECUENCIA RESPIRATORIA NORMAL\***  
**(Respiraciones por minuto)**

<b>Edad (años)</b>	<b>Niños</b>	<b>Niñas</b>
0 a 1	31+8	30+6
1 a 2	26+4	27+4
2 a 3	25+4	25+3
3 a 4	24+3	24+3
4 a 5	23+2	22+2
5 a 6	22+2	21+2
6 a 7	21+3	21+3
7 a 8	20+3	20+2
8 a 9	20+2	20+2
9 a 10	19+2	19+2
10 a 11	19+2	19+2
11 a 12	19+3	19+3
12 a 13	19+3	19+2
13 a 14	19+2	18+2
14 a 15	18+2	18+3
15 a 16	17+3	18+3
16 a 17	17+2	17+3
17 a 18	16+3	17+3

---

The Harret Lane Handbook, 13th edition, 1993.

**ANEXO V**

**DATOS CLÍNICOS DE PACIENTES CON HEMOCULTIVOS**

Expediente \_\_\_\_\_ Servicio \_\_\_\_\_ Edad \_\_\_\_\_

Diagnóstico de hospitalización \_\_\_\_\_

Diagnóstico actual \_\_\_\_\_

Choque ( ) Choque séptico ( ) Neumonía ( ) Hemorragia ( )

Falla renal ( ) Metástasis séptica ( ) Foco aparente de infección ( )

**Signos clínicos:**

a) Temperatura \_\_\_\_\_ °C

b) Frecuencia respiratoria \_\_\_\_\_ resp/min

c) Frecuencia cardíaca \_\_\_\_\_ lat/min

d) D. gastrointestinales \_\_\_\_\_

e) Otros \_\_\_\_\_

**Bacteriología:**

	Sistema	Fecha de toma	Resultado
1. Hemocultivo	_____	_____	_____
2. Hemocultivo	_____	_____	_____
3. Hemocultivo	_____	_____	_____
4. Hemocultivo	_____	_____	_____

Otros estudios Bacteriológicos:

Presencia de catéter: Sí ( ) No ( )

Resultado del cultivo \_\_\_\_\_

**Biometría Hemática:**

Leucocitos \_\_\_\_\_ cells/mm<sup>3</sup>

Plaquetas \_\_\_\_\_ cells/mm<sup>3</sup>

Neutrófilos inmaduros \_\_\_\_\_

**Tratamiento antimicrobiano:**

Tipo de agente(s) y fecha de inicio.

Mortalidad: No ( ) Si ( ) Causa \_\_\_\_\_