



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTTLÁN

RELACIÓN ENTRE HEMOGRAMA Y HEMOCULTIVO PARA  
DESCARTAR INFECCIONES BACTERIANAS EN PACIENTES.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

Licenciado en Bioquímica Diagnóstica

P R E S E N T A:

MARCO ANTONIO FERRER PONCE

ASESORES:

Dr. JAVIER ALONSO TRUJILLO

QFB REYNA FLORES CIMA

M.C. ANA LAURA VÁZQUEZ MARTÍNEZ

CUAUTTLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO 2015



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

U.N.A.M.  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE

ATN: M. EN A. ISMAEL HERNÁNDEZ MAURICIO  
Jefe del Departamento de Exámenes Profesionales  
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Relación entre hemograma y hemocultivo para descartar infecciones bacterianas en pacientes.

Que presenta el pasante: Marco Antonio Ferrer Ponce

Con número de cuenta: 300343838 para obtener el Título de la carrera: Licenciatura en Bioquímica Diagnóstica

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 19 de Febrero de 2015.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
<b>PRESIDENTE</b>	M.V.Z. Gabriela Fuentes Cervantes	
<b>VOCAL</b>	Dr. Javier Alonso Trujillo	
<b>SECRETARIO</b>	Q.F.B. René Damián Santos	
<b>1er. SUPLENTE</b>	Q.F.B. Leticia Badillo Solís	
<b>2do. SUPLENTE</b>	M. en C. Heidi Johanna Amezcua Hempel	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

IHM/mmgm\*

## DEDICATORIAS

El desarrollo de este trabajo primero que nada se lo dedico a mis padres: Sra. Paula y Sr. Leonel, por cuidar de mí en todo momento de mi vida y ser los pilares más importantes más importantes de mi éxito.

A mis hermanos: Rocío, Luis y Federico por estar conmigo en los momentos buenos y malos de mi vida, gracias por todos los impulsos para ser mejor cada día. Y a mis pequeños sobrinos Brian, Fabián, Alonso, Sara, Leonardo y Luis, que a diario aprendo cosas nuevas de ellos.

A Banessa Ponce gracias por apoyarme cada día en el camino de la superación, porque con tu apoyo emocional y sentimental que me has demostrado desde el inicio de nuestro noviazgo soy el hombre más afortunado por tenerte a mi lado. Te amo.

De igual manera a dios que siempre ha estado conmigo. Por qué entre tanto rigor y a viendo perdido tanto no perdí mi amor por el estudio ni mi pluma como escritor.

Para lograr todo el valor de una alegría has de tener a alguien con quien compartirla la cual yo comparto con todos los anteriores mil gracias.

## Índice

### Capítulo 1. Aspectos generales del hemocultivo y el diagnóstico bacteriano.

Hemocultivo.....	9
Diagnostico bacteriano (sistema Vitek).....	24
Citometría hemática.....	27
Capítulo 2. Antecedentes de la investigación.....	52
Capítulo 3. Planteamiento del problema.....	76
Pregunta de investigación.....	79
Justificación.....	80
Objetivos.....	82
Capítulo 4. Material y métodos.....	83
Variables.....	94
Capítulo 5. Resultados .....	97
Capítulo 6. Discusión.....	108
Capítulo 7. Conclusiones.....	119
Referencias bibliográficas.....	123

## **Índice de abreviaturas**

IMI Channel: Canal de inmaduros

UCI: Unidad de cuidados intensivos

CVC: Catéter venoso central

SPS: Polianetol sulfonato sódico

UMAE: Unidad médica de alta especialidad

BLEE: Betalactamasas de espectro extendido

CH: Citometría hemática

Hb: Hemoglobina

Hct: Hematocrito

GR: Numero de glóbulos rojos

VGM: Volumen globular medio

HCM: Hemoglobina corpuscular media

CmHb: Concentración media de globulina globular

Cb-VGM: Coeficiente de variación del VGM

GB: Numero de glóbulos blancos

PLT: Numero de plaquetas

SPSS: Statistical package for the social sciences



## Introducción

La biometría hemática, es uno de los exámenes más solicitados para la evaluación del estado de salud de las personas, este análisis ha sufrido durante los últimos años innovaciones tecnológicas importantes, que han sofisticado su reporte, agregando en él indicadores hematológicos nuevos, producto de la incorporación de tecnología como la citometría flujo con marcaje de ADN y ARN que permite identificar el grado de maduración de diferentes líneas celulares.<sup>1</sup> La tecnología actualmente incorporada en los modernos contadores hematológicos supera ampliamente las clásicas técnicas de análisis hematológico, comenzando por el gran número de células analizadas para realizar la cuenta diferencial, así como por la tecnología usada para lograr un diferencial de seis partes.<sup>4</sup>

La cuenta diferencial de la población de glóbulos blancos, absoluta y relativa, ha sido de particular interés en la práctica clínica para la toma de decisiones, al igual que la cuenta diferencial de Schilling para la diferenciación de la población granulocítica, realizada sobre un conteo habitual de 100 células de esta línea.<sup>2,3</sup>

Las mejoras técnicas implementadas en los contadores hematológicos automatizados les permiten diferenciar los granulocitos segmentados maduros y los neutrófilos en banda de los metamielocitos inmaduros y otras formas jóvenes de la serie mieloide.

Esta diferenciación se logra en el canal de inmaduros (IMI Channel) por las diferencias en la composición de la membrana, empleando los principios de radiofrecuencia y corriente directa,<sup>5</sup> a lo que se suma el hecho de que existe una diferenciación bioquímica, por cuanto los granulocitos inmaduros tienen cantidades mayores de ARN que los segmentados maduros y en banda, lo que los hace más afines a un colorante fluorescente de polimetihine.<sup>6</sup>

Una producción aumentada de las células granulocíticas inmaduras que se liberan a la sangre periférica (promielocitos, mielocitos, metamielocitos) se puede observar en varias condiciones fisiológicas (por ejemplo, mujeres embarazadas, neonatos), patológicas (infecciones bacterianas, síndromes mielo proliferativos



especialmente leucemias, mielo displasias, tumores sólidos, etcétera) o asociadas a intervenciones terapéuticas (por ejemplo, factores estimuladores de colonias).<sup>7</sup>

El número de células inmaduras en sangre periférica es normalmente tan bajo que pasa desapercibido en la cuenta diferencial tradicional realizada en extendido, en donde se observan únicamente entre 100 a 200 células. Por otro lado, los analizadores automatizados con módulos de conteo de certeza de granulocitos inmaduros permiten detectar concentraciones por debajo del 1% en la fórmula relativa y hasta 10 células/ $\mu\text{L}$  en la absoluta.<sup>8</sup>

El establecimiento de valores de referencia de granulocitos inmaduros en las poblaciones permitirá identificar el incremento potencialmente patológico de esta línea celular que pueda corresponder a una expresión precoz de cualquiera de las condiciones antes descritas.

El presente estudio tiene como finalidad el establecer un criterio para el diagnóstico precoz de los pacientes que tienen un proceso infeccioso, conociendo el valor absoluto de los granulocitos inmaduros en una muestra de biometría hemática, ya que es un reto para los internistas con mayor experiencia establecer qué tipo de microorganismo ésta causando dicha enfermedad. Es por eso que la presente investigación busca conocer si existe asociación entre los hemogramas con un valor absoluto de granulocitos inmaduros mayor al  $0.04 \times 10^3/\mu\text{L}$  y los hemocultivos positivos en pacientes de la Unidad Médica de Alta Especialidad (UMAE) Hospital de Especialidades "Dr. Bernardo Sepúlveda Gutiérrez", Centro Médico Nacional Siglo XXI, el estudio se realizó en el Laboratorio Central en el área de Bacteriología, recibiendo apoyo del personal del área de Hematología y de Urgencias para la captura de información del equipo Sysmex 2100, en el cual se consultó la base de datos para recabar el valor absoluto de los granulocitos inmaduros este mismo se encuentra en los histogramas de seis partes en las muestras de biometría hemática de los pacientes de dicho hospital, solo se recabaron los datos de los pacientes a los cuales se les tomó muestra de hemocultivo ya que este estudio es el "estándar de oro" para establecer la sepsis presente en el paciente y así conocer el comportamiento de los mismos.



El tipo de investigación es no experimental, transversal, retrospectivo y analítico con un nivel relacional, enfoque cuantitativo y un diseño de la investigación epidemiológico de asociación de variables dicotómicas, teniendo a los expedientes clínicos como la unidad de estudio, también se recabaron por cuatro meses muestras de hemocultivos los cuales podrían ser centrales o periféricos obteniendo su resultado negativo o positivo. La selección de los sujetos fue no probabilística. En caso de resultar positivo, se identificaba género y especie mediante aislamientos en medios de cultivos que son selectivos y diferenciales, para después inocularlos en el sistema Vitek 2 para que se estableciera género, especie y sensibilidad a antibióticos. Posteriormente se obtenían las fechas de las muestras de Citometría Hemática.

La información recabada se depuró aplicándoles los criterios de inclusión, exclusión y de eliminación llegando a un total de 700 muestras de hemocultivos de los cuales solo se obtuvieron 149 frascos positivos y de estos se aislaron 102 microorganismos diferentes.

Se estableció un rango granulocitos inmaduros en valor absoluto para las 7 bacterias más patológicas el cual fue de  $0.08 \times 10^3 / \mu\text{L}$  –  $0.20 \times 10^3 / \mu\text{L}$  con una media de  $0.14 \times 10^3 / \mu\text{L}$ . Se observó un 11 % de cultivos contaminados y *Staphylococcus epidermidis* fue la bacteria más aislada, la bacteria más patológica fue *Pseudomona aeruginosa* dando los valores más altos de granulocitos inmaduros.



---

## Capítulo 1

### **Aspectos generales del hemocultivo y el diagnóstico bacteriano.**

En este capítulo se muestra una revisión bibliográfica acerca de la utilidad del hemocultivo y su capacidad diagnóstica en los pacientes ingresados en la Unidad de Cuidados Intensivos, los cuales tienen un alto índice de mortalidad del 60% y de este porcentaje el 26% es atribuible a un proceso infeccioso, esto es debido a que la mayoría de los pacientes cuentan con enfermedades crónico degenerativas y por consiguiente están inmunodeprimidos, los cuales cuentan con diferentes tipos de catéteres siendo estos una puerta de entrada hacia el hospedero por parte de los microorganismos, también se describe cuando realizar los hemocultivos esto con el fin de aumentar así las posibilidades de tener un aislamiento exitoso, asimismo se deben de considerar 7 aspectos importantes del paciente a los cuales se les aconseja realizar hemocultivos, del mismo modo se comentan las formas ideales de obtención de las muestras de hemocultivo para así evitar contaminación por la flora saprofita de la piel. También se habla de los diferentes frascos para hemocultivo, y las condiciones en las cuales deben de enviarse al laboratorio de bacteriología para el procesamiento de los mismos. Además se manifiesta el diagnóstico del laboratorio por el sistema Vitek 2 y su actual uso en el laboratorio de bacteriología, la capacidad de establecer especies bacterianas y sensibilidades a los antibióticos, así como su manejo en dicha área. Asimismo se describen las bondades del estudio de Citometría Hemática para orientar el diagnóstico clínico dividiendo dicho estudio en dos componentes importantes de la sangre que es la serie roja y la serie blanca.

### **Hemocultivo y su indicación diagnóstica.**

La presencia de bacterias (bacteriemia) u hongos (fungemia) en la sangre de los pacientes ingresados en las unidades de cuidados intensivos (UCI) es una complicación muy grave por las condiciones del propio enfermo y por la elevada mortalidad que conlleva. Se estima que la mortalidad global es de 60% y la atribuible a la infección, del 26%. La entrada de los microorganismos al interior del



torrente sanguíneo se produce por diversas vías y se ve favorecida cuando el paciente tiene una enfermedad de base grave o los mecanismos locales y/o generales de defensa están alterados. En los pacientes ingresados a la UCI es habitual que se den estas condiciones al mismo tiempo y no es infrecuente la manifestación de diversas patologías de forma simultánea. Además, todos ellos llevan catéteres intravasculares. El aislamiento de los microorganismos implicados mediante el desarrollo de hemocultivos, su identificación y la realización de estudios de sensibilidad constituye uno de los objetivos prioritarios de cualquier laboratorio de Bacteriología. Aunque sólo se obtiene información microbiológica en el 71% de los pacientes con sospecha de sepsis grave y en el 53% de las bacteriemias.<sup>9</sup>

### **¿Cuándo realizar hemocultivos?**

Deben practicarse cultivos de sangre cuando existe la sospecha clínica de bacteriemia, micobacteriemia o fungemia. Decidir cuándo es el momento más adecuado para realizar un hemocultivo no es fácil. Siempre se ha considerado que la extracción de sangre debería efectuarse antes del inicio de los escalofríos o del aumento de la fiebre, pero no es posible predecirlo. Además, en el paciente ingresado en la UCI, la fiebre puede deberse a otras causas. Una actitud sensata sería realizar la extracción de sangre lo más cerca posible de un aumento de la temperatura, si el paciente ha tenido escalofríos o presenta hipotermia, o cuando se observe un empeoramiento del estado general del paciente. Algunas bacteriemias tienen su origen en un foco intravascular, generalmente, a partir de catéteres vasculares, por lo que el paso de microorganismos al torrente sanguíneo es constante y el momento de la extracción de la sangre tiene una importancia relativa. En el paciente ingresado en la UCI debe tenerse siempre presente esta posibilidad y para diagnosticar la bacteriemia puede ser de ayuda realizar la extracción de sangre a través de los catéteres. Otro aspecto a considerar es si el paciente está recibiendo algún tratamiento antimicrobiano que dificulte la recuperación del microorganismo infeccioso. Como esta situación es muy frecuente en la práctica diaria, lo más aconsejable es recurrir a empleo de frascos



de hemocultivos con resinas que inactivan o impiden la actividad de los antibióticos. Otras posibles opciones encaminadas a intentar minimizar los efectos de los antimicrobianos sería la de efectuar la extracción de sangre inmediatamente antes de la administración del fármaco o interrumpir (siempre que ello sea posible) durante 24 – 48 horas el tratamiento y efectuar, entonces, los hemocultivos, extrayendo un volumen adecuado de sangre.<sup>9</sup>

### **Pacientes en los que se aconseja la obtención de hemocultivos**

- 1.- En todo paciente febril con  $T >38^{\circ}\text{C}$ , especialmente, si se acompaña de deterioro del estado general sin una causa clara que lo explique, y en aquellos con síntomas o signos sugestivos de bacteriemia (escalofríos, temblor, taquicardia, etc.); también en paciente hipotérmicos (con  $T >36^{\circ}\text{C}$ ), pues, a veces, como ocurre en el caso de neonatos o de pacientes ancianos, la bacteriemia cursa con hipotermia.
- 2.- En caso de deterioro uni o multiorgánico de causa no filiada.
- 3.- Pacientes con fiebre e hipotensión estado de shock o inestabilidad hemodinámica inexplicadas por causas no infecciosas.
- 4.- Si existen infecciones localizadas de etiología desconocida que pueden cursar con bacteriemia (neumonías, meningitis, pielonefritis, etc.).
- 5.- En paciente con leucocitosis ( $>10.000$  leucocitos/ $\text{mm}^3$ ), sobre todo, si existe desviación a la izquierda en la formula o leucopenia ( $<1.000$ polimorfonucleares/ $\text{mm}^3$ ) o trombocitopenia o alteraciones de la coagulación de causa desconocida, si la situación clínica lo aconseja.
- 6.- Pacientes que reciben antibioterapia para una bacteriemia ya documentada (control de aclaramiento de microorganismos en sangre).
- 7.- En pacientes inmunodeprimidos, gravemente enfermos, y con disfunción renal, pulmonar o hepática de causa no conocida.



## Cómo obtener la muestra de sangre

La extracción de sangre para su cultivo debe realizarse por punción en una vena, generalmente, del antebrazo. Para que el resultado obtenido con un hemocultivo positivo represente una bacteriemia verdadera, la extracción debe realizarse de modo adecuado y antiséptico, para evitar posibles contaminaciones con flora de la piel.<sup>9</sup>

Antes de efectuar la extracción de sangre se dispondrá todo el material necesario para realizarla. En primer lugar, se prepararán dos frascos de hemocultivos uno aerobio y otro anaerobio, y se limpiarán los tapones de estos frascos con un antiséptico que hay que dejar secar para evitar que entre al interior cuando inoculemos la sangre. En segundo lugar, se escogerá la vena más adecuada para la punción mediante palpación de la misma. A continuación se efectuara una limpieza minuciosa de la zona escogida, aplicando alcohol isopropílico o etílico de 70° durante 30 a 60 segundos y después se aplicara una solución yodada (povidona yodada al 10%) durante 1 minuto. Debe cubrirse un área circular de unos 5 cm, empezando la aplicación por la zona central, donde efectuaremos la punción. Una vez secado completamente el antiséptico, se realizara la extracción sin tocar con los dedos el lugar de la punción. Si este proceso se realiza adecuadamente el número de hemocultivos contaminados con flora de la piel (*Propionibacterium acnés*, *Corynebacterium spp.*, estafilococos negativos para coagulasa) no excederá del 3%.<sup>9</sup>

Cuando se sospecha que el origen de la bacteriemia está relacionado con la infección/colonización de catéteres, se pueden efectuar extracciones de sangre a través de los mismos (hemocultivos transcatéter) y por venopunción (de vena periférica). En la actualidad, los métodos de procesamiento y de incubación de los hemocultivos permiten conocer con exactitud el periodo de crecimiento de las bacterias en los frascos, e incluso algunas técnicas también permitirían cuantificar el número de colonias en una muestra de hemocultivo positivo determinada. Si el origen de la bacteriemia es un catéter endovascular, el crecimiento bacteriano observado en los frascos inoculados con la sangre extraída a través del catéter es



más rápido que el de los dos frascos inoculados con la sangre extraída por venopunción, y presentan una mayor densidad o inóculo de microorganismos por unidad de volumen en la muestra. No obstante, dadas las características del paciente ingresado en la UCI, no siempre es posible la venopunción periférica, por lo que, en ocasiones, las muestras son extraídas a través de un catéter vascular central (CVC), aunque debería interesarse que, al menos, uno de los hemocultivos se extrajera por venopunción para que nos pueda ayudar a distinguir entre infección y contaminación.<sup>9</sup>

### **Qué volumen de sangre debe extraerse**

Dado que el volumen o concentración de bacterias circulantes en sangre es, generalmente bajo,  $<10$  ufc/ml, el volumen de sangre cultivada es un factor determinante para el aislamiento de los microorganismos responsables de la bacteriemia. El volumen recomendado por cada extracción o set de hemocultivos es de 20 ml, que se repartirán en los dos frascos (10 ml en cada uno, aerobio y anaerobio). En recién nacidos y en niños, la concentración de microorganismos durante la bacteriemia es mayor que en los adultos, y se requieren volúmenes menores de sangre (1 – 5 ml, aunque en neonatos y niños de bajo peso puede ser solo de 0.5 – 1.5 ml.) En los pacientes adultos, por cada ml adicional de sangre cultivada, se incrementa la recuperación de microorganismos en un 3%, aproximadamente. Una vez efectuada la extracción de sangre, esta se inoculada rápidamente en los frascos de hemocultivo, primero el anaerobio y después el aerobio, invirtiéndolos varias veces para mezclar la sangre con el medio de cultivo. La proporción entre sangre inoculada y medio de cultivo más recomendada para conseguir los mejores índices de recuperación bacteriana es de 1:5 a 1:10, probablemente, por la dilución de posibles sustancias inhibitorias. La sangre contiene una variedad de factores que pueden inhibir el crecimiento bacteriano y, presumiblemente, la dilución de la misma en el caldo de cultivo a los niveles recomendados disminuye la concentración de estas sustancias a proporciones subinhibitorias. Se ha demostrado que cualquier efecto bactericida residual que subsiste después de esta dilución de la sangre en los medios de cultivo, queda



suprimido por la presencia de una concentración de 0,025-0,05% de Polianetol Sulfonato Sódico (SPS), un anticoagulante polianiónico que inhibe la actividad bactericida del suero y la fagocitosis, inactiva el complemento y neutraliza la lisozima y los antibióticos aminoglucósidos. Su principal inconveniente es que puede inhibir el crecimiento de *Neisseria spp.* (*Neisseria gonorrhoeae* y *Neisseria meningitidis*) y de otros microorganismos (*Moraxella catarralis*, *Brucella spp.*, *Bartonella spp.*).<sup>9</sup>

De todas formas, la mayoría de los sistemas de hemocultivos actuales recomiendan extraer el volumen de sangre más adecuado para que el rendimiento sea el más óptimo.

### **Cuántos hemocultivos deben realizarse**

En pacientes adultos se realizaran un mínimo de 2 hemocultivos (un frasco aerobio y otro anaerobio en cada uno de ellos, o set de hemocultivos) obtenidos de zonas de venopunción diferentes por cada episodio de bacteriemia. No se aconseja realizar más de 4 hemocultivos en un periodo de 24 horas. Ello se fundamenta en los datos observados en diversos estudios, que indican que más del 95% de las bacteriemias se detectan con los dos primeros hemocultivos practicados de un total de tres. La realización de 2 – 3 hemocultivos también ayuda a diferenciar los microorganismos contaminantes de auténticos patógenos, en especial, cuando se valora el posible significado de aislamiento de *Streptococos* del grupo *viridans*, y *corinebacterias*. Cuando estos microorganismos son simples contaminantes suelen aislarse en un solo hemocultivo o incluso en un frasco.<sup>9</sup>

Se ha comprobado que tras la obtención de un primer set de hemocultivos, que puede detectar cerca de un 80% de los casos de bacteriemia, un segundo set incrementa la posibilidad de aislar microorganismos en un 12.5%.<sup>9</sup>



---

## **Recomendaciones en cuanto al número de hemocultivos apropiados para cada situación clínica.**

En sepsis agudas, meningitis, osteomielitis, artritis, neumonía bacteriana aguda no tratada y pielonefritis conviene extraer sangre para 2 sets de hemocultivos con un intervalo de 30 minutos.

En la endocarditis se recomienda extraer sangre para 3 sets de hemocultivos en un periodo de 24 horas.

En situaciones de fiebre de origen desconocido (fiebre tifoidea, brucelosis, absceso oculto, etc.) se aconseja extraer sangre para inicialmente 2 hemocultivos y tras 24 - 36 horas, si los dos primeros son negativos, extraer sangre para 2 hemocultivos antes del pico febril; los hallazgos no aumentan al cursar más de 4 hemocultivos.

En caso de pacientes con sospecha de infección de dispositivos protésicos o de CVC en que los microorganismos causantes podrían ser confundidos con contaminantes o, a la inversa, se recomienda extraer sangre para 3 o más sets de hemocultivos.

Un solo set de hemocultivos podría ser apropiado en los casos en que se desea valorar el “aclaramiento” de la bacteriemia (por ejemplo, en caso de *S. aureus*) en respuesta a la antibioterapia, en los pacientes de edad avanzada y/o con pluripatología crónica atendidos domiciliariamente, en los enfermos que siguen control en hospitales de día por diferentes enfermedades, y en los pacientes pediátricos.

## **Fascos que deben emplearse en los hemocultivos**

Generalmente, en cada hemocultivo se emplea un frasco aerobio y otro anaerobio. Algunas casas comerciales ofrecen la posibilidad de utilizar diversos tipos de frascos, como, por ejemplo, los que incorporan resinas en el interior y cuya finalidad primordial es la de intentar contrarrestar la acción de los antibióticos que está recibiendo el paciente. Diversos estudios han demostrado su superioridad



frente a los hemocultivos convencionales cuando se emplearon en pacientes bajo tratamiento antimicrobiano, por lo que es recomendable su empleo, especialmente, en pacientes ingresados en UCI que recibieron antibióticos.<sup>9</sup>

Se ha propuesto que, en determinadas bacteriemias, si no existen razones para sospechar la presencia de un microorganismo anaerobio, sería mejor no utilizar el frasco anaerobio y sustituirlo por otro aerobio. Dado que las bacteriemias por anaerobios son poco frecuentes en pacientes ingresados en la UCI se podría escoger esta opción. Sin embargo, antes de decidirse por esta alternativa deben tenerse en cuenta diversas razones. En primer lugar, el frasco anaerobio permite el crecimiento de la mayoría de los microorganismos patógenos habituales (anaerobios facultativos), con la notable excepción de *Pseudomonas aeruginosa* (aerobio estricto). En segundo lugar, el empleo de dos frascos aerobios conlleva una alteración del sistema habitual de trabajo tanto a nivel del laboratorio de bacteriología como a nivel de las diferentes áreas asistenciales que podría inducir cierta confusión, aunque ello podría solucionarse con una adecuada formación del personal. Finalmente, según nuestra experiencia, no es infrecuente que el crecimiento bacteriano se objetive más precozmente en el frasco anaerobio, lo que representa una clara ventaja, ya que permite iniciar inmediatamente la identificación del microorganismo y la determinación de su sensibilidad a los antimicrobianos.<sup>9</sup>

Hasta hace unos años se podían utilizar, además de los frascos convencionales de hemocultivos, los denominados tubos de lisis – centrifugación (sistema - solator) basándose en su mejor rentabilidad diagnóstica tanto en infecciones micobacterianas como en infecciones fúngicas. Incluso, en algunos tipos de bacteriemias permitía realizar una semicuantificación de la misma con el recuento de colonias, siendo, por tanto, también de utilidad para el diagnóstico de bacteriemia asociada a catéter sin necesidad de retirada del mismo. Entre sus inconvenientes destacaba la necesidad de un rápido envío al laboratorio (antes de media hora), debido a las características especiales en su procesamiento. En la actualidad, este método especial de hemocultivos, que producía una carga



---

adicional de trabajo en el laboratorio implicaba una actividad manual no exenta de riesgo de contaminaciones, ha perdido gran parte de su utilidad, vigencia y rentabilidad, debido a la aparición de mejores sistemas de hemocultivos con medios mejorados y más enriquecidos para micobacterias y hongos, así como de posibilidades de incubación monitorizadas y automatizadas casi al completo.<sup>9</sup>

En cualquier caso, el sistema de lisis – centrifugación no debería usarse como sistema único, y la combinación de distintas opciones puede ser necesaria para detectar los diferentes microorganismos.<sup>9</sup>



**Tabla 1** Se exponen algunos microorganismos patógenos clínicamente significativos que requieren condiciones de procesamiento, incubación, atmosférica y factores nutricionales de crecimientos especiales.

Microorganismo	Crecimiento en medios de HC habituales	Medios de cultivo, métodos y/o sistemas de hemocultivos especiales	Programación de estudios microbiológicos adicionales o complementarios	Tiempo máximo de cultivo	Requerimientos de especiales	Observación Tinción	Situación clínica
<b>Brucella</b>	Si	No	Subcultivo	30 días	CO <sub>2</sub> en frascos, aire aer	G: Bacilos cortos G -, NA: bacilos cortos	Fiebre prolongada
<b>Leptospira</b>	No	Fletcher, polisorbate 80	Fresco en campo oscuro	1 – 4 meses	T <sup>a</sup> . Ambiente	G: no se observan con esta tinción fácilmente solo con técnica de impregnación argéntica, NA: no se observan con esta tinción	Leptospirosis
<b>Borrelia</b>	No, BSK II	Embrión de pollo	Fresco en campo oscuro	4 – 6 meses	Evitar antibióticos	G: no se observan con esta tinción, NA: no se observan con esta tinción.	Fiebre recurrente enfermedad de Lyme
<b>Bartonella</b>	Débil	Isolator	Subcultivo en ACH	30 días	Inhibición por SPS	G: no se observan con esta tinción, NA: Gram negativo aerobio Pleomórfico: bacilo, cocobacilo, cocoide y formas L Flagelado	Bacteriemia en indigentes EAG, AB; PH
<b>Streptobacillus</b>	Débil	Bactec hiperosmótico; BH enriquecido	Subcultivo	2 – 6 días	Inhibición por SPS	G: bacilo Gram negativo, alargado y delgado, NA: bacilo alargado y delgado	Fiebre prolongada
<b>Mycoplasma</b>	Débil	MC Micoplasma	Subcultivo	5 – 7 días	Formas L, inhibición por el SPS	NA: difícil la observación G: no	Infección localizada



<b>Abiotrophia Granulicatella</b>	Si	AS – estudio satelitismo	estafilococo	Subcultivo	5 – 30 días	AS enriquecido vitamina B6 (piridoxal)	G: cocáceas grampositivas en cadena, NA: se contrastan mejor las bacterias por el fondo y se encuentran bacterias en menor cantidad.	Endocarditis con HC negativos
<b>Legionella</b>	Si	BCYE		Subcultivo	5 – 7 días	Cisteína y hierro	G: bacilos gram negativos largos y finos. NA: bacilos largos y finos.	Legionelosis
<b>Campylobacter</b>	Si	Skirrow		Subcultivo	5 días	Atmosfera y T <sup>a</sup> adecuados	G: bacilos gram negativos curvos en forma de S NA: bacilos curvos	Fiebre en inmunodeprimidos
<b>HACEK</b>	Si	No		Subcultivo	30 días	Atmosfera y T <sup>a</sup> adecuados	G: bacilos gram negativos NA: bacilos	Endocarditis con HC negativo
<b>Hongos</b>	Débil	Isolator		Subcultivo en medios para hongos	3 semanas	Medios para hongos	G: gram positivas, NA: depende de que tipo de levadura se trate.	Cadidemia, fungemia
<b>Micobacterias</b>	Débil o nulo	Isolator, Bactec – alert, MGIT	Bactec, MGIT Lowenstein	Subcultivo medio de Lowenstein	en 45 – 60 días	Medios específicos de micobacterias	G: no se observan, NA: se detecta la pared deficiente como el caso de micobacterias.	VIH, inmunodeprimidos

HC: hemocultivos; AS: agar sangre, ACH: agar chocolate; G: tinción de Gram; NA: Tinción fluorescente de naranja de acridina. *Abiotrophia – Grnulicatella*: Géneros conocidos como variantes de estreptococos con deficiencias o exigencias nutricionales. HACEK: *Haemophilus, Actinobacillus, Cardiobacterium, Eikenella, Kingella*. EAG: enfermedad por arañazo del gato; AB: angiomatosis bacilar; PH: peliosis hepática; VIH: virus de inmunodeficiencia humana.<sup>9</sup>



## **Cuándo y cómo deben enviarse al laboratorio**

Los frascos de hemocultivos, una vez inoculados, deben identificarse correctamente con los datos correspondientes de cada paciente y remitirse al laboratorio de forma inmediata. Si esto no es posible, pueden mantenerse a temperatura ambiente o bien guardarse en una estufa a 35 – 37°C. En ambos casos, el tiempo debe ser el menor posible. Esto se debe a que, en la actualidad la mayoría de los hemocultivos se procesan con sistemas automáticos que efectúan lecturas periódicas del crecimiento bacteriano. Si los frascos han permanecido en una estufa a 35 – 37°C demasiado tiempo existe el peligro de que los microorganismos hayan iniciado su crecimiento o incluso llegado a su fase de meseta, por lo que la lectura inicial de referencia que establece el sistema es muy elevada y no permite detectar crecimientos posteriores. En estos casos es obligado efectuar subcultivos ciegos para evitar la posibilidad de falsos negativos. Nunca debe olvidarse que los hemocultivos no pueden refrigerarse.<sup>9</sup>

## **Cómo se procesan los hemocultivos en el laboratorio de bacteriología**

Como ya se ha comentado previamente, en la actualidad, la mayoría de los hemocultivos se procesan mediante el empleo de métodos automáticos que evitan las manipulaciones de los frascos, los mantienen en agitación continua y efectúan lecturas periódicas del crecimiento bacteriano, ya que las bacterias al encontrarse en medios enriquecidos con nutrientes metabolizan a los mismos y producen CO<sub>2</sub>, lo cual es registrado en una gráfica dentro del equipo. En ocasiones, y según el sistema comercial, también se valoran cambios del pH, del potencial redox y la producción y/o consumo de gas. La detección de todos estos parámetros indicadores de crecimiento bacteriano se efectúa midiendo cambios calorimétricos, niveles de fluorescencia o empleando un método manométrico. Los resultados obtenidos tras las lecturas periódicas (cada 10 – 15 minutos) se notifican inmediatamente a un ordenador que, mediante la aplicación de algoritmos, detecta si hay crecimiento o no. En caso afirmativo, se inicia la metodología necesaria para identificar el microorganismo y conocer su sensibilidad a los antibióticos y, en caso negativo, los hemocultivos permanecen en el sistema hasta llegar al final del



tiempo de incubación. La mayor parte de los microorganismos responsables de bacteriemias verdaderas se detectan a partir de las 6 horas de incubación y dentro de las primeras 24 – 48 horas. Las levaduras y bacterias anaerobias pueden tardar algo más en crecer. En general, los hemocultivos se incuban de 5 a 7 días. Si se requieren tiempos más prolongados (endocarditis, microorganismos de crecimiento lento, fiebres prolongadas o de origen desconocido, etc.), se debe comunicar al laboratorio.<sup>9</sup>

### **Hemocultivo positivo**

#### **¿Qué información preliminar puede facilitar el laboratorio de bacteriología?**

Cuando el sistema automatizado indica que un hemocultivo es positivo, se inicia el proceso de identificación del microorganismo y la determinación de su sensibilidad a los antibióticos. En este momento, la primera información que puede facilitar el laboratorio de bacteriología se obtiene realizando una tinción de Gram. La observación de la morfología del microorganismo, su coloración o forma de agruparse proporciona una información preliminar muy útil, como por ejemplo: cocos gram – positivos agrupados en racimos (estafilococos), formando cadenas (estreptococos), diplococos (neumococos) o bacilos gram – negativos (*Neisseria*). Una vez orientada la identificación del microorganismo se efectúan pruebas preliminares y subcultivos en medios solidos (agar sangre, agar chocolate, agar McConkey, Chromagar, etc.), temperatura (35 – 37°C) y atmosfera (aerobia, anaerobia, enriquecida con 5% de CO<sub>2</sub>) adecuadas, para su posterior aislamiento, identificación definitiva de la sensibilidad.<sup>9</sup>

Lo que se realiza en Laboratorio central de esta UMAE es lo siguiente, para sacar un frasco del equipo de Versa TREK, se observan las alarmas en el monitor del equipo que nos indican con un botón rojo en el cajón en donde está el frasco, se evalúa la producción exponencial de milibares en función del tiempo lo cual nos indica que el microorganismo se está reproduciendo y así aumentando su metabolismo en el cual se detecta en un grafica exponencial. Se retira el mismo,



para realizar un frotis del mismo frasco y después se tiñe con Gram, en la libreta se escribe el día en que salió el frasco positivo al igual lo que se observó en el frotis y se inocula en los medios selectivos y diferenciales. Para su posterior diagnóstico. (Manual de Ayuda Versatrek<sup>86</sup>)

### **Cuando se puede disponer de información definitiva**

La gravedad de una bacteriemia, que todavía es más evidente en un paciente ingresado en la UCI, obliga a intentar obtener los resultados lo más pronto posible. Cada laboratorio debe de establecer sus propios protocolos de trabajo según sus posibilidades y validarlos para que la información obtenida sea rápida y, al mismo tiempo fiable. La combinación de diversos métodos aplicados directamente a un hemocultivo positivo puede permitir tener los resultados en tiempo bastante cortos. Que puede ser de 4 a 5 horas en determinadas bacterias.<sup>9</sup>

Con la mayoría de las veces la bacteriemia suele monomicrobiana, tras la tinción de Gram, aparte de efectuar subcultivos en medios sólidos, se pueden iniciar protocolos rápidos de identificación y determinación de la sensibilidad.<sup>9</sup>

### **Que debemos hacer ante un hemocultivo positivo con flora saprofita de la piel.**

Como ya se ha comentado previamente, la sepsis es una causa importante de morbimortalidad en los pacientes ingresados en la UCI. Por desgracia, el rendimiento de los hemocultivos en estos pacientes es bajo, lo que da lugar a la realización de diversas pruebas diagnósticas y prescripción de antibióticos, que, en ocasiones, son innecesarios, junto con aumento de la estancia hospitalaria. No todos los hemocultivos positivos son clínicamente significativos. Al menos una tasa del 2–3% de contaminaciones se produce bajo las condiciones y circunstancias más óptimas en su procesamiento.<sup>9</sup>

Sin embargo, cerca de un 5% (intervalo 3-7%) de los hemocultivos positivos se deben a contaminación y, a veces, es difícil distinguir entre un verdadero positivo valor clínico y un microorganismo contaminante, sobre todo, en aquellos casos



donde el foco de infección podría ser el Catéter Venoso Central (CVC). Pueden ayudarnos a diferenciar los verdaderos positivos la evaluación de las características del paciente (inestabilidad hemodinámica, aumento de temperatura, aumento de leucocitos, ausencia de otro foco que justifique la clínica), el crecimiento del microorganismo en más de un hemocultivo, el tiempo de incubación (los falsos positivos suelen requerir periodos de incubación más prolongados), el aspecto del punto de punción de la vía central, la presencia de flebitis, etcétera.<sup>9</sup>

Por tanto, distinguir la verdadera positividad de los falsos positivos – contaminantes – no siempre es fácil. Algunas de las claves sugeridas para su distinción son las siguientes: 1) habitualmente, los microorganismos contaminantes son parte de la flora cutánea; 2) están ausentes en otros hemocultivos y/o muestras procedentes del foco sospechoso de causar la infección primaria; 3) suelen aislarse después de una incubación más prolongada de lo habitual; 4) frecuentemente, el paciente no se encuentra en estado de sepsis progresiva y 5) no suelen existir factores predisponentes como inmunodepresión o dispositivos protésicos. En general, ante el aislamiento de un microorganismo de la flora normal (*Estafilococos coagulasa negativos*, *corinobacterias*, y *P. acnes*) en un único hemocultivo se debe sospechar una contaminación. La bacteriemia polimicrobiana no es frecuente (10% de los hemocultivos positivos), y la recuperación de varias bacterias en un mismo hemocultivo debe sugerir contaminación o bien descartar un foco primario de infección mixta (como, por ejemplo, infección intraabdominal). Los microorganismos de la familia de las *Enterobacteriaceae*, especies de *Pseudomonas*, *Streptococcus pyogenes*, *S. pneumoniae* y *S. aureus* son excepcionalmente contaminantes (por ejemplo, algunos gram-negativos asociados a contaminación de antisépticos). La interpretación óptima de los resultados requiere, en general el conocimiento de la situación clínica del paciente. En ausencia de esta información, la interpretación de los resultados por parte del microbiólogo puede estar sujeta a errores, por lo que la comunicación personal y frecuente entre el microbiólogo y el clínico es fundamental.<sup>9</sup>



De todos los cultivos realizados en el laboratorio de bacteriología, el hemocultivo es, probablemente, el más importante y el que más expectativas despierta. Para obtener el máximo rendimiento deben realizarse un mínimo de 2 hemocultivos, con un volumen suficiente de sangre (20 ml por extracción) y evitando posibles contaminaciones con flora saprofita de la piel. Cuando el hemocultivo es positivo, la primera información útil la proporciona práctica de tinción de Gram; sin embargo, es fundamental la aplicación de protocolos que permitan identificar el microorganismo lo más pronto posible y, al mismo tiempo conocer su sensibilidad a los antimicrobianos. Es posible disminuir el número de falsos positivos disminuyendo el número de hemocultivos en los pacientes con bajo riesgo de bacteriemia.<sup>9</sup>

## Diagnóstico de laboratorio sistema VITEK 2

La capacidad de detectar de manera exacta y fiable la resistencia de bacterias patógenas es un elemento indispensable del arsenal de técnicas necesario para revertir la tendencia de la resistencia a los antibióticos. C. Sanders propuso en 1991 un método un tanto revolucionario para determinar la susceptibilidad.<sup>10</sup> Sugirió que, en vez de hacer pruebas de sensibilidad, se elaboraran pruebas específicas para medir la resistencia, y que estas deberían hacerse como parte de la rutina de los exámenes de laboratorio. Por otra parte, en 1998 Low y Scheld señalaron en una nota editorial en el *Journal of the American Medical Association*.<sup>11</sup> La necesidad de contar con instrumentos apropiados para que los médicos puedan diagnosticar con mayor exactitud las afecciones que requieren antibióticos, con el fin de disminuir el uso incorrecto de dichos fármacos. Además, el grupo de trabajo sobre resistencia antimicrobiana de la ASM recomendó que, para limitar el uso excesivo de antibióticos de amplio espectro, era necesario contar con pruebas diagnósticas apropiadas. Se indicó que en los casos que necesiten tratamiento, el uso de estas pruebas de diagnóstico llevaría a utilizar agentes antibióticos más específicos, con lo cual se podría reducir el uso indiscriminado de antibióticos de amplio espectro.



---

## El sistema VITEK 2

Este sistema microbiológico completamente automatizado integra en un solo instrumento la preparación de muestra, incubación, interrogación óptica y estuche para la prueba. Una vez que el microbiólogo prepara y estandariza el inóculo, el sistema lleva a cabo todas las tareas necesarias para completar la identificación y las pruebas de susceptibilidad a saber: dilución del inóculo, llenado del estuche de la prueba, sellado y transferencia al incubador, monitoreo de los cambios metabólicos, transferencia de los resultados a la estación de trabajo y descarte de los estuches de las pruebas.<sup>12</sup>

El sistema óptico contiene transmisión de longitud de onda múltiple y óptica fluorescente. Cada pozo del sistema es examinado por escáner 10 a 14 veces cada 15 minutos, lo cual permite hacer un análisis cinético preciso. Las tarjetas se incuban en un carrusel de temperatura controlada que lleva el estuche de la prueba a la cabeza de la lectura en cada interrogación.

El sistema VITEK 2 trae una computadora Power PC, con base en RISC, y una estación de trabajo UNIX. También incluye programas de análisis y manipulación de datos que se presentan al operador en un formato gráfico de interfase con el usuario. La interfase bidireccional permite que los resultados se transfieran automáticamente al sistema de información del laboratorio y al registro del paciente. El sistema Experto Avanzado de bioMérieux es parte del sistema de pruebas de susceptibilidad.

La interfase primaria con el sistema VITEK 2 se produce a través de un equipo pequeño, parecido a una computadora portátil llamada Smart Carrier Station (Estación Transportadora Inteligente). En ella, el usuario establece la conexión entre la identificación de la muestra con la tarjeta de VITEK 2 que se someterá a la prueba. La información es provista por un código de barras o por digitación en un teclado y es archivada en la memoria que forma parte del cartucho de Smart Carrier. Este cartucho es comparable al portador de tubos de ensayo y sostiene los tubos y las tarjetas a medida que se procesan.



BioMérieux ha diseñado tarjetas exclusivas para el sistema VITEK 2. Estas contienen 64 pozos, son opacas y vienen ya empacadas de fábrica con un código de barras y tubo de transferencia insertado. Los productos de identificación utilizan tecnología fluorescente e incluyen actualmente estuches para bacilos gramnegativos, gram positivos y levaduras.

Para las pruebas de susceptibilidad se utiliza la turbiedad como medida directa de crecimiento. Se dispone de 46 antibióticos para las pruebas de *Enterobacteriaceae* y bastones gram negativos no fermentadores, 32 para *estafilococos*, *enterococcus* y *estreptococos* (excepto *Streptococcus pneumoniae*) y 12 para *S. pneumoniae*. También se incluye una prueba de  $\beta$  lactamasa con base en nitrocefina para *Staphylococcus* y *Enterococcus*.

Dadas las características de rapidez para informar sobre las pruebas de identificación procesamiento automático y flujo de trabajo óptimo, el sistema VITEK 2 ha mostrado que puede ahorrar tiempo en comparación con otros métodos. En 1997, Auckenthaler trató este tema en el Congreso Europeo sobre Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas (8º Congreso de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas, Lausana, Suiza, 1997). En su evaluación preliminar del sistema, este autor informó que la obtención de un resultado por medio de VITEK 2 tomaba 1 – 4 minutos de trabajo directo, en comparación con 5 – 7 minutos por aislamiento que tomaban los métodos convencionales. Así mismo, llegó a la conclusión de que el sistema era un adelanto significativo para la automatización de la bacteriología. FUNKE y colaboradores,<sup>13</sup> que también evaluaron el sistema VITEK 2 con respecto a su capacidad de identificar bastones gram negativos de importancia médica, encontraron que el sistema era prometedor; también lo calificaron como un instrumento nuevo, altamente automatizado para identificación rápida de bacilos gram negativos. Varios grupos han evaluado aspectos específicos de las pruebas de susceptibilidad de VITEK 2,<sup>(14 - 17)</sup> han concluido que se trata de un sistema fiable, reproducible y exacto.

Pasadas las 24 horas de inoculación de los medios selectivos y diferenciales, y si es que se tiene al microorganismo puro, se inicia el proceso de identificación, y si



no se tuviera al microorganismo puro, se realiza una resiembra de este para aislarlo, y ahora si se tiene al microorganismo puro: se llena un tubo de vitek con 3 ml. de solución salina al (.045%), se toma una colonia y se disuelve y se homogeniza la suspensión, se verifica la densidad óptica en el DensiChek (para bacterias G- y G+ a 0.5 – 0.63 McFarland y para levaduras a 1.8 – 2.2 McFarland), se coloca en el porta casete y se le pone la tarjeta de Identificación G-, G+ o para hongos, se coloca un tubo vacío al lado de la muestra para colocar en este una tarjeta de identificación de sensibilidad con respecto a la tarjeta anterior, se enciende el Smart Carrier Station para colocar el casete y el equipo borra los datos anteriores del casete y después se procede a introducir manualmente el teclado los datos del paciente (los números que se le asignan al paciente de forma interna en el laboratorio), y con el lector del equipo se escanea el código de barras de la tarjeta y se presiona “siguiente posición” y se introduce la información para cada tarjeta, se carga el casete en el instrumento. Al otro día se revisan los resultados en el equipo, en donde se tienen que buscar por áreas y teclear los números internos para evaluar el porcentaje de pureza de dicho microorganismo el cual tiene que ser del 98%, nota: si es más bajo no se reporta y se vuelve aislar, con respecto a la sensibilidad a los antibióticos se pone mayor énfasis en buscar los que son Vancomicina resistente y Betalactamasas de espectro extendido (BLEE) positivos que son capaces de lograr resistencia bacteriana a las cefalosporinas de 3ra generación, monobactámicos y aminoglucósidos lo cual es un serio problema en el tratamiento de las sepsis nosocomiales porque esto significa que son multirresistentes a dichos tratamientos. (Manual de biomérieux. S.A.<sup>87</sup>)

Estos resultados se validan y se dan de alta en el sistema para que el médico los consulte en su consultorio respectivo y se le dé el tratamiento respectivo

## Citometría hemática

El término citometría hemática parece ser el más adecuado para referirse a la medición de las células de la sangre (*bitos* = célula, *metros* = medida, *haema*, *haematos* = sangre). El clásico termino de biometría hemática (*bios* = vida, *metros*



= medida) es incorrecto en tanto que el estudio no se refiere a la medida de la vida, por lo que debería abandonarse. Otro término empleado, el de citología hemática (*citos* = célula, *logos* = tratado), es menos incorrecto si bien el de citometría hemática (CH) es el que mejor describe al estudio de laboratorio destinado a informar sobre el número y las características de las células de la sangre; este último será en adelante el único que se emplee. La CH es probablemente el estudio de laboratorio más solicitado, junto con el examen general de orina y la llamada “química sanguínea”. Desafortunadamente, es subutilizada. Pues muchos médicos se limitan a usar solo las cifras de hemoglobina, la cuenta de leucocitos, el número de “bandas” y, en ocasiones, la apreciación de las plaquetas. La interpretación correcta de toda la información que ofrece una CH permite establecer sospechas diagnósticas definidas sobre la enfermedad que causan alteraciones de la misma y ahorrar al médico y al paciente tiempo, esfuerzos e incluso erogaciones económicas. La interpretación correcta de la CH supone el análisis detallado de cada uno de los datos que informa, los cuales pueden dividirse en tres grandes grupos: datos de la serie roja, de la serie blanca y de la serie trombocítica. Idealmente, la medición de todos los parámetros e índices eritrocíticos debe hacerse empleando contadores de partículas por citometría de flujo.<sup>18</sup>

### **Serie roja.**

#### Hemoglobina (Hb) y definición de anemia

La Hb se mide en gramos por decilitro (g/dL) y representa la cantidad de esta proteína por unidad de volumen. Este parámetro debe ser el único a emplear para definir si hay o no anemia, es decir, solo si las cifras de hemoglobina son inferiores a los valores normales puede asegurarse que existe anemia. Las cifras “normales” o “de referencia” de la hemoglobina son variables y dependen de: edad, sexo, altura de residencia, etc. A la altura de la Ciudad de México (2240 m sobre el nivel del mar), las cifras inferiores normales de hemoglobina en adultos sanos son de 12.5 g/dL para mujeres y de 15.5 g/dL para varones.<sup>18</sup>



---

## **Hematocrito (Hct)**

Se mide en porcentaje (%) y representa la proporción de eritrocitos en el total de la sangre. Este parámetro no debe emplearse para establecer la existencia de anemia. Los valores normales de hematocrito dependen también del sexo, la edad y altura del sitio de residencia. A nivel de la Ciudad de México, el hematocrito de referencia oscila entre 46 y 56% para varones y entre 39 y 50% para mujeres.

## **Número de glóbulos rojos (GR)**

Se mide en millones por microlitro (millones/ $\mu$ L). Su valor normal depende también de los factores señalados para otros dos parámetros eritrocíticos (Hb y Hct). Para la altura del altiplano mexicano, los valores de referencia en adultos son: varones 5.0 a 6.3 millones/ $\mu$ L. Y mujeres de 4.1 a 5.7 millones/ $\mu$ L.<sup>18</sup>

## **Volumen globular medio (VGM)**

Se mide en femtolitros (fL) o micras cúbicas. Este índice eritrocítico, medido directamente con citometría de flujo, es de gran valor en el esclarecimiento de la causa de una anemia. Los valores del VGM permiten saber si una anemia es macrocítica (VGM mayor a los límites normales) o microcítica (VGM menor a los límites normales, que a la altura de la ciudad de mexicano es de 83 a 98 fL para varones y de 78 a 103 fL para mujeres).<sup>18</sup>

## **Hemoglobina corpuscular media (HCM)**

Se expresa en picogramos (pg) y representa la cantidad promedio de hemoglobina en cada eritrocito. Los citómetros de flujo determinan este índice dividiendo la Hb entre el número de GR y multiplicando el coeficiente por 10. Se trata de un índice muy confiable, a la altura de la Ciudad de México, los valores de referencia de la HCM son de 27 a 34 pg.<sup>18</sup>

## **Concentración media de hemoglobina globular (CmHb)**

Este índice eritrocítico, medido como porcentaje (%) se determina dividiendo la Hb multiplicada por 100 entre Htc. Como el Htc es un parámetro eritrocítico calculado



a partir de GR y del VGM con los citómetros de flujo, la CmHb es un dato de referencia menor útil e inexacto. Los valores de referencia de CmHb son de 32 a 34% para varones y de 30 a 34% para mujeres (adultos en el altiplano mexicano).<sup>18</sup>

### **Coeficiente de variación del VGM (CV - VGM)**

Se mide como porcentaje (%), este índice también se conoce con el nombre de “anchura de la distribución de los eritrocitos”. El equipo de citometría hace una curva de distribución del tamaño (VGM) de los eritrocitos, donde gráfica en las abscisas el VGM medido en femtolitros y en las ordenadas la frecuencia relativa de los volúmenes, expresada en por ciento (%). El CV-VGM es, ordenadas la frecuencia relativa de los volúmenes, expresada en por ciento (%). El CV-VGM es, aproximadamente, de 12 a 13% en condiciones normales.<sup>18</sup>

**Tabla 2.-** Resumen de Glóbulos rojos en la actividad clínica.

<b>Serie roja</b>	<b>Concepto</b>	<b>Valores</b>	<b>Comentarios</b>
<b>Eritrocitos</b>	Encargados del transporte de O <sub>2</sub> .	4.1 a 5.7 millones / $\mu$ L y para hombres de 5.0 – 6.3 millones/ $\mu$ L	Su vida media es de 120 días.
<b>Hemoglobina</b>	Proteína en la que se produce la fijación de O <sub>2</sub> para su transporte	12.5 – 15.5 g/ dl	Es el único valor que se emplea para definir si existe anemia.
<b>Hematocrito</b>	% de eritrocitos en el volumen total de sangre	39 – 50% para mujeres y de 46 – 56% para varones.	Se calcula a partir de los eritrocitos y del volumen globular medio.
<b>Volumen corpuscular medio</b>	Volumen, tamaño de los hematíes	83 – 98 fL para varones y 78 – 103 fL para mujeres	Permite el esclarecimiento de la anemia.
<b>Hemoglobina corpuscular media</b>	Cantidad media de Hb por hematíe	27 – 34 pg	Es un valor muy confiable por que se obtiene directamente por la citometría de flujo.
<b>Concentración de Hb corpuscular media</b>	Concentración de Hb por hematíe según su volumen. = Hb/hematocrito	32 – 34% para varones y de 30 a 34% para mujeres.	Es un dato de referencia menor e inexacto.



---

## **Serie blanca**

Los datos que la CH proporciona son: número de glóbulos blancos, cuenta diferencial y alteraciones de los mismos.

### **Número de glóbulos blancos (GB).**

Se mide en miles de millones por litro ( $\times 10^9/L$ ). Los citómetros de flujo permiten determinar con gran exactitud este parámetro. El número de leucocitos depende de muchos factores como edad, peso, hábito tabáquico, consumo de hormonas anticonceptivas, etcétera. Para adultos los valores de referencia oscilan entre 5 y  $10 \times 10^9/L$  (5,000 a 10,000/  $\mu L$ ). Cuando los GB se encuentran por arriba de  $10 \times 10^9/L$  se habla de leucocitosis y cuando se encuentra por debajo de  $5 \times 10^9/L$  de leucopenia. Hay muchas causas de leucocitosis. Dentro de las causas de leucopenia, pueden señalarse las infecciones bacterianas (septicemia, tuberculosis miliar, tifoidea, brucelosis, tularemia); infecciones virales (mononucleosis infecciosa, hepatitis, influenza, parotiditis, psitacosis); infecciones por rickettsias (tifo) y otras infecciones (paludismo, kala – azar). Algunos medicamentos pueden originar también leucopenia (sulfonamidas, antibióticos, analgésicos, mielosupresores, arsenicales, fármacos antitiroideos), así como las radiaciones ionizantes, algunos padecimientos hematológicos como la anemia perniciosa, algunas leucemias agudas, la aplasia medular, el hiperesplenismo, la enfermedad de Gaucher, el síndrome de Felty, etcétera. También se acompaña de leucopenia el choque anafiláctico, la caquexia, el lupus eritematoso generalizado, la artritis reumatoide y la insuficiencia renal.<sup>18</sup>

### **Neutrófilos**

Cuando la cifra de neutrófilos absolutos es de  $1.5 \times 10^9/L$  se habla de neutropenia; cuando la cantidad es mayor a  $7.0 \times 10^9/L$  se habla de neutrofilia. Las causas de neutropenia y neutrofilia son las mismas que se señalaron para la leucocitosis, pero se refieren especialmente a la serie granulocítica. En las neutrofilias secundarias a procesos infecciosos o inflamatorios, se incrementa el número de formas “en banda”; una cifra absoluta de más de 800 ( $0.8 \times 10^9/L$ ) neutrófilos “en



banda” permite establecer la presencia de bandemia. Con anterioridad se empleaba el término de “reacción leucemoide” para referirse a leucocitosis grave con formas jóvenes o inmaduras de elementos de la serie granulocítica (“bandas”, metamielocitos, mielocitos, etc.) en ausencia de leucemia; el término debe abandonarse y en su lugar ha de usarse el de leucoblastosis, que puede, cuando se acompaña de formas inmaduras de elementos de serie roja (normoblastos) en sangre periférica, ser leucoblastosis. Las leucoblastosis pueden constituirse a expensas de granulocitos (mielocíticas), de linfocitos o de monocitos. Las causas de leucoblastosis o leucoblastosis o leucoeritroblastosis mielocíticas comprenden endocarditis infecciosa, neumonía, septicemia, leptospirosis, quemaduras, eclampsia, envenenamientos, carcinomas metastásicos a medula ósea, hemorragia aguda, hemolisis aguda, recuperación de anemia o de granulocitosis, etcétera.<sup>18</sup>

### **Eosinófilos**

Existen varias causas de eosinofilia. Se describe a los pacientes con síndrome de Cushing tienen eosinopenia, pero si se acepta que es normal que en una cuenta diferencial no haya Eosinófilos, resulta difícil entonces a la eosinopenia.<sup>18</sup>

### **Basófilos**

Las causas de basofilia son: leucemia mieloide crónica, policitemia vera, metaplasia mieloide, enfermedad de Hodgkin, anemia hemolítica crónica, sinusitis crónica, varicela, mixedema, síndrome nefrótico, el posoperatorio a esplenectomía, etcétera. Dado que normalmente puede no haber basófilos en sangre periférica, nuevamente es imposible definir la basopenia que, no obstante, se ha descrito en tirotoxicosis, síndrome de Cushing, etcétera.<sup>18</sup>

### **Linfocitosis**

Las causas de linfocitosis son varias, casi todas las infecciones. Las formas extremas de linfocitosis no leucémica constituyen parte de las reacciones leucoblásticas/leucoeritroblásticas linfoides. Algunas infecciones virales que



causan linfocitosis pueden aparecer en la sangre periférica linfocitos “atípicos”, “irritativos”, “virocitos”, etcétera. La mayoría de estos linfocitos “atípicos” o “virocitos” son linfocitos B, estimulados habitualmente por el proceso infeccioso viral o por respuesta inmunitaria secundaria. Es importante establecerla diferencia entre estas células reactivas y los blastos, ya que la presencia de estos últimos en la sangre periférica es casi patognomónica de leucemia aguda.<sup>18</sup>

### Monocitosis

Cuando la cuenta absoluta de monocitos excede 500  $\mu\text{L}$  ( $0.5 \times 10^9/\text{L}$ ) se habla de monocitosis, cuyas causas son: leucemias, tuberculosis, metaplasia mieloide agnogénica, policitemia vera, enfermedad de Hodgkin, linfomas malignos, recuperación de daño medular por radiaciones o por medicamentos, paludismo, kala-azar, tripanosomiasis, rickettsiasis, endocarditis infecciosa, brucelosis, colitis ulcerosa, enteritis regional, sarcoidosis, padecimientos auto inmunitarios, etcétera. La tuberculosis es probablemente la única causa de leucoblastosis.<sup>18</sup>

**Tabla 3.-** Resumen de leucocitos en la actividad clínica

Serie blanca	Valores	Recuento elevado	Recuento disminuido
<b>Leucocitos</b>	5,000 y 10,000 células /mm <sup>3</sup>	Inflamación, infección, intoxicación, leucemias crónicas, necrosis tisular.	Defensas bajas, infecciones bacterianas, virales.
<b>Neutrófilos</b>	54 – 62%	Anemia perniciosa, falta de ácido fólico, infecciones.	Hemorragias agudas, carcinomas metastásicos, infecciones y envenenamientos.
<b>Eosinófilos</b>	1 – 3%	Reacciones alérgicas, infecciones parasitarias.	No se puede encontrar.
<b>Basófilos</b>	0 – 1 %	Leucemia mieloide crónica, anemia hemolítica crónica, sinusitis crónica.	No se puede encontrar
<b>Linfocitos</b>	25 – 33%	Infecciones víricas, enfermedades inmunológicas.	Debilitamiento por enfermedad prolongada }, nivel de esteroides



<b>Monocitos</b>	3 – 7%	Leucemias, infecciones víricas, enfermedades crónicas.	Tuberculosis
------------------	--------	---	--------------

### **Serie trombocítica**

Número de plaquetas (PLT)

La cifra de referencia de la cuenta plaquetaria se hallan entre  $150 \text{ y } 500 \times 10^9/\text{L}$  ( $150\,000 \text{ a } 500\,000/\mu\text{L}$ ). Cuando la cuenta plaquetaria se encuentra por encima de  $500 \times 10^9/\text{L}$ , se habla de trombocitosis, cuyas causas son también múltiples.

### **Importancia clásica de la cuenta leucocitaria**

Los datos que habitualmente se reportan en una biometría hemática sobre los leucocitos se pueden dividir en:

1. Leucocitos, leucocitos totales, cuenta de leucocitos, cuenta total de leucocitos

2. Cuenta diferencial de leucocitos, diferencial:

a) Granulocitos:

- Neutrófilos.
- Eosinófilos.
- Basófilos.

b) No granulocitos o agranulocitos:

- Monocitos.
- Linfocitos.

c) Alarmas hematológicas.

Los granulocitos son llamados así porque al teñirlos presentan gránulos coloreados en su citoplasma.



---

## Cuenta de leucocitos

Es el número de leucocitos que se encuentra en un milímetro cúbico (o en un mililitro) de sangre. Se expresa en miles de células/mililitro (“n” x 10<sup>3</sup>/mL), miles de células/milímetro cúbico (“n” x 10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup>) o, de manera menos frecuente, en miles de millones de células/litro (“n” x 10<sup>9</sup>/l). En aparatos automatizados el recuento leucocitario se determina a partir de un gran número de elementos, 10,000 células por término medio.

Leucocito es una palabra derivada de las voces latinas que significan célula blanca (o glóbulo blanco) y éstos son nombres comunes alternativos para designarlo. Los leucocitos tienen el color ordinario de todas las células cuando son teñidas con colorantes; se les llama “blancas” en contraste con los glóbulos rojos y porque carecen de pigmentos.<sup>19</sup>

Difieren de los eritrocitos en que son verdaderas células de tamaño normal (entre 8 y 20 micrómetros) y en que tienen núcleo, mitocondrias y otros organelos celulares.

Hay muchos menos glóbulos blancos que rojos; sólo unos 7,000 por milímetro cúbico de los primeros, en comparación con 4 o 5 millones de los segundos. En un hombre promedio hay unos 75, 000, 000,000 de leucocitos en total.<sup>19</sup>

La sangre es sólo un lugar temporal de los leucocitos. A diferencia de los eritrocitos (que desempeñan sus funciones en la corriente circulatoria), los leucocitos actúan al migrar a través de las paredes de los vasos sanguíneos de pequeño calibre hacia los tejidos del cuerpo. La función principal del aparato circulatorio es el transporte de los leucocitos a todos los tejidos.<sup>20</sup>

### **¿Qué hacen los leucocitos, para qué sirven, cuál es su función?**

Los leucocitos son el principal componente celular de las respuestas inflamatoria e inmunitaria. Cada célula tiene funciones específicas: los granulocitos son amplificadores y efectores de la respuesta inmunitaria innata, los linfocitos B producen anticuerpos, etc., aunque en ninguna enfermedad infecciosa se ha



definido con certeza la función que tiene cada tipo celular. Por ello, aunque se ha considerado clásicamente que los neutrófilos son células esenciales en la defensa del hospedero frente a las bacterias, estas células también pueden tener participación importante en las infecciones víricas.<sup>21</sup>

Una cuenta normal de leucocitos no descarta la posibilidad de una enfermedad.<sup>22</sup>

### Cuenta diferencial de leucocitos

Es la cantidad de cada uno de los tipos o poblaciones de leucocitos. Los valores normales se pueden consultar en la tabla 4. Puede determinarse mediante aparatos automatizados, en cuyo caso se expresa de la misma manera que la cuenta total de leucocitos, lo cual es un valor absoluto, ya que la máquina cuenta directamente la cantidad de células; o se puede determinar también a partir del conteo que hace un observador de 100 leucocitos en un frotis mediante microscopía, en cuyo caso se obtiene un valor porcentual o relativo. Es más confiable la cuenta realizada en aparatos automatizados, pues al ser mayor la muestra analizada, es mayor la precisión de los resultados. Si hay anomalías en la cuenta de leucocitos y sólo se tiene un reporte relativo de la cuenta diferencial, es necesario obtener un valor absoluto, ya que los valores porcentuales, cuando la cuenta de leucocitos está aumentada o disminuida, pueden ocasionar confusión e inducir al error. Además, algunas desviaciones en las proporciones absolutas de las distintas clases de leucocitos tienen importancia diagnóstica.<sup>23</sup>

**Tabla 4:** Valores normales de los leucocitos.

	Valor absoluto	Valor relativo
Tipo celular	Rango (células/mm <sup>3</sup> )	Porcentaje
<b>Leucocitos</b>	5,000 – 10,000	
<b>Neutrófilos</b>	1,800 – 7,200	54 – 62
<b>Linfocitos</b>	1,500 – 4,000	25 – 33
<b>Monocitos</b>	200 – 900	3 – 7



<b>Eosinófilos</b>	0 – 700	1 – 3
<b>Basófilos</b>	0 – 150	0 – 1

Células/mm<sup>3</sup> = células por milímetro cúbico.

Leucocito quiere decir célula blanca, pero, ¿por qué los distintos tipos de leucocitos reciben esos nombres? En 1877 Paul Ehrlich descubrió un colorante triácido.<sup>24</sup> que le permitió diferenciar a los leucocitos según las características del núcleo y del citoplasma al teñirse, bajo el microscopio de luz. Identificó dos tipos principales: los de citoplasma granuloso y los de citoplasma no granuloso, nomenclatura que permanece hasta hoy, a pesar de haberse comprobado que los leucocitos no granulados pueden poseer algunos gránulos.

Los que tienen gránulos que se tiñen intensamente con colorantes ácidos se llaman acidófilos o eosinófilos (ya que la eosina es el colorante que suele emplearse); los que tienen gránulos que se tiñen intensamente con colorantes básicos se llaman basófilos; y los que tienen gránulos que no son intensamente acidófilos ni basófilos a pH normal (o neutro) se llaman neutrófilos. Hay dos clases de leucocitos no granulados: los más abundantes y pequeños se llaman linfocitos porque se pueden encontrar tanto en la linfa como en la sangre; los menos abundantes y más voluminosos se llaman monocitos, nombre proveniente de la combinación de “mononuclear” y “leukocyte”, en inglés; a este último respecto hay que recordar que el término original, monomorfonuclear, se convirtió en mononuclear, lo que puede ocasionar confusión etimológica.

La terminología actual de los leucocitos es semejante a la clasificación de Ehrlich.<sup>22</sup> Como se puede ver en la figura 1, los leucocitos de interés en esta tesis son los granulocitos inmaduros los cuales son: promielocitos, mielocitos y metamielocitos.

Todos los linfocitos poseen dos propiedades comunes: motilidad y capacidad para formar pseudópodos.<sup>22</sup>

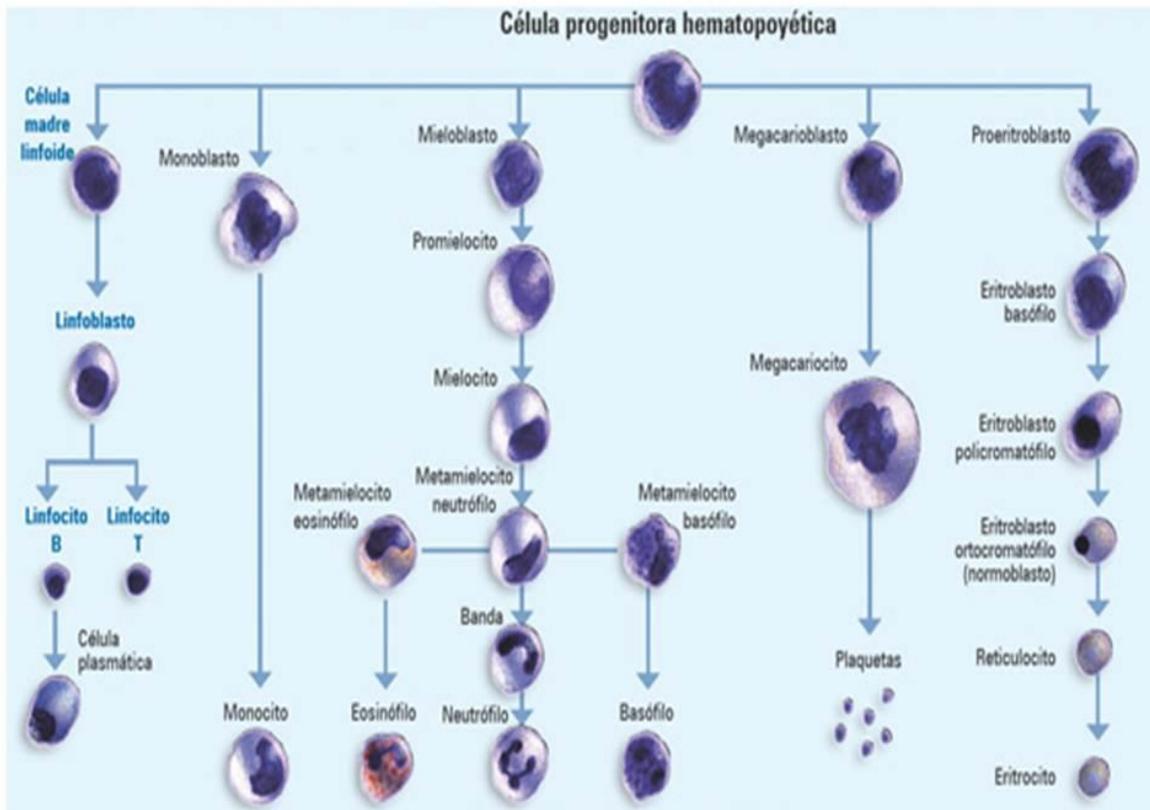


Figura 1.- Estirpe celular y puntos de diferenciación recordando que los granulocitos inmaduros son: promielocitos, mielocitos y metamielocitos, los cuales son de suma importancia en los procesos infecciosos, al conocer este valor absoluto en la citometría hemática se podrían utilizar como un criterio más para la realización de hemocultivos. Fuente: Héctor Mayani Laboratorio de Hematopoyesis y Células Troncales, Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Oncológicas. Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS

## Neutrófilos

Constituyen la mayor parte de los leucocitos circulantes. En los humanos normales, los neutrófilos sólo se producen en la médula ósea. El sistema hematopoyético no sólo produce la cantidad necesaria de neutrófilos (aproximadamente 130,000,000,000 al día en una persona de 80 kg) (Nota: la cifra anterior se refiere a la producción diaria de neutrófilos, no a la cantidad de leucocitos que se puede encontrar en un momento determinado) para llevar a cabo las funciones fisiológicas, sino que también incluye una importante reserva almacenada en la médula y que puede ser movilizada por reacción a la



inflamación o a la infección. En condiciones normales, 90% de los neutrófilos se encuentran en la médula ósea, 2 o 3% en la circulación y el resto en los tejidos. Sin embargo, no todos los neutrófilos sanguíneos están circulando en forma libre al mismo tiempo. Alrededor de la mitad de ese 2 o 3% del total está temporalmente adherida o marginada a lo largo de las paredes vasculares (fondo común marginal), mientras que la otra mitad circula (fondo común circulante).<sup>21,22,25</sup>

### **Mieloblasto**

Es la célula embrionaria de la medula ósea que origina a las tres series de granulocitos mide de 10 a 20 micras de diámetro con un voluminoso núcleo ligeramente oblongo y con escasa capa de citoplasma, es decir un alto índice nuclear citoplasmático con cromatina finamente reticulada de color violeta oscuro con dos o más nucléolos de color pálido. Algunos investigadores clasifican a los mieloblastos en tipo I sin granulación citoplasmática tipo II con menos del 20% de granulación y tipo III con más del 20% de granulación que corresponde al promedio temprano o sea que al madurar, aparecen granulaciones convirtiéndose en promielocitos.<sup>26</sup>

### **Promielocitos**

Frecuentemente su tamaño es mayor que los mieloblastos oscilando de 13 a 15 micras diámetro, con más citoplasma y más gránulos citoplasmáticos que los mieloblastos. Con un área perinuclear pálida, que representa al sistema de Golgi, el índice nuclear citoplasmático continua alto, con núcleo frecuentemente excéntrico, los núcleos inician su desaparición. Los gránulos citoplasmáticos son una mezcla de primarios (azurofílicos) y gránulos secundarios específicos. La mayoría de los gránulos primarios aparentemente se generan durante el estadio promielocítico. Los gránulos son paquetes que contienen enzimas proteolíticas como mieloperoxidasa, lisozima, catepsina G, elastasa, hidrolasas ácidas y defensinas. Estas son péptidos ricos en cisteína y arginina, con amplia actividad antimicrobiana.<sup>26</sup>



---

## **Mielocitos**

Con ellos termina la capacidad de mitosis, y se caracterizan por un aumento variable de citoplasma, disminuyendo la relación núcleo citoplasma, conteniendo abundantes gránulos específicos y núcleo redondo, oval rectangular, carece de nucléolo. En este estadio cesa la síntesis de gránulos primarios y su número decrece durante las divisiones subsecuentes. Los gránulos neutrofilicos (gránulos secundarios) son pequeños y al microscopio electrónico son más brillantes que los gránulos primarios. Ellos contienen lisosomas y lactoferrina.<sup>26</sup>

## **Metamielocitos**

Caracterizados por un núcleo arriñonado, excéntrico, con condensaciones de la cromatina nuclear. Son capaces de la diapédesis, la cromatina nuclear se ha vuelto muy tosca, no se observan núcleos, citoplasma abundante cargado de gránulos secundarios. El metamielocito a diferencia de su progenitora ya no es capaz de dividirse.<sup>26</sup>

## **En cayo o en banda**

El núcleo se hace más esbelto, tomando la forma de una salchicha, la cromatina nuclear es más tosca que aún no han adquirido la verídica lobulación nuclear que es característica de los neutrófilos segmentados.<sup>26</sup>

## **Segmentados**

El núcleo se vuelve más esbelto e inicia la formación de porciones más gruesas, unidas por estrechos puentes de cromatina, cuyo número varía en relación con la madurez de la célula que marcha de dos a cinco lobulaciones nucleares. El estudio con microscopio electrónico demuestra que sus conexiones filamentosas son extensiones de heterocromatina envuelta en membrana nuclear. Tienen la habilidad fagocítica y son componentes para matar y digerir bacterias y levaduras por múltiples mecanismos antimicrobiales, incluyendo producción de peróxido de hidrogeno, liberación de enzima lisosomal y liberan moléculas defensinas.<sup>26</sup>



El proceso de diferenciación de los mieloblastos a neutrófilos maduros toma aproximadamente dos semanas. Estos son liberados a la circulación y distribuidos en granulocitos que se adhieren al endotelio de capilares y un pool circulando de granulocitos que fluyen libremente en el torrente sanguíneo, estos grupos son aproximadamente iguales en número y continuamente pueden intercambiar células.<sup>26</sup>

### **Eosinófilos**

Se sabe muy poco acerca de la función natural y de la cinética de los eosinófilos. Tienen una vida media mucho mayor que la de los neutrófilos, pero pasan poco tiempo en la sangre periférica (de una a ocho horas) antes de emigrar a los tejidos, en donde desempeñan sus funciones y de donde pueden entrar de nuevo a la circulación y a la médula ósea; esto es que, a diferencia de los neutrófilos, los eosinófilos hísticos pueden recircular. La mayor parte de los eosinófilos se encuentra en la capa conectiva de los tejidos expuestos al medio, como conductos nasales, piel, pulmones, intestino y vías urinarias. En la mayor parte de las infecciones, los eosinófilos no parecen desempeñar una función importante. Por lo general no se encuentran en los exudados inflamatorios: permanecen en la periferia del área. Sin embargo, en las infecciones invasoras por helmintos, el eosinófilo tiene probablemente una participación central en la defensa del huésped. Los eosinófilos también se vinculan con el asma, las reacciones alérgicas cutáneas y otros estados de hipersensibilidad.<sup>27, 28</sup>

### **Basófilos**

Son los granulocitos más pequeños y los leucocitos menos numerosos. Sus gránulos contienen histamina (aproximadamente el 50% de la que hay en la sangre) y heparina (entre otras sustancias) y han sido llamados “bolsas suicidas” porque la liberación de grandes cantidades del contenido de estos gránulos en el choque anafiláctico pueden ocasionar la muerte del individuo. No se conoce claramente la función de los basófilos. Estudios recientes apuntan a que son los responsables del inicio de la respuesta alérgica o de promover la respuesta



inmune ante los parásitos, al presentar antígenos a las células T, función que al parecer no es en realidad la de las células dendríticas.<sup>25, 29</sup>

### **Linfocitos**

Recibieron este nombre porque son el único tipo de célula sanguínea que se observa de manera regular y abundante en la linfa al igual que en la sangre. Hay tres clases de linfocitos: los pequeños y los medianos se encuentran en la sangre y los grandes en la linfa. Hay además dos clases de linfocitos pequeños, los B y los T, que no pueden diferenciarse entre sí por sus características morfológicas: sólo pueden diferenciarse por métodos inmunológicos.<sup>25</sup>

### **Monocitos**

Son los precursores inmediatos de los macrófagos. La transición de monocito a macrófago implica ciertos cambios celulares, por lo cual en ocasiones es difícil definir cuándo un monocito se convierte en macrófago, dado que dichos cambios son un proceso. La solución más fácil para este problema es definir los monocitos como células hemáticas y los macrófagos como células tisulares y suponer que cualquier monocito que sale de la sangre y llega a los tejidos se convierte, para todos los fines prácticos, en macrófago. Los macrófagos pueden vivir meses en los tejidos. Normalmente no regresan a la sangre, pero en áreas de inflamación algunos pueden pasar a la linfa, llegando por último a la sangre. Los macrófagos (conocidos también como histiocitos), desarrollan características diferentes según el sitio donde maduren y su hábitat: los del hígado se conocen como células de Kupffer, los del pulmón como macrófagos alveolares, los de la piel como células de Langerhans y los del cerebro como células microgliales.<sup>30 - 33</sup>

### **Utilidad clínica**

Los datos obtenidos del análisis de la citometría hemática pueden revelar:

1. Leucocitos normales: no se hará comentario alguno al respecto.
2. Cuenta aumentada de leucocitos. Leucocitosis



### 3. Cuenta disminuida de leucocitos. Leucopenia

#### Leucocitosis

Hay muchas definiciones: aumento en el número de células de la serie blanca de la sangre, incremento de los leucocitos, aumento de los leucocitos por arriba del valor de referencia, etc. Puede deberse al aumento de uno, de varios o de todos los tipos de leucocitos, motivo por el que toda cuenta anormal deberá de acompañarse por una medición diferencial: el aumento de los neutrófilos (neutrofilia) es la causa más común de leucocitosis; le siguen en frecuencia el aumento de linfocitos (linfocitosis) y de monocitos (monocitosis); no es frecuente encontrar aumento de eosinófilos o de basófilos y es raro encontrar un aumento aislado de estas células tan grande como para ocasionar leucocitosis. Al aumento de todos los granulocitos se le llama granulocitosis.<sup>34</sup>

La leucocitosis puede ser fisiológica o patológica<sup>35</sup> (Tabla 5). Los mecanismos y las causas de la leucocitosis son muchos y muy complejos.

**Tabla 5:** Causas de leucocitosis

Mecanismo	Causas
<b>Mayor producción</b>	Idiopática Farmacoinducida Infecciones Inflamación Enfermedades mieloproliferativas
<b>Mayor liberación por la medula ósea</b>	Glucocorticoides Infección aguda (endotoxinas) Inflamación: lesión por calor.
<b>Disminución o deficiencia de la marginación</b>	Fármacos Estrés, agitación, ejercicio vigoroso Deficiencia de la adherencia leucocítica

**Diversas**

Trastornos metabólicos  
Fármacos litio  
Otras: metástasis, hemorragia,  
hemolisis

A la cuenta de leucocitos de  $50,000/\text{mm}^3$  o mayor (varía según el texto que se consulte),<sup>36</sup> se le denomina reacción leucemoide (o mieleemia), término que se suele utilizar para diferenciar este grado de leucocitosis de la leucemia. En la reacción leucemoide los leucocitos circulantes suelen ser maduros.<sup>21</sup> En cambio, en la leucemia, la médula ósea o el tejido linfoide producen leucocitos en exceso, inmaduros y disfuncionales, frecuentemente a costa de la disminución proporcional de los otros elementos formes de la sangre (eritrocitos y plaquetas), lo cual ocasiona anemia, defectos de la coagulación y defectos inmunitarios, situaciones que pueden llegar a ser mortales. Como la leucemia consiste en un aumento desproporcionado y desenfrenado de nuevas e innecesarias células, se le clasifica como un cáncer (cáncer de la sangre).<sup>19</sup> Para diferenciar una reacción leucemoide de una leucemia se debe de realizar y de analizar frotis de sangre periférica y aspirado de médula ósea. Este diagnóstico habitualmente lo realiza un especialista en Medicina Interna o en Pediatría o subespecialistas de esas ramas.

**Neutrofilia**

Es el aumento del número absoluto de neutrófilos en la sangre, considerados los siguientes valores de referencia, tomados de diversas estadísticas: en poblaciones blancas, medias descrita entre 3,700 y 4,100 /  $\mu\text{L}$ , límites ( $\pm 2$  DE) de 1,500 y 7,000 /  $\mu\text{L}$ . En casos puntuales, en la clínica, siempre es más racional considerar como base de comparación lo normal del paciente cuando se conoce por hemogramas previos.<sup>37</sup>



## Causas de neutrofilia

El consumo excesivo, por causas locales o sistémicas, intensifica el sitio de neutrófilos medula= focos de atracción; la neutrofilia es la expresión hematológica de esa fundamental respuesta defensiva del organismo. La neutrofilia reaccional acompaña, también, numerosas eventualidades médicas en que no son evidentes focos periféricos de consumo.

Hay neutrofilia en la mayoría en las enfermedades infecciosas; en algunas, hay neutropenia.

La neutrofilia es constante en las enfermedades inflamatorias agudas y usuales en las enfermedades inflamatorias crónicas, en las cuales suele ser proporcional a los indicios de actividad. En la fiebre reumática, hay neutrofilia importante (leucocitos entre 13 y 20,000/ $\mu$ L, con 70 a 85% de neutrófilos) con desvío a la izquierda.

En el infarto del miocardio, la neutrofilia y el desvío a la izquierda se muestran proporcionales a las manifestaciones clínicas del evento; el dolor anginoso suele causar neutrofilia sin desvío a la izquierda; eosinopenia es la regla. En las primeras horas, puede haber linfocitos del estrés, siempre de corta duración. Infartos viscerales tienen la misma expresión en el leucograma.<sup>37</sup>

Las intoxicaciones endógenas, como acidosis diabética, la anoxemia prolongada y el shock causan gran y persistente neutrofilia con desvío a la izquierda; cuando son terminales, dan origen a la reacción leucemoide agónica. Las intoxicaciones exógenas y los envenenamientos por picaduras de artrópodos u ofidios causan neutrofilia proporcional a la gravedad sistémica o a la magnitud de las manifestaciones locales.<sup>37</sup>

## Eosinofilia

En países como el nuestro, la causa más frecuente son las enfermedades parasitarias.<sup>27</sup> En cambio, en países desarrollados la causa más frecuente son las enfermedades alérgicas.<sup>38</sup> Se observa también en enfermedades de la colágena



vascular y en tumores malignos. Puede haber una eosinofilia hística relevante sin elevación del recuento sanguíneo.<sup>28</sup>

### **Basofilia**

Es una causa rara de leucocitosis.<sup>19</sup> Es altamente sugestiva de una enfermedad mieloproliferativa,<sup>39</sup> aunque puede deberse a muchas causas.<sup>40</sup> Debido a su rareza y a sus posibles etiologías es conveniente repetir la citometría hemática si se encuentra este dato.<sup>21</sup>

### **Linfocitosis**

Hay dos tipos: **la absoluta y la relativa**. Cuando sólo se elevan los linfocitos y no se observa otras alteraciones de los leucocitos, la linfocitosis es absoluta. Si aparece junto con una neutropenia, se le llama linfocitosis relativa.<sup>41</sup>

La causa más frecuente es la mononucleosis infecciosa,<sup>34</sup> aunque hay muchas otras.

### **Monocitosis**

Los monocitos están elevados en neonatos y en mujeres gestantes, en donde se elevan paralelos con los neutrófilos.<sup>19, 40</sup> Hay pocas patologías que eleven específicamente la cuenta de monocitos. Puede deberse a infecciones crónicas o tumores.<sup>42</sup>

### **Alteraciones relacionadas con la interacción de los polimorfonucleares con otras células**

#### **Agregación de neutrófilo**

Los polimorfonucleares neutrófilos se pueden agregar entre sí, con o sin agregación concomitante de plaquetas, como resultado de su interacción in vitro con el EDTA utilizando como anticoagulante. Se ha observado que este fenómeno, mucho menos frecuente que la aglutinación de plaquetas, es

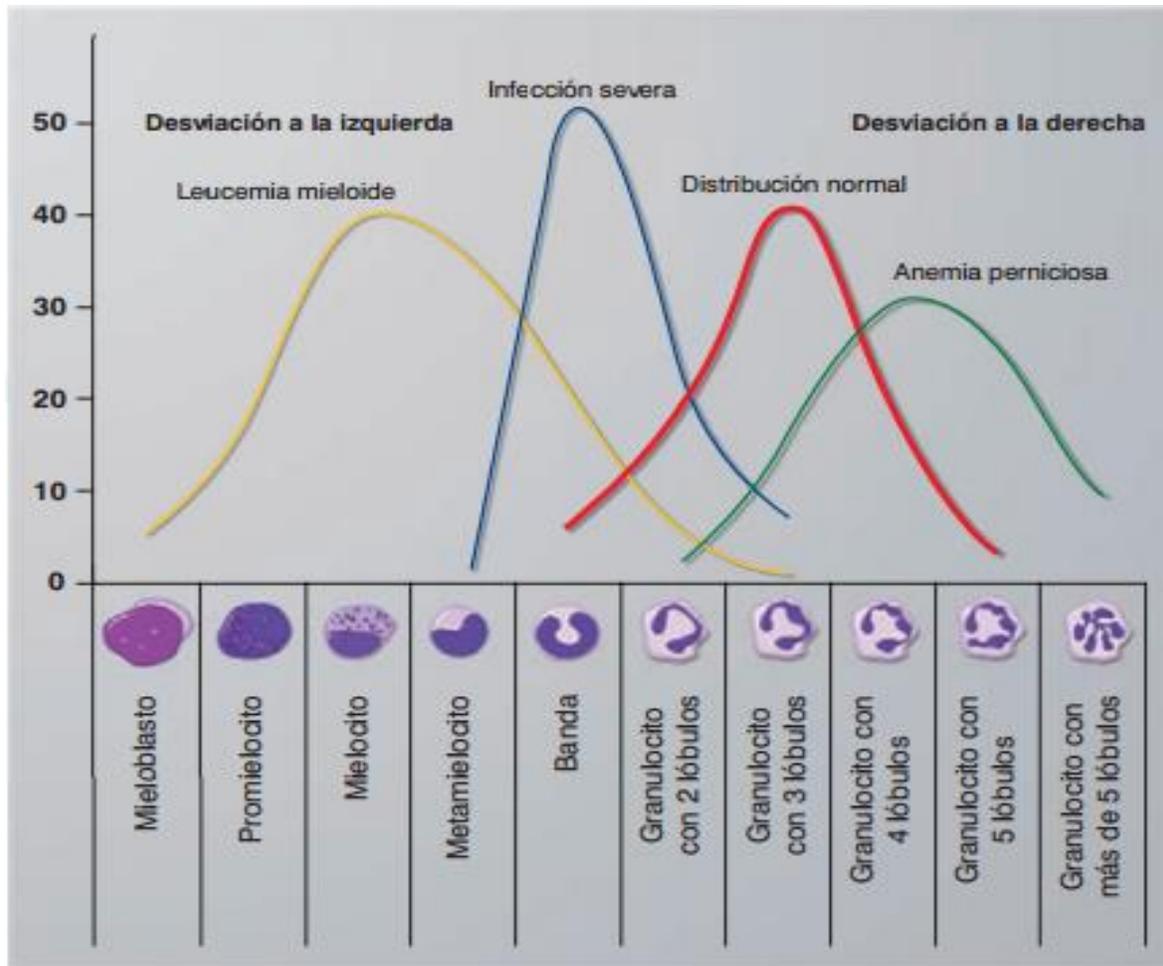


dependiente del tiempo<sup>23</sup>, de ahí la importancia de hacer el estudio tan pronto como sea posible. También se ha observado agregación de neutrófilos en pacientes con mononucleosis infecciosa<sup>42</sup>, en infecciones bacterianas agudas, en enfermedades autoinmunes y en algunos pacientes con anticuerpos en frío, con existencia de auto aglutinación de glóbulos rojos. La agregación de neutrófilos puede dar una pseudoneutropenia si no se tiene precaución y no se piensa en esta posibilidad, de ahí la necesidad de revisar todas las placas cuando los analizadores de hematología muestran desviaciones de los valores esperados o alarmas.

### **Alteraciones relacionadas con el núcleo de los polimorfonucleares**

Numero de lobulaciones.

Los neutrófilos se pueden clasificar de acuerdo con el grado de maduración que se expresa por el número de lobulaciones del núcleo. En estado de normalidad, se espera que las bandas, los neutrófilos más jóvenes en la sangre periférica, estén entre 2 y 3 por  $\mu\text{L}$  y que el resto de los polimorfonucleares neutrófilos tenga entre dos y cinco lobulaciones.<sup>43</sup> De acuerdo con el grado de maduración de los polimorfonucleares neutrófilos, tradicionalmente se ha definido dos figuras hematológicas: la desviación a la izquierda y la desviación derecha de los granulocitos que se esquematiza a continuación.



**Figura 2.-** Representación esquemática de los conceptos de desviación izquierda y desviación derecha. Fuente: imagen obtenida del artículo “Utilidad del extendido de sangre periférica” autor Campuzano Maya, medigraphic.

### Desviación izquierda

En la desviación izquierda característicamente hay aumento de bandas, y otras formas menos maduras como metamielocitos, mielocitos y promielocitos, y clásicamente se ha asociado con infecciones incluida la sepsis neonatal<sup>44</sup> y la tuberculosis<sup>45</sup>, con intoxicaciones por plomo, en pacientes con síndromes urémicos, con hemopatías (anemia aplásica, policitemia, agranulocitosis, leucemia mieloide y en las neoplasias sobre infectadas<sup>45</sup>) en la fiebre por quinidina<sup>46</sup> y en pacientes con síndrome de Down<sup>47-48</sup>. Los problemas de la desviación a la izquierda en la aplicación clínica se derivan de que solo estaría disponible con los recuentos diferenciales de leucocitos que tienen una gran



variabilidad derivada de las variaciones interobservadores<sup>49</sup>, la imprecisión del recuento manual por distribución no uniforme en los extendidos de sangre periférica<sup>50</sup>, consumen mucho tiempo de personal profesional, no están disponibles en ninguno de los analizadores de hematología hasta ahora desarrollados y al momento de determinar su utilidad clínica no son costo eficientes<sup>51</sup>. Además, para agravar las limitaciones del recuento de bandas como prueba de laboratorio, falta de estandarización que permita separar claramente las bandas de los neutrófilos a pesar de los esfuerzos de la comunidad científica para lograrlo desde 1948<sup>52 - 54</sup>, los valores de referencia oscilan en un rango muy amplio, entre 3% (0 a 700 por  $\mu\text{L}$ ) y 10% (2,000 por  $\mu\text{L}$ )<sup>55</sup> y puede llegar hasta 21.5%<sup>50</sup> y está influenciado por variaciones étnicas y con la edad.<sup>56</sup>

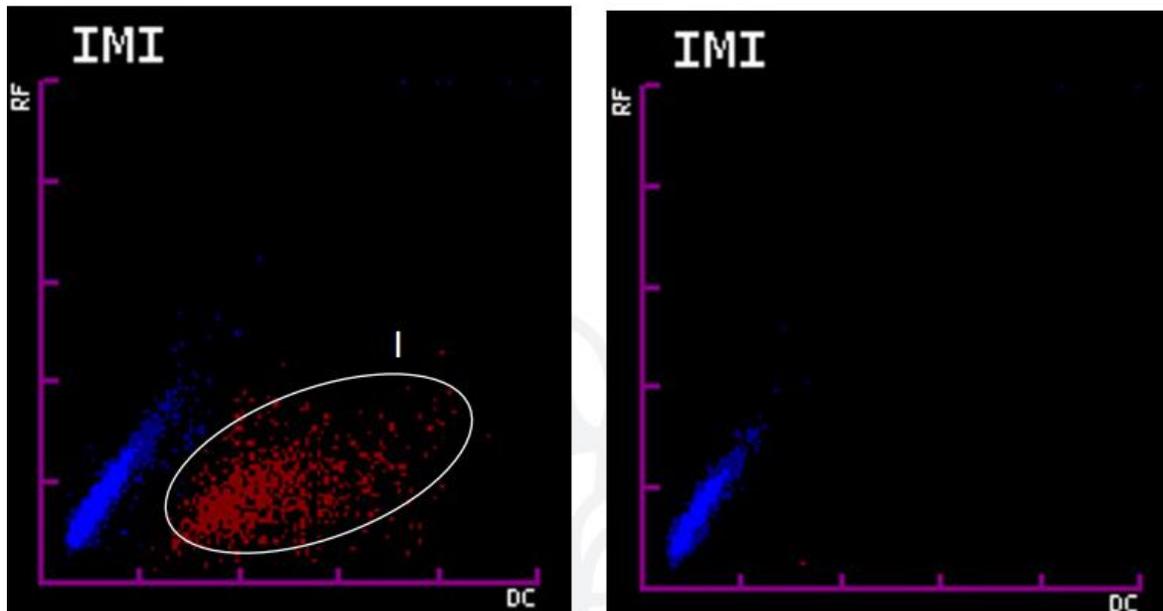
De otro lado, el recuento diferencial de leucocitos derivado de los analizadores de hematología, especialmente los de las últimas generaciones, solo determinan cinco poblaciones polimorfonucleares neutrófilos (incluidas las bandas), polimorfonucleares eosinófilos, polimorfonucleares basófilos, linfocitos y monocitos y alarmas cuando las células nucleadas como eritroblastos u otras células blancas no son clasificables dentro de los cinco grupos antes citados, para que el operador las defina, tras la observación del extendido de sangre periférica<sup>57,58</sup>. Para concluir, el recuento de bandas es una prueba que se mantiene en la mente de los profesionales de la salud, más por una tradición clínica que por una verdadera utilidad en el diagnóstico de las enfermedades infecciosas que se le atribuye<sup>51</sup>; en otras palabras, es una prueba obsoleta que debería desaparecer de los portafolios de servicios de los laboratorios clínicos para dar paso a pruebas o parámetros de mayor eficiencia clínica, como el índice de granulocitos inmaduros como se analizara a continuación.

### **Índice de granulocitos inmaduros**

Hasta que éstos se incorporaron a los autoanalizadores de hematología, para tener un estudio de granulocitos inmaduros era necesario tener un citómetro de flujo<sup>59</sup>. Con el tiempo y gracias al desarrollo de los autoanalizadores de hematología se generó un nuevo parámetro: el de los granulocitos inmaduros para



referirse la presencia en sangre periférica de metamielocitos, mielocitos y promielocitos, inicialmente aplicado en el diagnóstico de la sepsis neonatal, teniendo en cuenta el recuento total de granulocitos totales.<sup>60</sup> El aumento de los granulocitos inmaduros en la sangre periférica es de importancia en el diagnóstico de enfermedades hematológicas, especialmente las de origen maligno y en procesos infecciosos, la incorporación al hemograma de rutina del índice de granulocitos inmaduros es de gran importancia para la tamización y diagnóstico temprano de enfermedades malignas con compromiso de los precursores mieloides y las infecciones<sup>61, 62</sup> y es así como algunos de los autoanalizadores de la última generación como el XE – 2100 de Sysmex, lo han incorporado como un parámetro en investigación que gracias al software especialmente desarrollado (XE – IG Master) permite agregar al médico el resultado del estudio.<sup>63, 64</sup> El índice de granulocitos inmaduros sin ser equivalente al recuento de bandas, es un indicador de infección y/o estímulo de los granulocitos a nivel de la médula ósea, sobre todo en los casos de sepsis, en donde el diagnóstico oportuno es de vital importancia para evitar un desenlace fatal. En la figura 3 se muestran los citogramas que permiten identificar los granulocitos inmaduros como parte integral de un hemograma tipo VI.



**Figura 3.** Granulocitos inmaduros. En el panel de la izquierda se observan los granulocitos inmaduros, marcados por un ovalo, de un paciente con un índice de granulocitos inmaduros de 12%, en tanto que el panel derecho corresponde al índice de granulocitos inmaduros de un paciente normal. Convenciones: I: granulocitos inmaduros. Sysmex XE-2100. Fuente: imagen obtenida del artículo “Utilidad del extendido de sangre periférica” autor Campuzano Maya, medigraphic.

### Desviación a la derecha

Contrario a lo observado en la desviación izquierda, en donde predominan las formas menos maduras de los granulocitos, en la desviación derecha, hay un mayor número de polimorfonucleares neutrofilos con más de cinco lobulaciones, también conocidos como macropolicitos desde el punto de vista práctico, se considera que hay desviación derecha cuando los macropolicitos representan más del 5% de los polimorfonucleares neutrofilos. Vale la pena anotar que ninguno de los autoanalizadores determina la presencia de macropolicitos, los cuales quedan incluidos en el recuento de polimorfonucleares neutrofilos donde realmente deberían estar.



---

## Capítulo 2

### Antecedentes de la investigación

En este capítulo hablaremos de las investigaciones en esta materia las cuales nos ayudaran a fundamentar, estableciendo los criterios que tomaremos de estas para conocer y edificar los descubrimientos anteriores que van a ser los pilares de nuestra investigación, de igual forma nos darán un parámetro para conocer qué es lo que actualmente se está realizando en materia de diagnóstico clínico en otros países, para así conocer cuál es el estándar de oro en materia bacteriológica en diferentes ciudades y cuáles son las bacterias más aisladas en los diferentes hospitales a nivel mundial. De igual forma cual ha sido la utilidad de los autoanalizadores de citometría hemática para los granulocitos inmaduros, también se incluye un artículo en el cual se demuestran los avances significativos respecto a los autoanalizadores desde la serie I hasta la serie VI.

Del Fávero Humberto y cols.<sup>65</sup> (2001) en su artículo de “Transfusión de granulocitos en pacientes neutropénicos febriles” señala que se transfundieron a 20 pacientes con 21 episodios de neutropenia febril con criterios de extrema gravedad. Catorce episodios correspondieron a sepsis con germen conocido y siete a neutropenia febril sin germen aislado. Con respecto a los pacientes y los métodos, las edades de los mismos pacientes fluctuaron entre los 19 a 68 años dando un promedio de 41 años. La distribución por sexo fue de 14 varones y 6 mujeres. Sus criterios de inclusión y características de la infección fueron los siguientes: Todos los pacientes transfundidos con granulocitos cursaban con un cuadro febril grave, sin respuesta a antibióticos de amplio espectro y antifúngicos por al menos 3 días y presentaban recuentos de neutrófilos menores a 200/ $\mu$ L. Diecisiete pacientes presentaban falla orgánica múltiple al momento de inicio de las transfusiones de granulocitos. Catorce de estos episodios correspondieron a sepsis demostrada bacteriológicamente y 7 a neutropenia febril con hemocultivos negativos. En 5 episodios los hemocultivos demostraron gérmenes Gram (-), *Escherichia coli* en tres casos, *Klebsiella* y *Pseudomona* en los otros dos, en tres



casos bacterias Gram (+), dos por *Staphylococcus* Coagulasa (-) y uno por *Staphylococcus aureus*. En 5 pacientes los hemocultivos fueron positivos para hongos, 3 con *Candida albicans*, uno por *Candida krusei* y uno por *Aspergillus*. Un episodio correspondió a una infección mixta por *Staphylococcus* Coagulasa (-) más *Candida albicans*. Y se obtuvieron los siguientes resultados: quince pacientes sobrevivieron al episodio que motivó la terapia con transfusión de granulocitos y en todos ellos se logró la resolución del cuadro febril. Cinco fallecieron durante el episodio de neutropenia febril, 4 de ellos portadores de infección micótica (2 pacientes con *Candida albicans*, 1 paciente con *Candida krusei*, 1 paciente con *Aspergillus*) y 1 paciente con cultivos negativos. Todos los pacientes fueron controlados con hemogramas seriados. Concluyendo lo siguiente: la transfusión de granulocitos es una terapia de excepción ya que la mayoría de los pacientes con neutropenia febril responden adecuadamente a las terapias antibióticas actuales. Sin embargo, constituye un recurso terapéutico de última línea en pacientes neutropénicos con cuadros infecciosos de extrema gravedad.

Yubero, Marta et al.<sup>66</sup> (Madrid España marzo 2003) En su artículo en donde realizaron “Evaluación del Autoanalizador Hematológico SYSMEX SF 3000”. Sysmex SF 3000 es un autoanalizador totalmente automatizado con capacidad para proporcionar todos los parámetros que constituyen el hemograma completo: recuento de hematíes, leucocitos y plaquetas, hemoglobina, parámetros eritrocitarios (Hto, VCM, HCM, CHCM, RDW) y parámetros plaquetarios (PDW, MPV, P-LCR), además de permitir el recuento diferencial de cinco poblaciones leucocitarias aplicando para ello tecnología láser adaptada a citometría de flujo.

El propósito de ellos es la evaluación del Sysmex SF 3000 para los siguientes parámetros: Hemoglobina, (Hgb), hematocrito (Hto), recuento de plaquetas (Plt), leucocitos (Leu) y hematíes (Eri), así como el estudio de correlación con Sysmex SE 9000 ya estandarizado en su laboratorio para los mismos parámetros y el estudio de la fiabilidad de las alarmas de sospecha que detectan ambos autoanalizadores. se basaron en el protocolo de evaluación recomendado por National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), y las



recomendaciones del Consejo Internacional de Estandarización en Hematología (ICSH) para la evaluación de autoanalizadores hematológicos han servido como guías para su estudio.

Material y métodos ellos utilizaron muestras de sangre venosa recogidas en tubos de vacío con EDTA-K3 como anticoagulante, procedentes tanto de pacientes hospitalizados como ambulatorios de nuestro Hospital y controles comerciales SF CHECK alto, medio y bajo suministrados por el fabricante. Paralelamente se realizaron dos extensiones de cada una de las muestras clínicas que fueron teñidas con colorante de Romanowski. Determinamos los siguientes parámetros: imprecisión intra e entre ensayo, linealidad, arrastre, correlación con otros métodos y valoración de alarmas morfológicas. Se realizó la comparación entre los métodos se analizaron 130 muestras clínicas de rutina, que se procesaron de forma simultánea y por duplicado por los dos autoanalizadores, previamente sometidos a calibraciones según el protocolo recomendado por el fabricante así como a controles de calidad tanto interno como externo.

Valoración de alarmas morfológicas de sospecha. Los valores de sensibilidad (S), especificidad (E), valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) tomando a la observación microscópica como método de referencia fueron los siguientes:

Para la alarma de granulocitos inmaduros: S=83.3%, E=44.8 %, VPP=23.8, VPN=92.86.

Sysmex SF 3000 es un autoanalizador de gran precisión, con una aceptable linealidad y un escaso nivel de contaminación para todas las magnitudes del hemograma convencional. Posee una buena correlación al compararlo con otro autoanalizador de tecnología y metodología similares (Sysmex SF 9000)

En cuanto a las alarmas de sospecha, de granulocitos inmaduros presenta una S (83.3%) que permitiría su aplicación como técnica de screening para su posterior confirmación al microscopio.



En el artículo llamado “Utilidad del extendido de sangre periférica: los leucocitos” de Campuzano Maya<sup>67</sup> (Colombia septiembre 2008) en esta revisión habla precisamente de los grandes avances tecnológicos relacionados con el hemograma, y en particular los derivados de los autoanalizadores de hematología, cada vez más sofisticados y completos, el extendido de sangre periférica continua siendo el “estándar de oro” del diagnóstico de hematología. De acuerdo a las buenas prácticas de hematología, el extendido de sangre periférica está indicado en todos los hemogramas que muestren alguna desviación en los recuentos directos, indirectos y calculados, o cuando se sospeche clínicamente de una enfermedad de origen hematológico o de origen no hematológico con manifestaciones hematológicas, aun con parámetros entre rangos esperados para la edad y el género. En el sentido de sangre periférica es posible observar alteraciones relacionadas con la morfología de los eritrocitos, leucocitos y las plaquetas.

Se definen los aspectos morfológicos de las diferentes series que conforman los leucocitos circulantes y se relacionan con los aspectos clínicos más relevantes. Este artículo, provee al profesional de laboratorio elementos que le permiten identificar adecuadamente las diferentes alteraciones de los leucocitos, en tanto que al médico le proporciona información para que relacione los hallazgos morfológicos de estas células con la clínica.

El índice de granulocitos inmaduros. Hasta que éstos se incorporaron a los autoanalizadores de hematología, para tener un estudio de granulocitos inmaduros era necesario tener un citómetro de flujo. Con el tiempo y gracias al desarrollo de los autoanalizadores de hematología se generó un nuevo parámetro: el de los granulocitos inmaduros para referirse la presencia en sangre periférica de metamielocitos, mielocitos y promielocitos, inicialmente aplicado en el diagnóstico de la sepsis neonatal, teniendo en cuenta el recuento total de granulocitos totales. El aumento de los granulocitos inmaduros en la sangre periférica es de importancia en el diagnóstico de enfermedades hematológicas, especialmente las de origen maligno y en procesos infecciosos, la incorporación al hemograma de



rutina del índice de granulocitos inmaduros es de gran importancia para la tamización y diagnóstico temprano de enfermedades malignas con compromiso de los precursores mieloides y las infecciones y es así como algunos de los autoanalizadores de la última generación como el XE – 2100 de Sysmex, lo han incorporado como un parámetro en investigación que gracias al software especialmente desarrollado (XE – IG Master) permite agregar al médico el resultado del estudio. El índice de granulocitos inmaduros sin ser equivalente al recuento de bandas, es un indicador de infección y/o estímulo de los granulocitos a nivel de la médula ósea, sobre todo en los casos de sepsis, en donde el diagnóstico oportuno es de vital importancia para evitar un desenlace fatal.

Un artículo de suma importancia es el del autor Blanco M.<sup>68</sup> el cual lleva por nombre “frecuencia de aislamientos microbiológicos en hemocultivos” (febrero 2011), el objetivo del mismo fue calcular la frecuencia de aislamientos microbiológicos a partir de hemocultivos obtenidos de pacientes pediátricos y adultos internados en su hospital durante 25 meses. Respecto a sus materiales y métodos ellos ocuparon las muestras de los pacientes de la unidad coronaria, terapia intensiva y cuidado intermedio en el hospital el cruce de Florencio Varela ellos ocuparon el equipo de beckton dickinson BACTEC 9120. Obteniendo los siguientes resultados, se procesaron 7920 botellas de hemocultivos y de estos 790 (8.95%) resultaron positivos y 7211 negativos, y obtuvieron el aislamiento 319 microorganismos de los cuales 160 fueron bacilos Gram (-), 151 cocos Gram (+) y 8 levaduras. Concluyendo: la frecuencia de aislamientos microbiológicos en hemocultivo fue del 9% y observo un ligero predominio de gérmenes Gram negativos esto es debido principalmente de infecciones asociadas a asistencia respiratoria mecánica y debido al tipo de pacientes que se internan en el hospital, con amplios y variados tratamientos antibióticos e internaciones previas, fue posible la recuperación de levaduras.

Otro artículo interesante escrito en México por parte de García González y cols.<sup>69</sup> De la Escuela Médico Militar titulado “Utilidad de la biometría hemática en la práctica clínica. Leucocitos (segunda parte)” (enero 2012). Habla de las



alteraciones relacionadas con el núcleo de los neutrófilos, estos se pueden clasificar de acuerdo con su grado de maduración, el cual se expresa por el número de lobulaciones que aparecen en su núcleo: entre más lobulaciones, más maduro. Normalmente la cuenta de bandas, los neutrófilos más jóvenes en la sangre periférica (y que no tienen lobulaciones en el núcleo), es de 2 a 3 por  $\text{mm}^3$  y el resto de la cuenta son neutrófilos maduros (que tienen de dos a cinco lobulaciones en el núcleo). De acuerdo con el grado de maduración de los neutrófilos, tradicionalmente se han definido dos figuras hematológicas: la desviación a la izquierda y la desviación a la derecha. Por lo que respecta a esta tesis hablare de la desviación a la izquierda, el cual consiste en el aumento de bandas y de otras formas inmaduras como metamielocitos, mielocitos y promielocitos. Clásicamente se ha asociado con infecciones, con intoxicaciones por plomo y por benzol, en pacientes con síndromes urémicos con hemopatías (aplasia medular policitemia, agranulocitosis, leucemia mieloide), en la fiebre por quinidina y en pacientes con síndrome de Down. ¿Por qué a este fenómeno se le llama “desviación a la izquierda”? si hacemos una gráfica en la que enfrentemos las diferentes etapas de maduración de un neutrófilo contra el número de cada una esas células encontradas en la sangre, se formará una curva en forma de “campana”, la cual estaría situada en dicha grafica de acuerdo con el número de las células predominantes. Sobre el eje de la “x”, cerca del valor de cero, o a la izquierda, estarían las formas inmaduras, mientras que las “más” maduras estarían lejos del valor de cero, o a la derecha. Diversas patologías pueden ocasionar que la curva se desplace a la derecha o a la izquierda.

El recuento especializado por los aparatos automatizados, especialmente los de las últimas generaciones, solo determina cinco poblaciones: neutrófilos, Eosinófilos, basófilos, linfocitos y monocitos: y reporta “alarmas” cuando las células nucleadas, como otras células blancas o los eritroblastos, no son clasificables dentro de los cinco grupos antes citados. Por lo tanto, la desviación a la izquierda solo puede notarse si se hace un recuento manual de neutrófilos de un frotis de sangre periférica. Este reporte puede ser impreciso debido a factores como la variación entre un observador y otro, la extensión no uniforme de la



sangre en la laminilla y la añaja falta de una norma que permita identificar claramente las bandas de los neutrófilos maduros. Esas variaciones ocasionan que el fenómeno de la desviación a la izquierda no tenga una aplicación clínica confiable.

Por otro lado el recuento de bandas es una prueba que se mantiene en la mente de los médicos más por tradición que por una verdadera utilidad en el diagnóstico de enfermedades infecciosas que se le atribuye: es una prueba obsoleta que debería de desaparecer de los reportes de la biometría hemática, para dar paso a pruebas o parámetros de mayor eficiencia clínica, como el índice de granulocitos inmaduros.

El índice de granulocitos inmaduros es la presencia en sangre periférica de metamielocitos, mielocitos y promielocitos. Se usó inicialmente en el diagnóstico de la sepsis neonatal. Toma en cuenta el recuento total de granulocitos, los granulocitos inmaduros y la relación granulocitos inmaduros/granulocitos totales. El aumento de los granulocitos inmaduros en sangre periférica es importante como auxiliar en el diagnóstico temprano de enfermedades malignas con compromiso de los precursores mieloides y en las infecciones. El índice de granulocitos inmaduros, sin ser equivalente al recuento de bandas es un indicador de infección o de estímulo de los granulocitos a nivel de la medula ósea, sobre todo en casos de sepsis en donde el diagnóstico oportuno es de vital importancia.

Otro artículo importante es el realizado en el Estado de Chiapas en marzo del 2010, del autor Sánchez González<sup>70</sup> que lleva por título “Frecuencia de microorganismos aislados de hemocultivo en un hospital de tercer nivel en el Estado de Chiapas” Las infecciones nosocomiales son una de las mayores causas de permanencia en hospitales generales y de alta especialidad. Un hemocultivo es un estudio de elección para confirmar una bacteriemia y puede sugerir un diagnóstico definitivo en la orientación de la terapia contra un organismo específico.



El objetivo de su trabajo fue determinar la frecuencia de microorganismos aislados en hemocultivos de pacientes del Hospital Regional de Alta especialidad “Ciudad Salud” de Tapachula, Chiapas. Se efectuó un estudio descriptivo y retrospectivo, y se revisaron los resultados de los hemocultivos de agosto de 2007 a septiembre de 2009 en el área de microbiología del laboratorio de análisis clínicos del hospital. Se empleó el análisis estadístico de prueba chi cuadrada ( $X^2$ ), corrección de Yates. Se consideró positivo el crecimiento de un microorganismo en al menos una muestra de hemocultivo. Se determinó la frecuencia de los microorganismos aislados de acuerdo con el sitio de obtención de la muestra y servicio del cual provenía el paciente. Se procesaron 321 hemocultivos, de los que 14% fue positivo: de los obtenidos de catéter ( $n=56$ ), 32% fue positivo. El microorganismo aislado con mayor frecuencia fue *Escherichia coli*.

En el mes de septiembre del 2010 Klever Sáenz y cols.<sup>71</sup> En su artículo denominado “Granulocitos inmaduros: valores de referencia empleando analizador Sysmex XE-2100” la biometría hemática automatizada ha tenido innovaciones tecnológicas importantes durante los últimos años. La cuenta de certeza de granulocitos inmaduros es un nuevo parámetro de la cuenta diferencial de glóbulos blancos, basada en la identificación de sus particularidades en la composición de la membrana celular y sus diferentes cantidades de ARN y ADN. El establecer sus valores de referencia permitirá identificar el incremento potencialmente patológico de esta línea celular, con un ensayo de respuesta rápida y de bajo costo. Con respecto al material y métodos realizados por los autores, se realizó un estudio epidemiológico descriptivo de conjunto en una muestra de 708 biometrías hemáticas de sujetos de uno u otro sexo, con edades entre 18 a 60 años, remitidas a Net-Lab en Quito Ecuador durante dos meses de enero a febrero del 2009, todas realizadas en estudios de salud preventiva en contador Sysmex XE – 2100. Ellos discuten que los valores de referencia de magnitudes biológicas, pueden estar asociados con condiciones de salud o con cualquier otra condición fisiológica o patológica y pueden ser usados por



diferentes razones. En un contexto clínico, los “valores normales”, reflejan aquellos en los cuales un individuo se encuentra “sano” o tiene pocas probabilidades de encontrarse enfermo. Al ser la condición de salud de un individuo, desde el comportamiento de sus indicadores biológicos, un hecho relativo y no absoluto, por cuanto depende de la comparación de los hallazgos realizados de frente a valores de referencia obtenidos de poblaciones de referencia, es recomendable que cada laboratorio establezca valores propios ajustados a su población de atención. Este hecho es particularmente relevante cuando se trata de parámetros que tienen un alto valor diagnóstico y/o pronóstico, y que pueden ser provistos para su uso clínico de manera rápida y con bajo costo para el sistema de salud. Tal es el caso de la certeza de granulocitos inmaduros, la “sexta población”, una nueva parte de la cuenta diferencial de glóbulos blancos, disponible en algunos contadores hematológicos de última generación. Varios reportes han demostrado el uso de la cuenta de certeza de granulocitos inmaduros para el seguimiento y monitoreo de pacientes con procesos infeccioso – bacterianos severos, habiéndose encontrándose buena correlación entre él y otros marcadores de inflamación, como la velocidad de eritrosedimentación y la proteína C reactiva. De igual manera, valores de granulocitos inmaduros sobre 100/mL o de 1% en formula relativa son indicativos de inflamación aguda y por sobre 3% con procesos inflamatorios severos e infección sistémica, siendo un mejor predictor de infección que la cuenta absoluta de glóbulos blancos.

En este estudio ellos proponen valores de referencia absolutos de granulocitos inmaduros de hasta  $0.03 \times 10^3/\text{mm}^3$  y relativos de hasta 0.4%, sin que se haya evidenciado diferencias significativas que justifiquen su aparición por sexo en personas con edades comprendidas entre 18 y 60 años; hallazgo idéntico reportado en un estudio de cálculo de valores de referencia en pacientes sanos donadores de sangre en un hospital de Alemania.

Estos investigadores quitaron valores aberrantes “outliers”, y evaluaron también el comportamiento de la cuenta diferencial de la población excluida, y en estos encontraron conteos significativamente superiores a la cuenta de glóbulos



blancos, linfocitos y neutrófilos absolutos y relativos, así como de granulocitos inmaduros, al compararlos frente a los valores obtenidos en la población de referencia. Para realizar esto se utilizó la metodología estadística basada en los criterios de intervalos intercuartiles con el fin de eliminar sujetos con potenciales estados inflamatorios infecciosos que pudieran haber afectado el cálculo del valor de referencia, por cuanto su promedio absoluto de granulocitos inmaduros fue de  $0.06 \mp 0.03 \times 10^3/\text{mm}^3$  para los valores aberrantes.

Al parecer los valores de referencia de granulocitos inmaduros no difieren entre poblaciones a pesar de ser poblaciones étnicamente diferentes entre la población Alemana y la población Ecuatoriana.

Si bien resulta importante el contar con valores de referencia de este nuevo parámetro hematológico, aún queda pendiente realizar un mayor número de aproximaciones que permitan evaluar su uso como indicador de diagnóstico, pronóstico y monitoreo de infecciones bacterianas sistémicas en diferentes tipos de poblaciones atendidas.

En septiembre del año 2012, Hurtado Isabel y cols.<sup>72</sup> En su artículo llamado “Evolución clínica y de laboratorio de episodios de neutropenia febril en niños con cáncer, en un hospital en Colombia, periodo 2007 - 2009”. Describen que la neutropenia es una de las complicaciones más comunes en los niños con cáncer y el principal parámetro para determinar el riesgo de infección. Además, en estos pacientes los signos clínicos de infección pueden ser escasos y en ocasiones la fiebre es la única manifestación, por lo que todo paciente neutropénico y febril se debe manejar como si presentara una posible infección grave. Su Objetivo fue: Describir los comportamientos clínico y de laboratorio de los pacientes con neutropenia febril (NF) atendidos en su institución para racionalizar el manejo futuro de esta complicación. Pacientes y Métodos: Se revisó los registros clínicos acumulados durante un período de 36 meses, de todos los pacientes de 0 a 15 años internados por cáncer y NF. Sus resultados fueron: En este estudio se



encontró el foco infeccioso en 48,6% de 105 episodios y se logró aislamiento bacteriano por hemocultivos y/o urocultivo en 38%. Las bacterias encontradas con mayor frecuencia fueron *Staphylococcus aureus* sensible a meticilina (20,8%) y *Escherichia coli* no productora de Betalactamasa de espectro Extendido BLEE (20,8%). El antimicrobiano de primera línea más usado fue piperacilina/tazobactam (87,6%) y de segunda línea meropenem (18%). Se usó factor estimulante de colonias de granulocitos en 61,9% de los pacientes. La mortalidad asociada a estos episodios fue de 6,7%. Ellos concluyen que: En diferentes estudios se ha demostrado que los aislamientos microbiológicos en pacientes con neutropenia febril oscilan entre 10 y 30%, lo que fue ligeramente superior en nuestro estudio (38%). Los demás focos infecciosos correspondieron a neumonías (12,3%), gastroenteritis aguda (5,7%) e infecciones de piel y tejidos blandos (4,8%); aunque en éstas no se logró identificar el microorganismo causal, se dio tratamiento apropiado gracias a la identificación del foco de infección. Estos focos están descritos en la literatura médica como focos infecciosos frecuentes en pacientes con NF.

En relación con los microorganismos aislados, la mayor parte de los trabajos refieren a las Cocáceas gram positivas como los principales causantes nuestro estudio es concordante con la literatura científica ya que la especie más frecuente fue *Staphylococcus aureus*, encontrando también *Staphylococcus coagulasa* negativa (SCN) y *Streptococcus spp.* En cuanto a las bacterias gram negativas encontramos a *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Salmonella spp* entre otros, reiterando que son especies a ser consideradas en los pacientes con NF. Las características clínicas y hallazgos de laboratorio en nuestra institución no difieren mayormente de lo descrito en población pediátrica en otras series.

Otro autor Jade Pérez y Jorge Vera.<sup>73</sup> (Monterrey México) en su artículo llamado “Comparación entre diferencial automático por Sysmex XT 1800i y diferencial manual en la alerta de granulocitos inmaduros” (enero 2013). Los analizadores automáticos son sistemas mecanizados que se emplean para hacer el recuento



celular sanguíneo y realizar la fórmula leucocitaria. Hoy en día existen analizadores que cuentan ya con un diferencial leucocitario ampliado, cuenta de reticulocitos y eritrocitos nucleados. Por esta razón, es importante analizar la precisión en estos nuevos parámetros. El objetivo de este estudio fue de analizar el desempeño analítico del Sysmex XT1800i en el parámetro de granulocitos inmaduros en comparación con el diferencial manual. Respecto al material y métodos se recolectaron las muestras por ocho semanas de biometría hemática, pero solo se seleccionaron las que tienen alarma de granulocitos inmaduros. Se realizó una comparación entre el diferencial automatizado con el conteo manual. Para esto, se tomaron en cuenta ciertos puntos del National Committee for Clinical Laboratory Standards document H20-A. Obteniendo los siguientes resultados: se analizaron 120 muestras con alarma para este parámetro. En 20 muestras no se observó la presencia de granulocitos inmaduros en el conteo manual, en comparación del Sysmex XT1800i que obtuvo resultados de hasta  $0.1 \times 10^3$ . Se obtuvo un coeficiente de correlación de  $r: 0.55$  concluyendo que es necesario seguir utilizando el conteo manual para la confirmación de este parámetro, ya que su presencia en el extendido de sangre periférica nos hace pensar en algún proceso infeccioso o inflamatorio importante

El autor Axel Nierhaus,<sup>74</sup> en su publicación llamada “Revisando el recuento de glóbulos blancos: granulocitos inmaduros cuentan como un marcador de diagnóstico para discriminar entre SIRS y sepsis - un estudio prospectivo, observacional”, (febrero de 2013). La sepsis es una enfermedad grave y una causa importante de la unidad de cuidados intensivos (UCI). Su diagnóstico en pacientes críticamente enfermos se complica. Para diagnosticar una infección rápidamente, y para diferenciar con precisión el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) de sepsis, sin embargo, es un reto el diagnóstico precoz y sumamente vital para la inducción temprana de una terapia apropiada. El objetivo de este estudio fue evaluar si el recuento de granulocitos inmaduros (IG) es un marcador de diagnóstico previo y útil para la sepsis en comparación con



otros marcadores. Por lo tanto, se evaluaron un total de 70 pacientes de cuidados intensivos quirúrgicos consecutivos. IG se midieron a partir de muestras de sangre entera utilizando un analizador automático. También se determinaron las concentraciones de proteína C reactiva (CRP), proteína de unión a lipopolisacárido (LBP) y la interleuquina-6 (IL-6). El período de observación fue de un máximo de 21 días y terminó con la aprobación de la gestión de los pacientes de la UCI o la muerte. Se llevaron a cabo operativos (ROC) análisis del receptor característicos y área bajo la curva (AUC) se calculó para determinar las sensibilidades y especificidades para los parámetros. Obteniendo los siguientes resultados, encontramos en el conteo de IG una discriminación significativamente entre los pacientes infectados y no infectados ( $P < 0,0001$ ) con una sensibilidad del 89,2% y una especificidad del 76,4%, sobre todo en las primeras 48 horas después de la aparición SIRS. En cuanto al poder discriminativo para la infección, el recuento de IG era más indicativo que otros parámetros clínicos como la PCR, LBP y la IL-6, que tenía una sensibilidad de menos de 68%. Además, se calculó el odds ratio más alto de diagnóstico (DOR) con 26.7 para el recuento de IG en las primeras 48 horas. Durante el curso de la enfermedad el análisis de curva ROC mostró un valor predictivo positivo superior del recuento de IG en comparación con los otros parámetros medidos durante los primeros cinco días siguientes al cumplimiento de criterios de SRIS. Sin embargo, el número de IG no se correlacionó con la mortalidad en la UCI. Concluyendo lo siguiente. El número total de IG en sangre periférica de pacientes de la UCI es un buen marcador para discriminar pacientes infectados y no infectados prematuramente durante el SIRS. Sin embargo, el recuento de IG no es adecuado como un marcador pronóstico de mortalidad. Las mediciones de rutina y de serie de IG pueden ofrecer nuevas posibilidades para la detección rápida de pacientes con SIRS en UCI con sospecha de infecciones.

“Tendencias en la susceptibilidad antimicrobiana de *Salmonella Typhi* desde el norte de la India (2001-2012)”. Autor Singhal L y cols.<sup>75</sup> (Publicado en marzo 2013) El propósito de este estudio fue el conocer, como es que *Salmonella typhi* es el principal agente causal de la fiebre entérica en la India. La terapia con antibióticos constituye la base del tratamiento. Se realizó el presente estudio para encontrar el



perfil de susceptibilidad de *Salmonella* entérica var *typhi* (S. Typhi) aislados de sangre en un hospital de tercer nivel entre enero de 2001 y diciembre de 2012. Su metodología fue la siguiente: se llevó a cabo un análisis retrospectivo de los resultados de laboratorios. El método de cultivo en sangre convencional se utilizó hasta el año 2009, a partir de enero de 2010 el sistema Bactec 9240 ha estado en uso. El diagnóstico de *Salmonella* fueron confirmados por serotipificación mediante un grupo y tipo de antisueros específicos. La sensibilidad a los antibióticos se ha realizado mediante el método de difusión en disco. De igual manera los 116 aislamientos fueron sometidos a pruebas de concentración mínima inhibitoria para el cloranfenicol, ciprofloxacina, amoxicilina y ácido nalidíxico (NA) mediante dilución en agar y de ceftriaxona y azitromicina utilizando E–strips (Biomerieux).

Obteniendo los siguientes resultados: Se obtuvieron en total de 1.016 *Salmonellas* tifoideas. El serotipo predominante obtenido fue de *Salmonella typhi* (852, 83.8%), seguido de *Salmonella* entérica var *paratyphi* A (164, 16.2%). Se observó un resurgimiento de la sensibilidad a los antibióticos de primera línea y un descenso notable en resistentes cepas multirresistentes (MDR). También encontramos aislamientos recientes resistentes a NA y sensibles a las cefalosporinas de tercera generación y el 84.5% de los aislados que tienen disminución de sensibilidad a ciprofloxacina usando criterios revisados de acuerdo con Estándares Clínicos y de Laboratorio 2012.

Concluyendo lo siguiente: No ha sido re-emergencia de la susceptibilidad a los antibióticos de primera línea y una disminución notable en las cepas resistentes a múltiples fármacos de *Salmonella typhi*. Tenemos una muy alta resistencia al NA y disminución de la sensibilidad a la ciprofloxacina. Cefalosporinas de tercera generación y la azitromicina parecen ser opciones terapéuticas eficaces. El uso juicioso de estos antibióticos es obligatorio para evitar la aparición de cepas resistentes.



Lo que se está haciendo de unos años para atrás en Japón es la “Utilidad de la PCR y amplificación DNA hibridación y micro arreglos de DANr 16S para el diagnóstico rápido de bacteriemia asociada con enfermedades hematológicas”. Del autor Negoro E. y cols.<sup>76</sup> (Abril 2013).

Su objetivo fue conocer el rápido diagnóstico de bacteriemia es crucial para el manejo del paciente incluyendo la elección de la terapia antimicrobiana, especialmente en los casos de enfermedad hematológica, debido a la neutropenia que ocurre frecuentemente durante la quimioterapia antineoplásica o progresión de la enfermedad. Se describe un sistema de detección e identificación rápida que utiliza cebadores de PCR universales para amplificar una región variable de 16S bacterianas de ADN ribosómico (ADNr), seguido de la hibridación de micro arreglos de ADN. Los métodos que utilizaron fueron sondas para 72 microorganismos, incluyendo la mayoría de los patógenos clínicos de enfermedades fueron incluidos en una placa de micro arreglos. Los métodos convencionales de identificación de micro arreglos de DNA se aplicaron a 335 pacientes con enfermedades hematológicas. Obteniendo los siguientes resultados: cuarenta y un muestras (12.2%) dieron positivo a la prueba de hemocultivo convencional en pocos días, mientras que 40 casos (11.9%) fueron identificados por el nuevo método dentro de las 24 horas. La sensibilidad y especificidad de este nuevo método fueron de 93% y 99 %, respectivamente, en comparación con las pruebas convencionales de hemocultivo. Concluyendo lo siguiente: la PCR en combinación con micro arreglos de DNA es útil para el manejo de pacientes febriles con enfermedades hematológicas.

En Francia en el mes de abril de 2013 el autor Pautas C. y cols.<sup>77</sup> En su artículo llamado “Un nuevo flujo de trabajo para el diagnóstico microbiológico de la neutropenia febril en pacientes con un catéter venoso central”. El objetivo del presente trabajo fue mejorar el diagnóstico microbiano de los primeros episodios de neutropenia febril (FEFNs) los cuales son <30% de los episodios de los pacientes con infección documentada microbiológicamente. En consecuencia los pacientes suelen ser tratados por la terapia antibiótica empírica. Su metodología



fue un estudio prospectivo el cual evaluó un nuevo método de trabajo que combina: (i) uno hemocultivo (BC) de 40 ml de sangre la cual es una muestra del catéter venoso central; (ii) la incubación inmediata en un sistema automatizado en la sala de BC; (iii) la detección directa del ADN microbiano en la sangre; (iv) y las pruebas de identificación y susceptibilidad usando métodos rápidos realiza directamente en las botellas BC positivos. Los pacientes también se tomaron muestras para el flujo de trabajo estándar con dos sets BC incubadas en el laboratorio central y evaluado por los procedimientos clásicos. Obteniendo los siguientes resultados: Ciento veinte pacientes fueron incluidos de manera consecutiva con FEFNs de (febrero 2008-marzo 2009). El nuevo flujo de trabajo era tan sensible como el flujo de trabajo estándar, con tasas de BC positividad de 30% (36/120) y 28% (34/120), respectivamente (McNemar's  $\chi^2(2) = 0.67$ ,  $P = 0.41$ ). Detección directa del ADN fue positiva en nueve episodios (7.5%), que también fueron positivos en BC. El nuevo flujo de trabajo proporciona resultados microbiológicos significativamente antes que el flujo de trabajo estándar, con un tiempo más corto para BC positivo (mediana 12 h. 31 min, rango de 7 h 55 min-25 h 37 min en comparación con la mediana 13 h 01 min, rango de 9 h 31 min - 43 h 33 min,  $P = 0.004$ ) y los tiempos de espera más cortos para la identificación y las pruebas de sensibilidad, con la mayor parte de los resultados obtenidos <24 h después de la toma de muestras BC. Se estimó retrospectivamente que el nuevo flujo de trabajo llevaría a la adecuación a principios de la terapia antimicrobiana en el 30% de los casos documentados. Concluyendo: Nuestro nuevo proceso de mejora del diagnóstico microbiológico en FEFNs. La rentabilidad de ser probada.

El autor EU Weddle G.<sup>78</sup> en su artículo “La reducción de la contaminación de los hemocultivos en un servicio de urgencias pediátricas”. (Abril 2013) Los hemocultivos (BCs) se utilizan para diagnosticar la bacteriemia en niños febriles. Los BCs falsos positivos aumentan los costos debido a nuevos ensayos, las estancias hospitalarias son más largas, y el tratamiento antibiótico innecesario. Los datos de él estudio en nuestro hospital mostraron el servicio de urgencias



superó consistentemente directrices establecidas del 2% al 4%. Un cambio de la política en flebotomía fue hecho por el que BC tuvo que ser obtenido por una segunda punción venosa y ya no se obtiene durante la inserción de catéteres intravenosos.

La metodología realizada fue un estudio descriptivo previo a la intervención y después de la intervención de los índices de hemocultivos contaminados (BCC). Un hemocultivo se considera contaminado si solo crecen bacterias, *Staphylococcus coagulasa negativos*, *difteroides*, *Micrococcus spp*, *Bacillus spp*, o *Streptococos* del grupo *viridans*. Los pacientes con catéteres centrales permanentes o que crecieron fueron excluidos bacterias patógenas. Los resultados obtenidos fueron: la Pre intervención hemocultivos contaminados fue de 120 (6.7% [DE. 2.3%]) de 1796 pos intervención de hemocultivos contaminados fue de 29 (2,3%, [SD, 0,8]) de 1229 con odds ratio de 2.96 (intervalo de confianza, 1.96 a 4.57,  $p = 0,001$ ). El contaminante más frecuente fue *Staphylococcus coagulasa negativo*, 21 (72%) de 120, seguido por *Streptococcus viridans*, 3 (10%) de los 29, que no fue significativamente diferente entre los períodos de intervención. Antes de la intervención, 44 pacientes fueron llamados de nuevo a la sala de urgencias, y 25 fueron ingresados a causa de hemocultivos contaminados. Después de la intervención, un total de 9 pacientes fueron llamados de vuelta, y 5 fueron admitidos. La disminución de la hospitalización innecesaria fue estadísticamente significativa ( $P < 0,05$ ). Concluyendo: que la nueva política reduce significativamente los índices de hemocultivos contaminados, disminuyendo así las pruebas y hospitalizaciones innecesarias. *Estafilococos coagulasa negativo* y *Streptococcus viridans* siguen siendo los contaminantes más comunes en los hemocultivos. Las investigaciones futuras deberían centrarse en las intervenciones adicionales para reducir los hemocultivos contaminados.

En un artículo del autor Hernández Reyes<sup>79</sup> el cual lleva por nombre “El hemograma: nueva clasificación y perspectivas”, (septiembre 2013) en dicho



---

artículo hace una recapitulación de los diferentes métodos analíticos a los cuales se han incorporado las nuevas tecnologías en el trabajo del laboratorio clínico.

En los últimos años, los indicadores de exactitud y precisión de los procedimientos en el laboratorio de hematología se han elevado extraordinariamente gracias a la llegada de los sistemas automatizados de conteo y caracterización de células sanguíneas. Esto surgió a principios de la segunda mitad del pasado siglo, la continua fabricación de diversos modelos de contadores hematológicos por parte de las compañías proveedoras y firmas comerciales, ha nutrido el mercado internacional de distintas series de estos equipos. La combinación de principios de detección tales como la impedancia eléctrica, la radiofrecuencia, las medidas de dispersión y absorción de la luz halógena o láser en diversos ángulos y la citometría de flujo, como bases del conteo y caracterización de las poblaciones celulares hemáticas, ha hecho posible el surgimiento de autoanalizadores hematológicos de mayor costo y complejidad.

Como fruto de los avances de esta tecnología y su aplicación al laboratorio de hematología, el hemograma o biometría hemática, como indicación de primera línea en la evaluación clínica de los desórdenes y respuestas del sistema hematopoyético, es hoy día una de las pruebas más accesibles y solicitadas al laboratorio clínico.

Habla también de los diferentes hemogramas desde el tipo I hasta el tipo VI, el cual es el más actual, y con el desarrollo de la informática y la automatización del equipamiento, también permiten incrementar el número de parámetros leucocitarios y plaquetarios que conforman el hemograma tipo VI, lo que posibilita un recuento leucocitario de más de cinco poblaciones e incluye, en ocasiones, la cifra de granulocitos inmaduros. De igual modo, se incorporan nuevos parámetros plaquetarios que, de conjunto con los de series roja y granulocítica, elevan significativamente el poder del hemograma automatizado como herramienta clínica e investigativa.



Aunque el progreso científico y tecnológico actual hace posible la realización de una biometría hemática cada vez más cercana a cumplir las expectativas clínicas, las tecnologías aplicadas a la fabricación de analizadores hematológicos muestran una clara tendencia a la miniaturización de tales instrumentos, sin que esto comprometa la calidad de las determinaciones. En tal sentido, en la actualidad se trabaja arduamente en el campo de los microfluidos, la innovación de nuevos métodos de focalización y la detección de micropartículas, así como en la confección de «boards» electrónicos mucho más pequeños. Dentro de las ventajas atribuibles al proceso de miniaturización y a la extensión del micrométodo para la realización de biometría hemática automatizada se citan, principalmente: La significativa reducción de los costos con respecto a la biometría hemática automatizada convencional, el ahorro de diluyentes y reactivos, la generación de menor volumen de desechos y la disponibilidad de sus resultados en cualquier ambiente.

En la literatura especializada de nuestros días, se citan términos como «citometría de los microfluidos» y se describen los analizadores hematológicos portátiles. La incorporación a estos equipos de novedosos programas informáticos les confiere una gran capacidad para el procesamiento, almacenamiento y transmisión de los datos; lo que, unido a su fácil manejo, hace posible que los resultados del hemograma automatizado se encuentren a disposición del facultativo aún fuera del ámbito hospitalario. Los aportes de estas tecnologías a la esfera del diagnóstico hematológico actual constituyen un reflejo del inevitable tránsito de esta disciplina hacia la era digital.

Depoorter M. y cols.<sup>80</sup> (Abril 2014) En su artículo el cual lleva por tema “Combinaciones de regiones óptimas para el mejor rendimiento de cinco analizadores de células sanguíneas”, ellos hablan de los algoritmos de los analizadores hematológicos los cuales no tienen un criterio uniforme para detectar muestras anormales en diferentes zonas del citómetro, para después realizar un frotis y comprobar estas, este estudio se realizó con quinientos diecisiete muestras



de pacientes los cuales presentaban neoplasias hematológicas y estas muestras se analizaron aleatoriamente en Sysmex XE2100 y XN2000, Abbott Cell-Dyn Sapphire, Beckman Coulter DXH800 y Siemens ADVIA 2120. Y además se realizó un frotis de sangre, así como una capa leucocitaria se realizó para cada uno de ellos. Obteniendo los siguientes resultados: Nuestros resultados muestran que, dependiendo de los indicadores, las combinaciones de ellos, y los umbrales que utilizamos, los analizadores pueden proporcionar resultados muy variables en sus actuaciones para la detección de células anormales. ADVIA y XN2000 muestran notable actuación para la detección de explosiones. DXH800 es el más sensible para la detección de linfocitos anormales, mientras XN supera el mercado de granulocitos inmaduros y de glóbulos rojos nucleados. Ellos concluyen que la marcación de las regiones marcadas ha demostrado ser incompatibles entre los diferentes fabricantes. Este artículo debería ayudar a los profesionales de laboratorio en su búsqueda de las mejores regiones marcadas y darles una línea de base en la selección del analizador más apropiado para su laboratorio.

En otro artículo llamado “La sepsis afecta más a los datos de población de células (CPD) esto se obtuvo usando el analizador de células sanguíneas Sysmex XN-2000: relacionados con los neutrófilos proporcionan información útil para la detección de sepsis”. Del autor Park S.<sup>81</sup> mayo 2014. El analizador Sysmex XN-2000 analiza y puede evaluar 36 rutinas y 57 datos sobre la población de células (CPD). En este estudio se evaluaron estos valores como biomarcadores de sepsis. Su metodología fue de incluir controles normales 280 y 130 pacientes con sepsis. Los pacientes de sepsis los clasificaron de la siguiente manera, sepsis complicada y sepsis no complicada. Los datos obtenidos de la rutina y los de la población de células se determinaron y se compararon con los valores de los controles normales y con los de sepsis, los de sepsis no complicadas y complicadas, y los sobrevivientes y no sobrevivientes. Concluyendo lo siguiente: Los pacientes con sepsis mostraron cambios significativos en los valores de rutina y CPD relacionados con el conteo de glóbulos rojos (RBC), neutrófilos, linfocitos y



plaquetas en comparación con los Comités Nacionales. Aumento de valores de CPD, lo que puede indicar la inmadurez de neutrófilos o la activación, podría ser útil para la detección de pacientes con sepsis, en conjunción con los biomarcadores de sepsis utilizados en la actualidad. Sin embargo, estos elementos no contribuyeron eficazmente a la discriminación de la gravedad de la sepsis o predecir la mortalidad.

Park SH. Y cols.<sup>82</sup> En su artículo (julio 2014) llamado “Un recuento diferencial de leucocitos extendida (16 tipos de leucocitos circulantes) utilizando el sistema de citometría de flujo CytoDiff puede proporcionar información para la discriminación de la gravedad de la sepsis y la predicción de los resultados en pacientes con sepsis”. El sistema de citometría de flujo Beckman Coulter CytoDiff (Beckman Coulter, Miami, FL) fue desarrollado recientemente para la realización de recuentos diferenciales de leucocitos en un máximo de 16 subpoblaciones de leucocitos. Se compararon estos niveles de subpoblación de leucocitos en pacientes con tres etapas de la sepsis (sepsis complicada, sepsis severa, shock séptico), especialmente centradas en la discriminación de sepsis complicada por sepsis no complicada. Ellos examinaron un total de 181 muestras con sepsis que fueron admitidos en la unidad de cuidados intensivos quirúrgicos. Además, se examinaron las muestras obtenidas de 60 voluntarios sanos normales. Tanto las proporciones y los números absolutos de cada tipo de células en los cuatro grupos se obtuvieron utilizando el sistema de citometría de flujo CytoDiff y se comparan.

Obteniendo los siguientes resultados. Los neutrófilos maduros y granulocitos inmaduros no pudieron discriminar pacientes con sepsis no complicada de aquellos con sepsis complicada aunque sus números absolutos se incrementaron en comparación con los controles normales. En contraste, casi todas las subpoblaciones de linfocitos y CD16 los monocitos se redujeron significativamente en los pacientes con sepsis complicada en comparación con sepsis sin complicaciones. Entre ellos, sólo los linfocitos B mostraron la capacidad independiente para discriminar dos grupos. Tanto los linfocitos B y CD16 los



monocitos poseen un efecto pronóstico adverso significativo sobre la supervivencia global cuando sus números absolutos disminuyeron.

Concluyendo lo siguiente: Casi todas las subpoblaciones de linfocitos y CD16 monocitos disminuyeron en el tamaño con el aumento de la gravedad de la sepsis. Entre ellos, sólo los linfocitos B mostraron capacidad independiente para discriminar a los pacientes con sepsis complicada de aquellos con sepsis no complicada. Tanto los linfocitos B y CD16 monocitos muestran un impacto pronóstico adverso significativo en los resultados de supervivencia global en los pacientes con sepsis cuando se disminuyen sus números absolutos.

Van der Geest y cols.<sup>83</sup> En su artículo (agosto 2014) “Granulocitos inmaduros predicen la infección microbiana y su secuela de efectos adversos en la unidad de cuidados intensivos”. Evaluaron el valor predictivo de granulocitos inmaduros (IG) de porcentaje en comparación con el recuento de glóbulos blancos (WBC) y la proteína C-reactiva (PCR), para la infección, su capacidad de invasión, y la gravedad en los pacientes críticos. Ellos escogieron a 46 pacientes consecutivos, se recogieron muestras de sangre en el día (0) a una sospecha clínica de infección microbiana y en los días 1 y 3 a partir de entonces. Definimos infecciones, infecciones del torrente sanguíneo, y el shock séptico dentro de 7 días después de la inscripción. Obteniendo los siguientes resultados: De los 46 pacientes, 31 pacientes tenían infección, 15 pacientes desarrollaron infección del torrente sanguíneo, y el shock séptico 13 pacientes. Proteína C reactiva (PCR) y porcentaje IG aumentaron con el aumento de la invasividad y la gravedad de la infección, desde el día 0 en adelante. Funcionamiento del receptor característico análisis para predecir la infección mostró un área bajo la curva de 0,66 ( $p = 0,10$ ) para el conteo de glóbulos blancos (WBC) vs 0.74 ( $P = 0,01$ ) para la proteína C reactiva y 0,73 ( $P = 0,02$ ) para el porcentaje de IG en el día 0 Comparando WBC y PCR y el WBC y los resultados porcentuales de IG en la predicción comparables de la infección microbiana. Ellos concluyen: que el porcentaje de granulocitos inmaduros es un marcador útil, como la PCR, para predecir la infección, su



capacidad de invasión, y la gravedad, en los pacientes críticos. Sin embargo, el porcentaje IG junto con el WBC y la PCR se pueden obtener para en la exclusión temprana de un proceso infeccioso y se pueden obtener estos de forma rutinaria con la misma toma de muestra de sangre con el fin de reducir los costos.

Otro autor como Guérin E.<sup>84</sup> en el mes de septiembre 2014 en su artículo “Circulación granulocitos inmaduros con las funciones de las células T asesinas predecir deterioro sepsis”. Habla de que su objetivo primario fue identificar subconjuntos de leucocitos que podrían predecir la evolución temprana de la sepsis a las 48 horas (es decir, deterioro o estabilidad / mejora). Los objetivos secundarios fueron evaluar el valor pronóstico de subconjuntos de leucocitos en las propiedades inmunosupresoras de mortalidad y granulocitos inmaduros. Su diseño consistió en: Veintitrés subconjuntos de leucocitos de sangre periférica se analizaron utilizando una nueva generación de 10 colores citometría de flujo. Y se evaluó la actividad destructora de las células T de granulocitos inmaduros se exploró usando un método de clasificación desarrollado específicamente. Los pacientes con los que ellos trabajaron fueron de urgencias y de UCI con un diagnóstico de sepsis en curso menor de 24 horas fueron los elegibles. Los criterios de exclusión fueron el embarazo, edad inferior a 18 años, los tumores sólidos, la infección por el VIH, hematológicas o condiciones inflamatorias, y los fármacos inmunosupresores. Finalmente, se incluyeron 177 pacientes. No realizaron ninguna intervención durante la experimentación.

Mediciones y resultados principales: Las dos características más sobresalientes de la sepsis se redujeron CD10 (Conocido como Antígeno Común de la Leucemia Linfoblástica Aguda, es una glicoproteína unida a la membrana ampliamente distribuida en los tejidos animales con función de hidrolasa encargada de la escisión preferencial de polipéptidos entre residuos hidrofóbicos, particularmente con fenilalanina o tirosina que posteriormente funcionarán como péptidos inflamatorios y vasoactivos), y es usado para fenotipificar las leucemias por citometría de flujo) y CD16 (Es un tipo de antígeno CD propio del sistema inmune



de mamíferos. Y su naturaleza bioquímica se encuentra dentro de la familia de las inmunoglobulinas. Su función biológica en la célula es: media la fagocitosis y citotoxicidad debida a células dependientes de anticuerpos. Se expresa específicamente en neutrófilos, células NK y macrófagos) expresiones de granulocitos. Con un umbral de 90% de CD10 y el 15% de los granulocitos CD16, estas características inmunofenotípicas, que son los de granulocitos inmaduros, predijeron deterioro sepsis en 48 horas con una sensibilidad de 57% y 70% y una especificidad del 78% y 82%, respectivamente. La tasa de supervivencia a los 30 días fue del 99% para los pacientes sin CD10 y CD16, el 85% de los pacientes con aumento de CD16 solamente, y el 63% para los pacientes con un aumento de los granulocitos CD16 y CD10 ( $p < 0,001$ ). Entre CD16 granulocitos inmaduros, hemos identificado un CD14 / CD24 mieloide derivado subconjunto de células supresoras con la capacidad de matar las células T activadas. Consistentemente, un exceso de granulocitos inmaduros CD16 se asoció tanto con CD3 y CD4 linfopenia de células T en el deterioro de los pacientes.

Conclusiones: Los granulocitos inmaduros circulantes predijeron deterioro sepsis temprana y fueron enriquecidos en células supresoras de origen mieloide, que podría ser responsable de la inmunosupresión a través de la inducción de la linfopenia de células T.



## Capítulo 3

### Planteamiento del problema

En este capítulo se hablará del planteamiento del problema, pregunta de investigación, la justificación de la investigación y los objetivos de la misma, para la realización de esta investigación se tuvo que tener en consideración el marco teórico y los antecedentes en materia de investigación. El objetivo de nuestra participación en el equipo de salud en un hospital de tercer nivel es el de contribuir con el diagnóstico bacteriano del paciente internado en la UCI, esta investigación tiene como fin el establecer un criterio más para la realización de hemocultivos, dándole la importancia que se merece el valor absoluto de los granulocitos inmaduros en muestras de citometría hemática, el cual al conocerlo y establecerlo nos ayudaría más al momento de la realización de hemocultivos y de aislamientos exitosos esto con el fin de ayudar al paciente internado en nuestro hospital.

Las infecciones nosocomiales son una de las mayores causas de permanencia en hospitales generales y de alta especialidad, lo que genera un enorme gasto para el sector salud así como para el paciente. Diversos factores, como foco de infección, tipo de microorganismo aislado, enfermedades concomitantes, tratamiento antibiótico y contaminación de soluciones intravenosas, determinan la evolución de los pacientes. El aislamiento de bacterias en la sangre de un paciente posee importancia diagnóstica y de pronóstico, y se asocia a un cuadro clínico de gravedad.

Un hemocultivo se define como el cultivo microbiológico de una muestra de sangre obtenida por punción venosa sencilla o acceso intravenoso. Es un estudio recomendado para confirmar una bacteriemia cuando ésta se sospecha en pacientes con o sin foco obvio de infección. Un cultivo de sangre positivo sugiere un diagnóstico definitivo en la orientación de una terapia eficaz contra los organismos específicos, así como el estudio de patrones de resistencia a antimicrobianos en la terapia médica.



Este estudio al realizarse en un Hospital de tercer nivel en el cual se cuenta con equipos automatizados para el diagnóstico microbiológico tales como el sistema Vitek 2 y el sistema de incubación de hemocultivos aerobios y anaerobios de la compañía VersaTrek 528, estos equipos son necesarios para el diagnóstico oportuno de sepsis bacteriana en muestras de hemocultivos de los pacientes de dicho Hospital de Especialidades "Dr. Bernardo Sepúlveda Gutiérrez", Centro Médico Nacional (CMN) Siglo XXI, los hemocultivos se trabajan en el laboratorio central de dicho hospital, específicamente en la sección de bacteriología, en este servicio se estima que existe un muestreo indiscriminado por parte de los médicos de dicho hospital ya que se obtiene un bajo porcentaje de aislamiento en la sección de hemocultivos, ya que los criterios principales para pensar en una infección en los pacientes hospitalizados es el hecho de tener un pico febril, leucocitosis más de 10,000 leucos /mm<sup>3</sup>. Los pacientes que reciben antibioterapia para una bacteriemia ya documentada (control del aclaramiento del microorganismo en sangre).

La citometría hemática automatizada ha tenido innovaciones tecnológicas importantes durante los últimos años. La cuenta de certeza de granulocitos inmaduros es un nuevo parámetro de la cuenta diferencial de glóbulos blancos, basada en la identificación de sus particularidades en la composición de la membrana celular y sus diferentes cantidades de ARN y ADN. El establecer sus valores de referencia permitirá identificar el incremento potencialmente patológico de esta línea celular, con un ensayo de respuesta rápida y de bajo costo.

Se considera que al tener un bajo porcentaje de aislamiento en los frascos de hemocultivo, se deben de incluir los valores absolutos de los granulocitos inmaduros en los resultados de citometría hemática ya que estos resultados han demostrado en investigaciones anteriores tener un alto valor predictivo en un proceso infeccioso ya que estas células se activan para combatir infecciones bacterianas y micóticas. Es importante incluir un valor absoluto de cohorte de granulocitos inmaduros como un criterio más para la toma de decisiones en el momento de realizar la toma para un hemocultivo. Esto con el fin de reducir los



---

costos del procesamiento de hemocultivos ya que con la misma muestra de rutina de citometría hemática se estaría casi estableciendo un pre diagnóstico de infección.



---

## Pregunta de investigación

En este sentido esta investigación pretende dar respuesta a las siguientes preguntas:

¿Existe asociación en la producción de granulocitos inmaduros observados en los hemogramas con los resultados de los hemocultivos para infecciones bacterianas?

¿Se podrá establecer el coeficiente de variación para la precisión del equipo de citometría hemática con respecto a los granulocitos inmaduros y la exactitud para tomar una mejor decisión con el aislamiento del hemocultivo?

¿Se determinara el intervalo de tiempo en el cual ocurrió la positividad de los hemocultivos en las diferentes bacterias?

¿Cuál es la prevalencia e incidencia de las bacterias que se encuentran en hemocultivos en los pacientes hospitalizados en esta UMAE?

¿Conocer cuál es el porcentaje de contaminación de los hemocultivos positivos para establecerlo como un indicador de calidad?



## Justificación

En este sentido esta investigación pretende establecer si existe asociación entre los resultados de hemogramas de los pacientes internados con un valor absoluto de granulocitos inmaduros mayor a  $0.04 \times 10^3/\mu\text{L}$  con los hemocultivos positivos de los mismos, esto con el fin de establecerlo como un criterio más al momento de la realización de hemocultivos en los pacientes hospitalizados de esta UMAE del Centro Medico “Siglo XXI”, para establecer esta asociación se tendrá que aplicar estadística descriptiva en tablas  $2 \times 2$ , en las cuales se medirá la influencia de una variable independiente sobre la forma en que se modifica la variable dependiente, todo esto se trabajara con un nivel de confianza del 95% para saber si existe o no asociación entre estas variables.

De igual forma se conocerán la prevalencia e incidencia de las bacterias en los hemocultivos de los pacientes, también se comprenderá el porcentaje de contaminación de hemocultivos con el fin de establecerlo como un indicador de calidad, si este último valor está por encima de lo permitido se tendrá que homogenizar los criterios con respecto a la fase pre analítica. Esto con el fin de beneficiar al paciente de manera directa.

Este tipo de estudios les permiten a los Licenciados en Bioquímica Diagnóstica desarrollarse, ya que para realizar esta investigación se ocuparon los conocimientos de dos áreas de dicha carrera que fueron bacteriología y hematología y el Bioquímico conoce perfectamente estas áreas ya que no se pueden trabajar cada una de manera aislada y la integración de las dos mismas se ponen al servicio del diagnóstico del paciente para que sea con mayor eficacia y con la máxima eficiencia.

Es nuestro compromiso con la sociedad que se realicen este tipo de estudios en los hospitales de tercer nivel, que es en donde se encuentran a los pacientes más delicados con las diferentes patologías estudiadas durante nuestra formación universitaria, y es donde se ponen a prueba nuestros conocimientos, habilidades y



---

destrezas para establecer un diagnóstico oportuno y disminuir el tiempo en el diagnóstico clínico.

Teniendo en cuenta lo anterior, es de cabal importancia este estudio, ya que dentro de él, no solo se realizó la asociación de hemocultivos positivos y granulocitos inmaduros, sino que a partir de los resultados obtenidos se podrá implementar una campaña con los médicos tratantes, con los químicos de la sección de urgencias, hematología y bacteriología con el fin de concientizar la importancia de este valor absoluto, teniendo como resultado de manera indirecta disminuir los costos en el proceso de hemocultivos y así brindar una mejor atención médica. Con los médicos tratantes se les hablara y expondrá la importancia en la fase pre analítica para disminuir si es que existen valores por arriba del límite permitido de contaminación de los hemocultivos.



## Objetivo general

Demostrar la asociación entre el hemograma con un valor absoluto mayor de  $0.04 \times 10^3 / \mu\text{L}$  de granulocitos inmaduros con respecto a los hemocultivos positivos en los pacientes adultos con infección bacteriana, los cuales se encuentran internados en la Unidad Médica de Alta Especialidad, Centro Médico Nacional Siglo XXI.

### Objetivos particulares

Asociar la proporción de granulocitos inmaduros observados en los hemogramas con los resultados de los hemocultivos para infecciones bacterianas.

Establecer el coeficiente de variación para la precisión del equipo de citometría hemática con respecto a los granulocitos inmaduros y al rango del valor absoluto de los mismos, para establecerlo como un criterio más al momento de la realización de hemocultivos para los pacientes de la UMAE Siglo XXI.

Conocer el intervalo de tiempo en el cual ocurrió la positividad de los hemocultivos.

Determinar la importancia del procesamiento de la muestra en la fase pre analítica especialmente en el momento de la toma de muestra y homogenizar criterios con respecto a esta fase.

Enterarse cuál es la prevalencia e incidencia de las bacterias que se encuentran en los hemocultivos de los pacientes hospitalizados en la UMAE.

Interpretar cuál es el porcentaje de contaminación de los hemocultivos positivos para establecerlo como un indicador de calidad en el momento de la toma de la muestra.



## Capítulo 4

### Material y métodos

En el presente capítulo se explica el tipo de investigación, el diseño de la misma, la unidad de estudio, la ubicación en el espacio tiempo, el tamaño de la muestra, la selección de sujetos y los criterios de inclusión, de exclusión y de eliminación, también se describen las formas de trabajar los hemocultivos positivos y negativos en el sistema versatrek y por el sistema Vitek 2 para establecer la especie bacteriana y sensibilidad a los antibióticos. También se definen las variables que se van a medir y su escala, de igual forma se explica el análisis de datos para establecer si es que existe asociación entre las categorías de las variables, los programas estadísticos que se ocuparon fueron los de Excel y SPSS versión 22, además se explica el significado de las diferentes pruebas estadísticas como son Chi – cuadrada para aceptar o rechazar la hipótesis nula, y también se explica la importancia del riesgo relativo y su interpretación estadísticamente hablando.

Tipo de investigación: No experimental, transversal, retrospectivo y analítico.

Nivel: Relacional

Enfoque: Cuantitativo

Diseño de la investigación: Epidemiológico de asociación de variables dicotómicas.

G1 O1 >> X (variable aleatoria) Y (variable aleatoria)

—————→

Dónde:

G1 = Conjunto de expedientes revisados dentro de un periodo determinado.

O1 = Registro de la variable dicotómica Con/Sin hemocultivo positivo; registro de la variable dicotómica Cuenta de granulocitos inmaduros > 0.04% y ≤ 0.04%



>> Nos conduce a....

X Y: Asociación entre las categorías de las variables aleatorias dicotómicas.

Unidad de estudio: Expedientes clínicos

Ubicación de espacio-temporal: El trabajo se realizó en el Laboratorio Central de esta UMAE SIGLO XXI, en el área de bacteriología, en la sección de hemocultivos, y se recabaron los datos de Citometría Hemática en el área de Hematología y de Urgencias. Por un periodo de tiempo de que abarco los meses de abril a julio del 2014.

**Tamaño muestral:** El tamaño de la muestra fue por conveniencia, para ello se consideró a un grupo de 700 hemocultivos de la sección de los mismos.

**Selección de sujetos:** No probabilística

**Criterios de inclusión:** Sujetos que sean derechohabientes al Instituto Mexicano del Seguro Social, que se encuentren hospitalizados en el mismo, mayores de edad, ambos géneros, todos los niveles socioeconómicos, que se les haya pedido un hemocultivo en el tiempo del muestreo, y que tengan al menos 1 citometría hemática tres días antes de la toma del hemocultivo y siete días después de la realización del mismo, cualquier estado civil.

**Criterios de exclusión:** Que sean del área de hematología.

**Criterios de eliminación:** Que no tengan muestras de citometría hemática en los días indicados, que los folios, edades y nombres no coincidan, que sus muestras de citometría hemática fueran procesadas en el equipo de terapia intensiva ya que este equipo no cuenta con el conteo diferencial de granulocitos inmaduros.



---

## Procedimientos

### Ingreso de hemocultivos al sistema de incubación versatrek

- 1.- Se imprimen las hojas de los hemocultivos.
- 2.- Los hemocultivos son traídos de urgencias por el personal auxiliar del laboratorio de bacteriología a esta sección.
- 3.- Se revisan que vengan perfectamente etiquetados corroborando con la solicitud, el nombre del paciente y el número de afiliación del mismo.
- 4.- Se les asigna un número interno a cada frasco y se etiquetan si son centrales o periféricos.
- 5.- Después se procede a desinfectar la boca de la botella, esto se realiza a pie de mechero, primero se desinfecta con isodine el cual contiene yodo en una forma química orgánica, este isodine se deja actuar por 2 – 3 minutos.
- 6.- Después con una torunda de alcohol al 70% se quita el excedente de isodine y se deja actuar 2 minutos para después flamear con el mechero.
- 7.- El frasco se deja a pie de mechero el cual cubre un área de esterilidad, se flamea la boca del frasco y se coloca inmediatamente un conector el cual viene estéril.
- 8.- Los frascos ya sellados se ingresan al equipo VersaTrek, en el cual se registra el tipo de frasco ya sea aerobio o anaerobio manualmente y su código de barras. Estos datos quedan guardados en la memoria interna.
- 9.- El equipo nos asigna un cajón con un botón verde para colocar el frasco respectivo.
- 10.- Se ingresan todos los frascos y se cierra el sistema del equipo.



## Procesamiento de hemocultivos positivos y negativos

### Hemocultivos negativos

1.- Pasados los 7 días de incubación en el equipo VersaTrek los hemocultivos son retirados del mismo, observando en la pantalla de la computadora la variable dependiente que es la presión en milibares

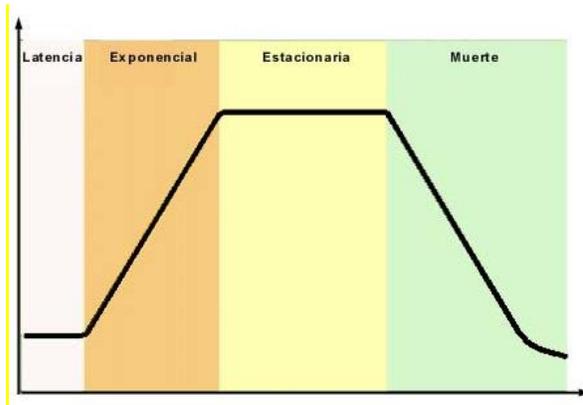
2.- Se valora la gráfica antes descrita teniendo en consideración las 4 fases del crecimiento bacteriano que son:

Fase de adaptación o latencia:

Fase exponencial:

Fase estacionaria

En la fase de declive o muerte:



**Figura 4.-** En esta curva de crecimiento bacteriano, se observan las cuatro fases por las cuales pasan los microorganismos en un hemocultivo, las cuales son sumamente importantes conocer al momento de trabajar con el equipo, ya que uno debe de tener criterio como químico para establecer cómo será trabajada la muestra para obtener un resultado confiable y en el menor tiempo posible. Estas graficas se observan en la pantalla del equipo las cuales se individualizan para cada frasco. Fuente: (Tomado <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteriologia/generalidades.html>).

3.- Las muestras negativas se observan con una presión constante en la fase de adaptación lo cual indica que no existe ningún microorganismo en ellas, ya que la presión de milibares no aumenta y esto significa que no se están metabolizando los nutrientes del medio.



4.- Se retiran las botellas del equipo y después se descargan los lugares para liberar y eliminar de la memoria del equipo los frascos retirados.

5.- Estos frascos se anotan en la libreta de control exclusiva para las muestras negativas.

6.- Después se retira el conector del frasco a pie de mechero, se coloca una gota en agar chocolate o en agar sangre, y se incuba en velobiosis parcial de oxígeno con una atmósfera del 5 a 10% de CO<sub>2</sub> a 37 °C por 48 horas.

7.- Pasadas las 48 horas se sacan las muestras y se revisan para comprobar que realmente son negativas y no hubo crecimiento bacteriano.

Nota: si existiera un crecimiento se trabajarán como positivos.

8.- Se reportan en la bitácora de trabajo como hemocultivos negativos y los frascos se depositan en el bote rojo para desechos biológicamente infecciosos.

### **Hemocultivos positivos**

1.- Se entra al sistema por medio del monitor táctil del equipo de la computadora, y en los módulos del equipo se enciende un botón rojo en donde están los frascos, se observa en la computadora la gráfica del hemocultivo, la cual está en la fase exponencial de las bacterias para que sea realmente positivo.

2.- Se retiran las muestras y se libera la posición dentro del equipo para después sembrarlas a pie de mechero, en donde se les retira el conector y se obtiene una pequeña muestra del frasco.

3.- Se siembra la muestra obtenida en 3 medios de cultivo, los cuales son, agar sangre, agar chocolate y agar macconkey, se meten a incubar a 37°C, por 24, 48 y 24 horas respectivamente y el agar chocolate se pone en velobiosis. Los frascos se almacenan hasta establecer el diagnóstico. En la libreta de hemocultivos se anota el día en que el equipo lo reportó como positivo.



4.- Después de este tiempo son revisados, observando si hubo crecimiento o no, si es que hubo, se observa la morfología colonial, plana, planoconvexa, convexa, acuminada, umbilicada, puntiforme, circular, filamentosa, irregular, rizoide, fusiforme.

5.- Se realiza un frotis para observar la morfología de la colonia, se tiñe con gram para la observación de la forma bacteriana y se anota en la libreta de hemocultivo.

6.- Si se tiene al microorganismo aislado se mete al sistema Vitek 2 con sus tarjetas, de identificación y sensibilidad. Si no se tiene al microorganismo aislado, se realiza una resiembra de este para aislarlo y procesarlo en el sistema.

### **Procesamiento del sistema Vitek 2**

1.- Si se tiene al microorganismo puro: se llena un tubo de vitek con 3 ml. de solución salina al (.045%), se toma una colonia y se disuelve y se homogeniza la suspensión, se verifica la densidad óptica en el DensiChek

2.- Se coloca en él porta casete y se le pone la tarjeta de Identificación G- o G+, se coloca un tubo vacío al lado de la muestra para colocar en este una tarjeta de identificación de sensibilidad.

3.- Se enciende el Smart Carrier Station para colocar el casete y el equipo borra los datos anteriores del casete y después se procede a introducir manualmente el teclado los datos del paciente, y se carga el casete en el instrumento.

4.- Al otro día se revisan los resultados en el equipo y se evalúa el porcentaje de pureza de dicho microorganismo el cual tiene que ser del 98%.

Nota: si es más bajo no se reporta y se vuelve aislar, con respecto a la sensibilidad a los antibióticos se pone mayor énfasis en buscar los que son vancomicina resistente y betalactamasas de espectro extendido (BLEE) positivos que son capaces de lograr resistencia bacteriana a las cefalosporinas de 3ra generación, monobactámicos y aminoglucósidos lo cual es un serio problema en el



---

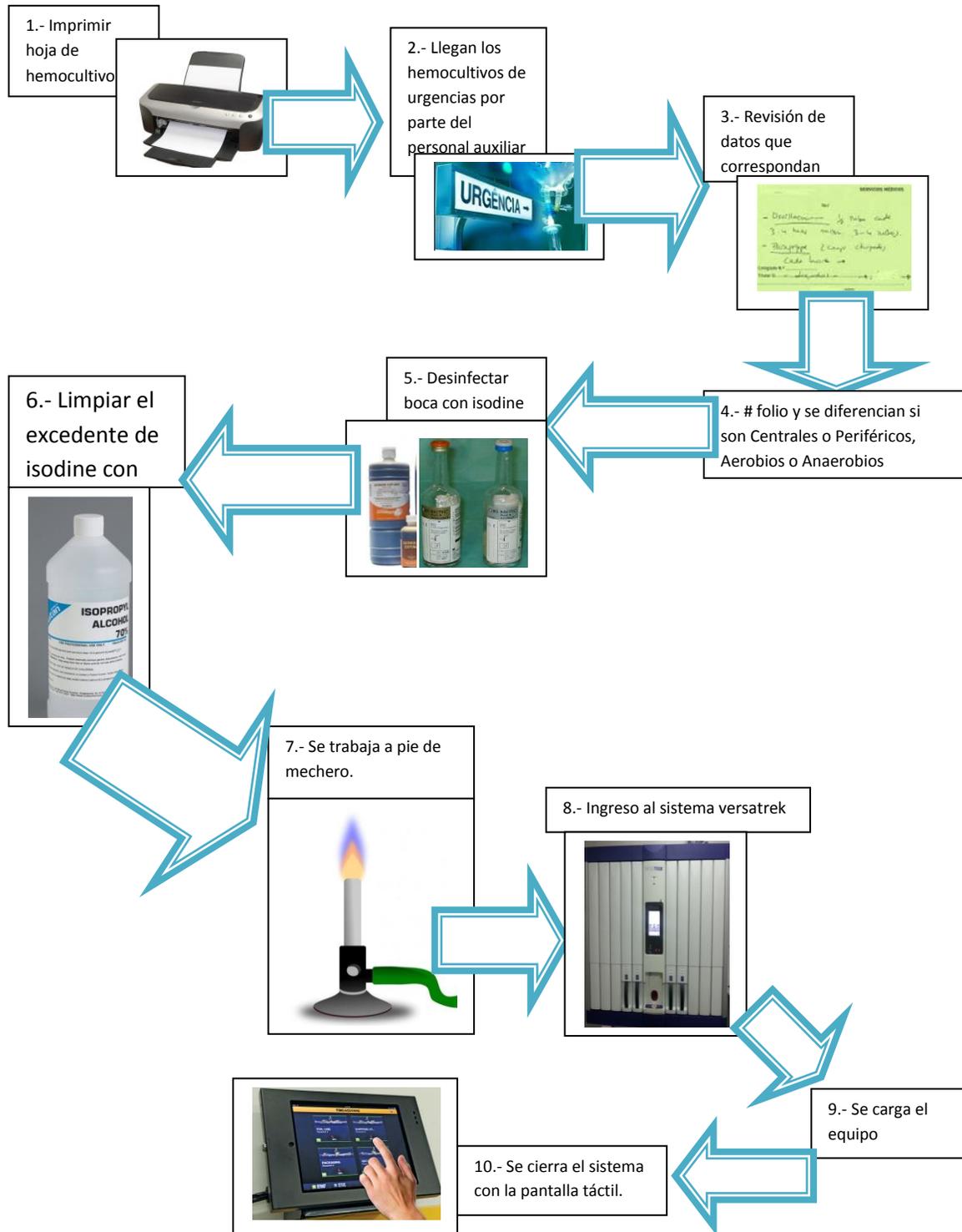
tratamiento de las sepsis nosocomiales porque estos significa que son multirresistentes a dichos tratamientos.

5.- Estos resultados se validan y se dan de alta en el sistema para que el médico los consulte y se le dé el tratamiento respectivo al paciente.



## Diagrama de flujo

### Ingreso de hemocultivos al sistema de incubación versatrek

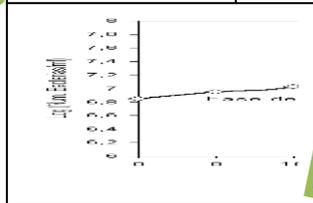




## Tratamiento de hemocultivos negativos (-)

1.- Pasados los 7 días de incubación en VersaTrek

2.- Se valora la gráfica adaptación o latencia



3.- Las muestras (-) se observan con presión constante la presión en milibares no aumenta



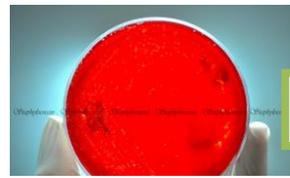
4.- Se retiran las botellas del equipo y se descargan lugares.

6.- Se siembran en agares.



5.- Se anotan los folios de los frascos en la libreta.

7.- Pasado el tiempo de incubación se revisan las caías

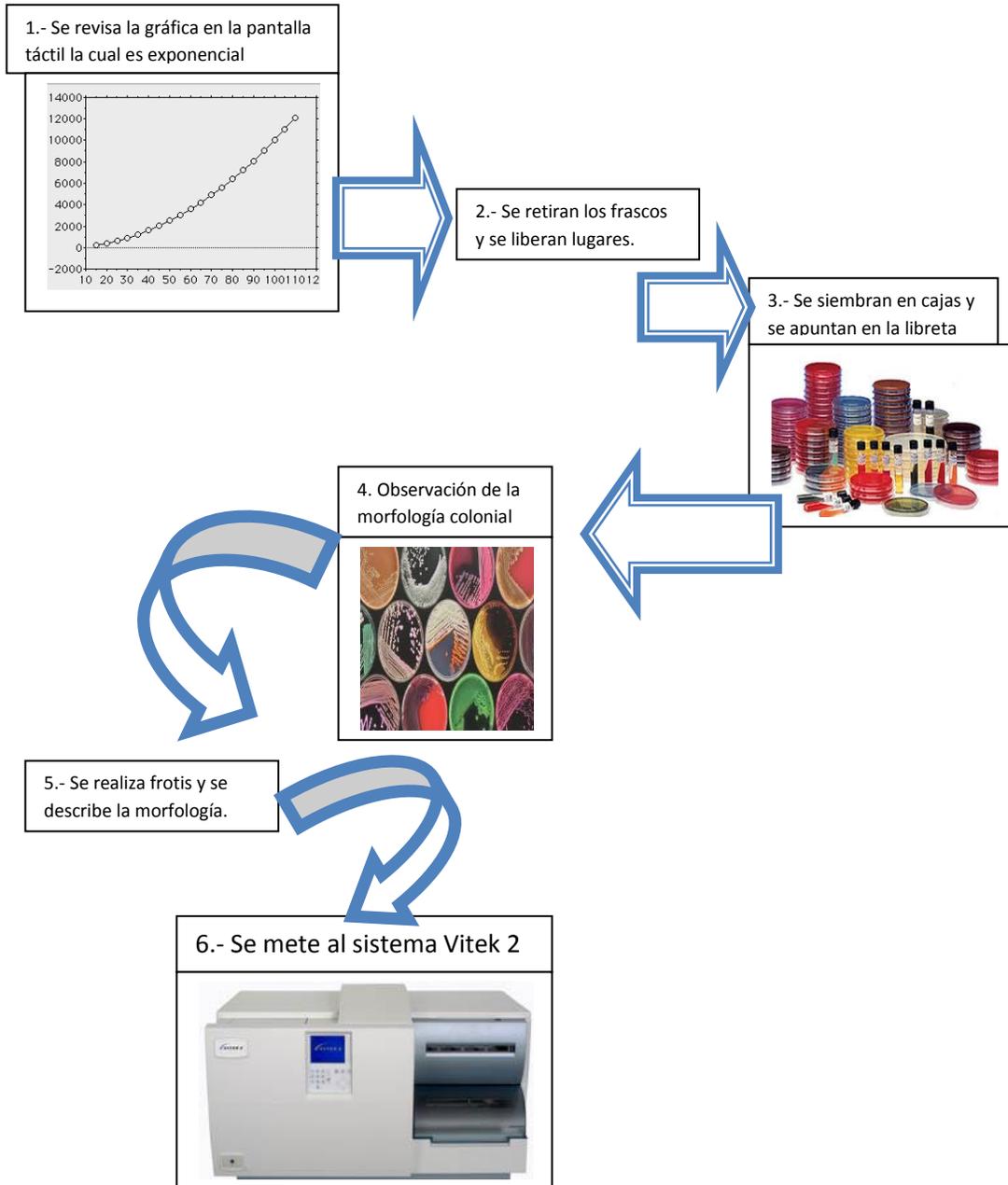


8.- Se eliminan frascos y cajas



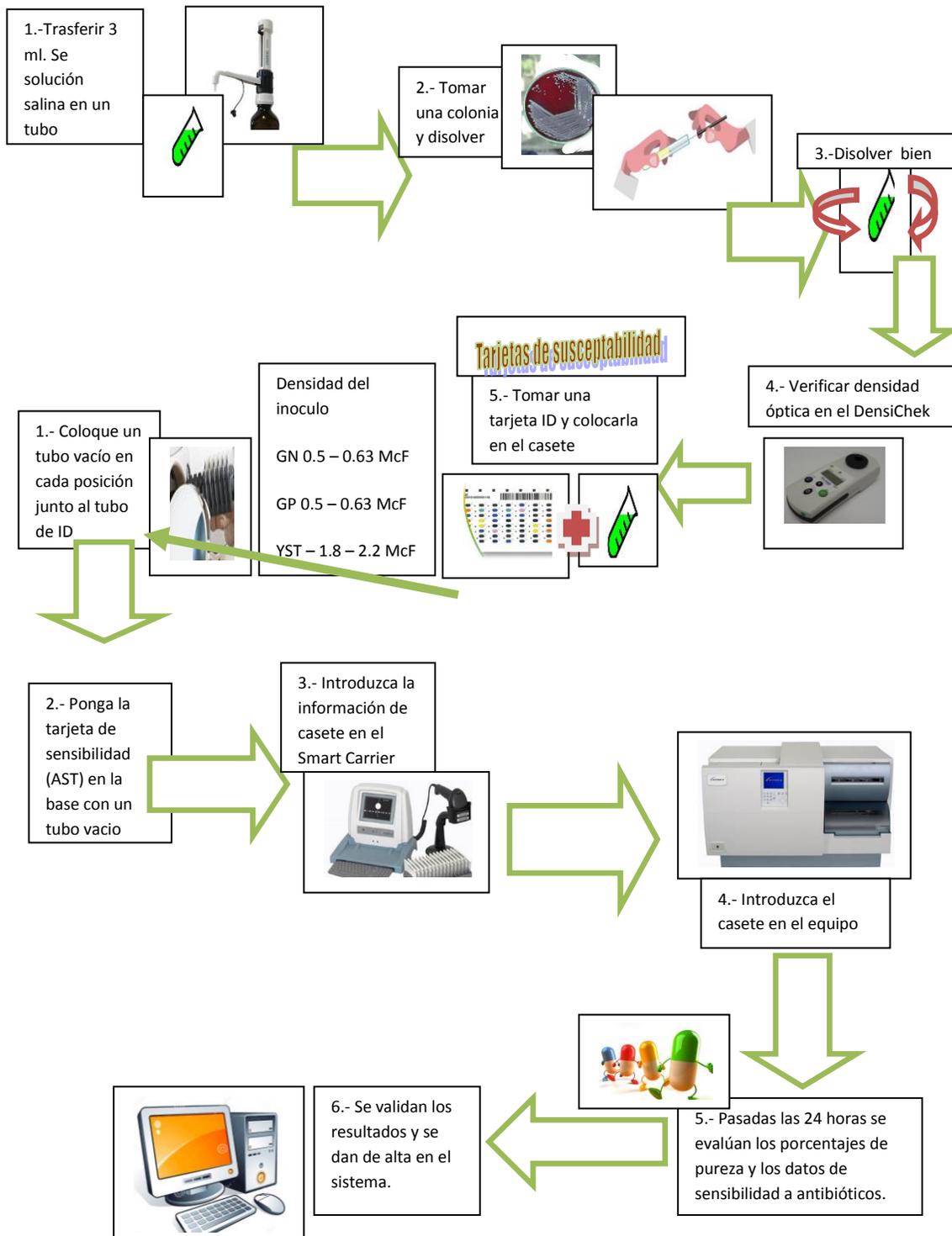


## Tratamiento de hemocultivos positivos (+)





## Preparación de la suspensión





Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo	Escala de medición
<b>Conteo de Granulocitos Inmaduros en valor absoluto</b>	Es la presencia en sangre periférica de metamielocitos, mielocitos y promielocitos, inicialmente aplicado en el diagnóstico de la sepsis neonatal, El aumento de los granulocitos inmaduros en la sangre periférica es de importancia en el diagnóstico de enfermedades hematológicas, especialmente las de origen maligno y en procesos infecciosos.	Es el valor absoluto de granulocitos inmaduros obtenidos por el equipo sysmex 2100 en la muestras de Citometría hemática. En base al expediente clínico.	Cuantitativa	De razón
<b>Edad</b>	El tiempo trascurrido desde el nacimiento de la persona hasta el momento de su hospitalización.	Es el Número de años cumplidos al momento de la aplicación del estudio. Que será obtenida del expediente clínico.	Cuantitativa	De razón
<b>Sexo</b>	Se refiere a la división del género humano en dos grupos: mujer u hombre.	Obteniendo las frecuencias de los pacientes. A partir del expediente clínico.	Cualitativa	Nominal
<b>Servicio de atención médica.</b>	Comprende los servicios de hospitalización de alta especialidad: cirugía, hemodiálisis, gastrocirugía, U.C.I., Medicina Interna, Neurocirugía, nefrología, etc., así como enfermedades que ponen en peligro la vida del paciente.	Se van a contar el total muestras y se va a sacar las frecuencias de cada uno de los servicios. Del expediente clínico.	Cualitativa	Nominal
<b>Bacteria aislada Género y Especie.</b>	Se define como la identificación en hemocultivo de un microorganismo en pacientes hospitalizados o dentro de los primeros tres días posteriores al egreso con manifestaciones clínicas de infección y en quienes no es posible identificar un foco infeccioso como fuente de bacterias al torrente vascular.	Si se obtiene un crecimiento en el sistema versatrek y un aislamiento en los medios selectivos y diferenciales, se realizara la tinción de Gram para establecer el género y después establecer la especie y sensibilidad con las tarjetas del sistema Vitek 2. Y se obtendrá del expediente clínico las frecuencias de las bacterias.	Cualitativa	Nominal

**Tabla 6.-** Definición operacional de variables



---

## Análisis de datos

En el análisis descriptivo se recogió, clasifíco y analizo las características de la población o muestra.

### Programa estadístico

El análisis de los datos se realizó a partir de los resultados obtenidos, sobre el total de la población estudiada. Para ello se creó una base de datos en un hoja de cálculo de Excel y posteriormente se recuperó en el programa estadístico SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versión 22.

Para establecer las asociaciones entre las variables se realizaron tablas de contingencia. Ya que en las ciencias sociales es muy frecuente recurrir a la tabulación cruzada. Las tablas de contingencia resultan, especialmente indicadas, cuando disponemos de variables nominales o cualitativas, suponiendo que una de ellas depende de la otra.

El interés en el análisis de tablas de contingencia reside en resumir la información contenida en la tabla midiendo la asociación entre dos variables que forman la tabla y nunca la relación entre las categorías de las variables. Se obtienen varios números estadísticos que resumen el contenido informativo recogida en cada una de las celdas que se derivan del cruce de las variables. Por último, y una vez determinado el grado de asociación entre las dos variables, nos resta valorar si esta es estadísticamente significativa, o lo que es lo mismo, si la asociación o relación arrojada por el estadístico elegido es atribuible a un error de muestreo, no pudiendo generalizar los resultados obtenidos.

La prueba Chi- cuadrada de Pearson es la prueba más utilizada ya que esta prueba nos permite determinar si el comportamiento de las categorías de una variable presenta diferencias Estadísticamente significativas. Para establecer la diferencia a través de SPSS, se parte de la teoría de que no existe relación entre las variables de las tablas de contingencia (Hipótesis nula); es decir, debemos



asumir que los resultados de las categorías de una variable no se ven afectados o influenciados por las categorías de la segunda variable.

El cálculo de Chi- cuadrada arroja como resultado un valor numérico denominado alfa ( $\alpha$ ), el cual debe ser comparado con el valor teórico de 0.05. Cuando el valor calculado es menor que el 0.05 se rechaza la hipótesis nula, con lo cual podemos concluir que si existe una relación entre las variables; por el contrario si el valor calculado es mayor que 0.05 no se rechaza la hipótesis nula aceptando que no existe ninguna relación entre las variables.

De igual manera se calculó el riesgo relativo para los diferentes grupos de edades, sabiendo que el riesgo relativo: Mide la fuerza de la asociación entre la exposición y la enfermedad. Indica la probabilidad de que se desarrolle la enfermedad en los expuestos a un factor de riesgo en relación al grupo de los no expuestos. Su cálculo se estima dividiendo la incidencia de la enfermedad en los expuestos entre la incidencia de la enfermedad en los no expuestos.

Cuando calculamos el Riesgo Relativo debemos expresar sí dicho riesgo es diferente de 1. Si al construir el 95% intervalo de confianza el intervalo no incluye el valor 1 concluimos que el riesgo es estadísticamente significativo  $p < 0.05$ . Si el 99% intervalo de confianza no incluye el valor 1, el riesgo relativo es significativo  $p < 0.01$ .

Si el riesgo relativo fuese menor de 1 y su intervalo de confianza también, estaríamos ante la presencia de un factor de protección.



## Capítulo 5

### Resultados de la investigación

Se realizó una estadística descriptiva inicial de frecuencias (%) de pacientes por género, encontrando 350 muestras de los cuales el 47% (165) fueron mujeres y el 53% (185) fueron hombres.

En la diferencia de edades entre géneros se obtuvo una edad media global de la población de 49 años  $\pm$  17.5 años con un (rango de 18 años en adelante). La edad media de las mujeres fue de 49.15 años  $\pm$  16.7 años (rango de 18 en adelante). La edad media de los hombres fue de 49.5 años  $\pm$  18.2 años (rango de 18 en adelante).

El total de muestras de hemocultivos positivos y negativos fue de: 90 positivos y 260 negativos en total divididos entre hombres y mujeres.

Respecto al servicio médico con más muestras de hemocultivos se obtuvo en primer lugar el servicio de Medicina Interna, y de manera subsecuente U.C.I., Nefrología, Gastrocirugía, Neurología y Hemodiálisis. Esto era de esperarse ya que el estudio al realizarse en un hospital de tercer nivel, donde se encuentran los pacientes más graves o en fase terminal. Este tipo de servicios de atención medica son los de más alta demanda para los pacientes.

Los servicios con mayor positividad en hemocultivos, fue Medicina Interna con 19 positivos, Gastrocirugía con 15 positivos, Nefrología con 12 positivos, Neurocirugía con 11 positivos, U.C.I. y Hemodiálisis con 11 positivos los dos.

Las bacterias más aisladas fueron: *Staphylococcus epidermidis* con 22 aislamientos, *Staphylococcus aureus* con 13 aislamientos, *Escherichia coli* con 10 aislamientos, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus hominis* todos los 4 anteriores con 6 aislamientos cada uno.

Los promedios más representativos de granulocitos inmaduros en muestras de citometrías hemáticas de pacientes con hemocultivo positivo para las bacterias

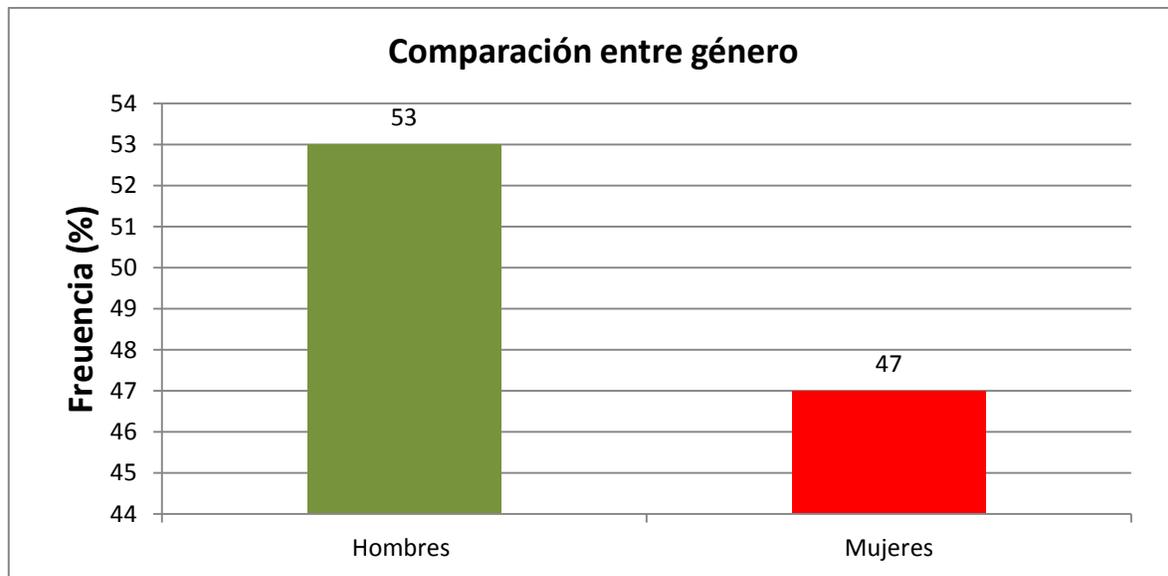


---

más patógenas, obteniendo las 4 primeras bacterias más patógenas, las cuales son: 1.- *Pseudomonas aeruginosa* con un promedio de GI  $0.5 \times 10^3/\mu\text{l}$  2.- *Staphylococcus aureus* con un promedio de  $.180 \times 10^3/\mu\text{l}$ , 3.- *Acinetobacter baumannii* con un promedio de  $.109 \times 10^3/\mu\text{l}$  y 4.- *Staphylococcus homini* con un promedio de  $.0716 \times 10^3/\mu\text{l}$ .

Se encontró una frecuencia de contaminación en los hemocultivos del 11%.

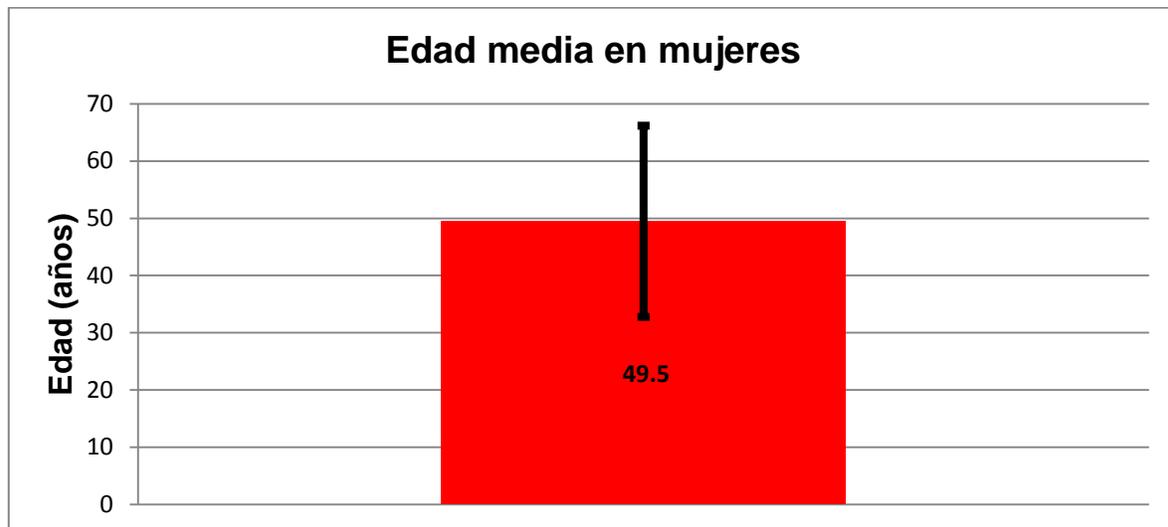
Con el programa SPSS se realizaron las asociaciones de la 1 a la 3ra. CH con respecto a los resultados obtenidos de hemocultivos, también se calculó la Chi-cuadrada de Pearson con un intervalo de confianza al 95% encontrando un valor de P menor a 0.05 lo cual nos indica que existe una asociación entre el aumento de Granulocitos Inmaduros con la positividad en los hemocultivos.



**Grafica 1.-** Comparación por género de frecuencia de sujetos participantes.

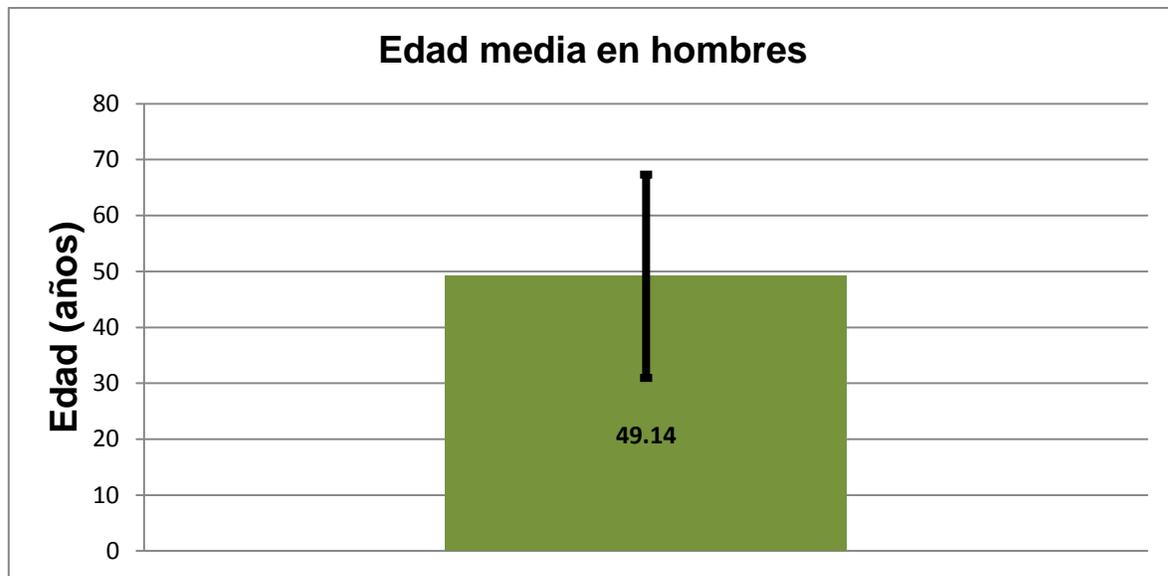
De un total de 350 muestras de los cuales el 47% (165) fueron mujeres y el 53% (185) fueron hombres.

Fuente: Revisión de expedientes de la Unidad Médica de Alta Especialidad Hospital de Especialidades Siglo XXI, en la investigación de "Relación entre hemograma y hemocultivo para descartar infecciones bacterianas en pacientes".



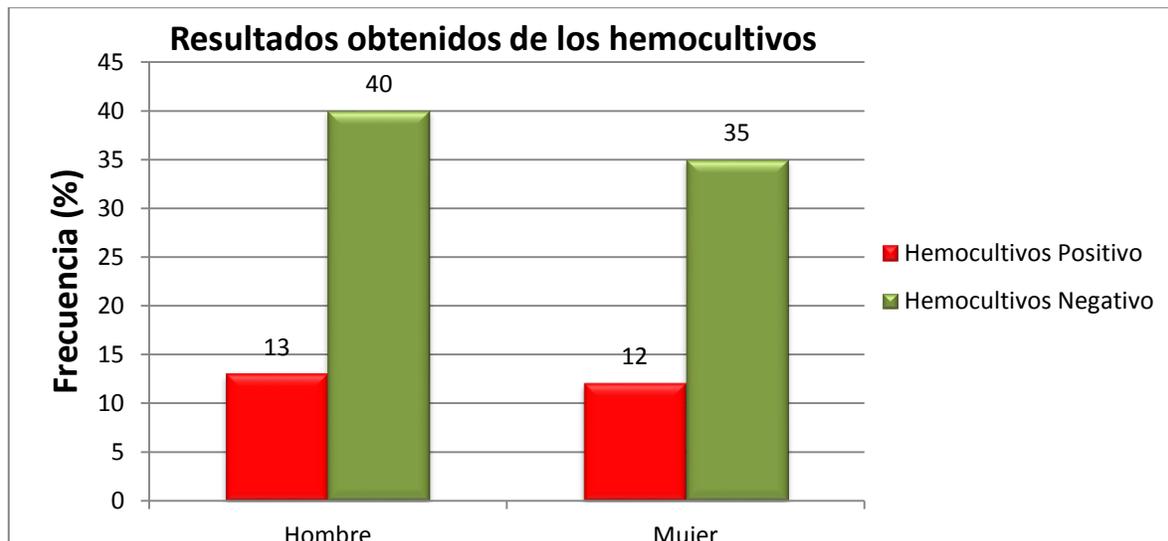
**Grafica 2.-** La edad medio global de la población estudiada fue de 49 años  $\pm$  17.5 años con un (rango de 18 años en adelante). La edad media de las mujeres fue de 49.5 años  $\pm$  16.7 años (rango de 18 en adelante). Obteniendo un total de 165 pacientes para este género.

Fuente: Revisión de expedientes de la Unidad Médica de Alta Especialidad Hospital de Especialidades Siglo XXI, en la investigación de "Relación entre hemograma y hemocultivo para descartar infecciones bacterianas en pacientes".



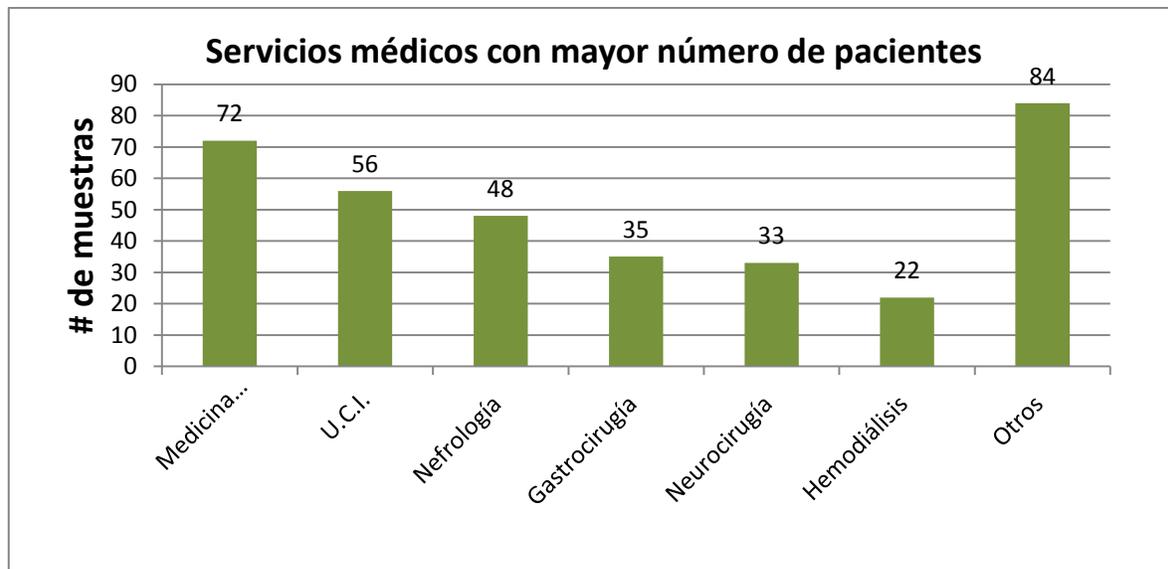
**Grafica 3.-** La edad media de los hombres fue de 49.1 años  $\pm$  18.2 años (rango de 18 en adelante). Obteniendo un total de 185 paciente para este género.

Fuente: Revisión de expedientes de la Unidad Médica de Alta Especialidad Hospital de Especialidades Siglo XXI, en la investigación de “Relación entre hemograma y hemocultivo para descartar infecciones bacterianas en pacientes”.



**Grafica 4.-** Frecuencia de los resultados obtenidos de los hemocultivos divididos por ser positivos y negativos, y por género. Obteniendo 47 hombres positivos que representan el 13% de la población y 139 negativos que representan el 40% de toda la población. Y de las mujeres se obtuvieron 43 positivos que representan 12%, y de los hemocultivos negativos se obtuvieron en total 121 pacientes que representan el 35% del total de la investigación.

Fuente: Revisión de expedientes de la Unidad Médica de Alta Especialidad Hospital de Especialidades Siglo XXI, en la investigación de “Relación entre hemograma y hemocultivo para descartar infecciones bacterianas en pacientes”.



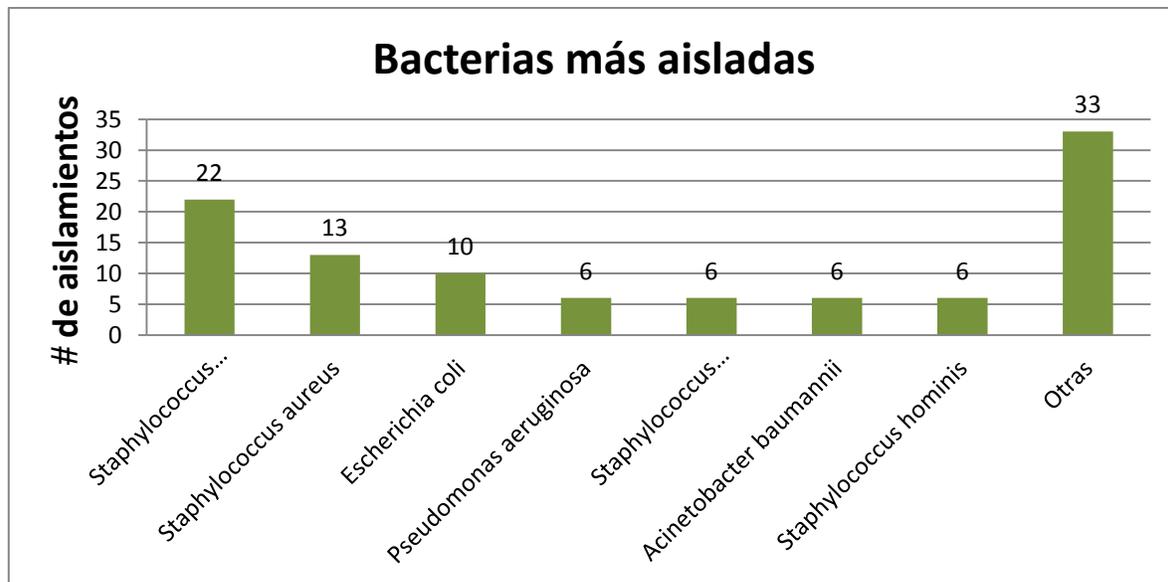
**Grafico 5.-** Servicios de atención médica del hospital con mayor número de pacientes de muestras de hemocultivo. Medicina interna, U.C.I., Nefrología, Gastrocirugía, Neurología, hemodiálisis y otros.

Fuente: Revisión de expedientes de la Unidad Médica de Alta Especialidad Hospital de Especialidades Siglo XXI, en la investigación de "Relación entre hemograma y hemocultivo para descartar infecciones bacterianas en pacientes". n= 350



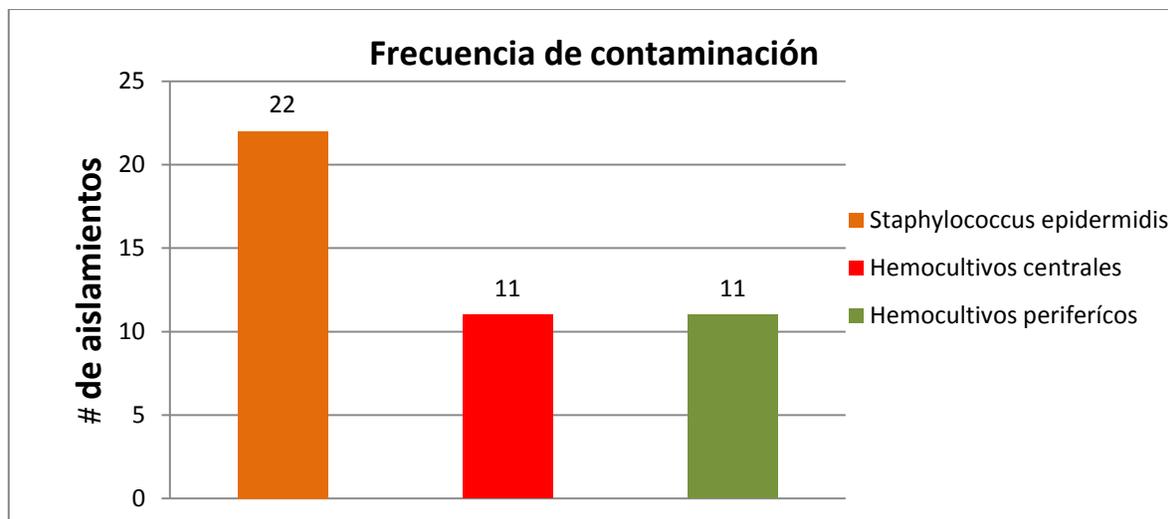
**Grafico 6.-** Servicios de atención médica del hospital con mayor número de pacientes positivos en hemocultivos. Medicina Interna con 19 positivos, Gastrocirugía con 15 positivos, Nefrología con 12 positivos, Neurocirugía con 11 positivos, U.C.I. y Hemodiálisis con 9 positivos los dos.

Fuente: Revisión de expedientes de la Unidad Médica de Alta Especialidad Hospital de Especialidades Siglo XXI, en la investigación de "Relación entre hemograma y hemocultivo para descartar infecciones bacterianas en pacientes". n= 90



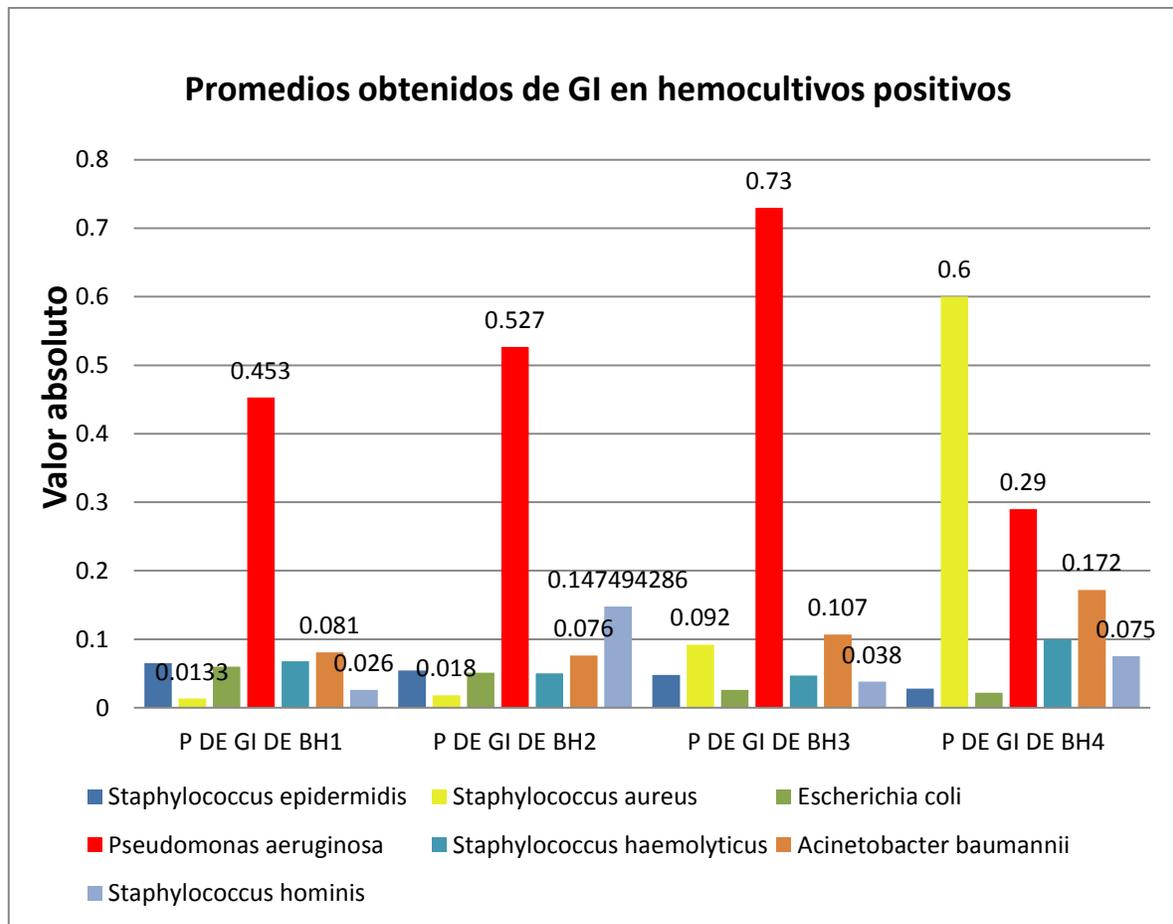
**Grafica 7.-** Las bacterias más aisladas fueron en primer lugar *Staphylococcus epidermidis* con 22 muestras, seguida de *Staphylococcus aureus* con 13 especímenes, *Escherichia coli* con 10, *Pseudomonas aeruginosa* con 6 tipos, *Staphylococcus haemolyticus*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus hominis* con 6 aislamientos respectivamente.

Fuente: Revisión de expedientes de la Unidad Médica de Alta Especialidad Hospital de Especialidades Siglo XXI, en la investigación de "Relación entre hemograma y hemocultivo para descartar infecciones bacterianas en pacientes". n= 102



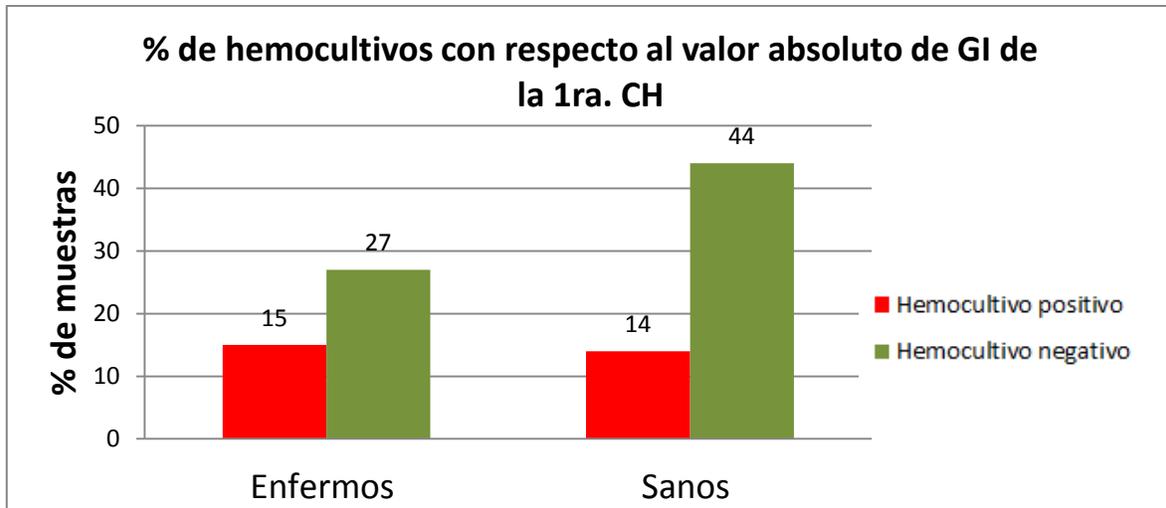
**Grafica 8.-** Número de aislamientos de *Staphylococcus epidermidis* los cuales fueron 22 en total, para este hospital los únicos que se reportan son los hemocultivos centrales, teniendo un 11% de contaminación con respecto al total de las bacterias aisladas las cuales fueron 102, y lo permite es solo del 3% de contaminación, ya que si solo vemos a esta bacteria en particular este porcentaje de contaminación aumenta al 50%.

Fuente: Revisión de expedientes de la Unidad Médica de Alta Especialidad Hospital de Especialidades Siglo XXI, en la investigación de "Relación entre hemograma y hemocultivo para descartar infecciones bacterianas en pacientes".



**Grafica 9.-** Promedios obtenidos de las muestras de CH de GI en los pacientes con hemocultivos positivos obteniendo las 4 primeras bacterias más patógenas, las cuales son: 1.- *Pseudomonas aeruginosa*, 2.- *Staphylococcus aureus*, 3.- *Acinetobacterbaumannii* y 4.- *Staphylococcus hominis*.

Fuente: Revisión de expedientes de la Unidad Médica de Alta Especialidad Hospital de Especialidades Siglo XXI, en la investigación de “Relación entre hemograma y hemocultivo para descartar infecciones bacterianas en pacientes”.

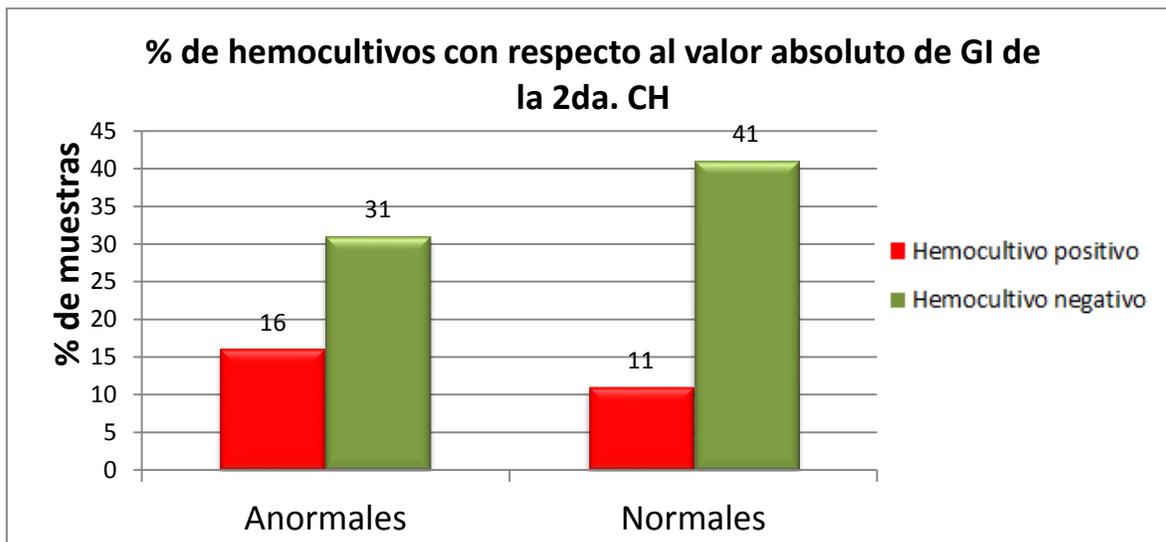


**Grafica 10.-** Frecuencias de hemocultivos positivos y negativos, con respecto al valor absoluto de GI de la 1ra. CH de los pacientes con valores normales (Sanos) y anormales (Enfermos), obteniendo un porcentaje de hemocultivos positivos enfermos del 15% que corresponden a 54 pacientes, y de los hemocultivos negativos del 27% que recaen en 94 pacientes, del total de los pacientes enfermos. Y de los hemocultivos negativos en los pacientes sanos se obtuvieron 154 pacientes que corresponden al 44%, y del 14 % de los hemocultivos positivo que corresponden a 48 personas con GI normales. n=350

Prueba Chi cuadrada. Valor p = 0.009

RM (IC 95%) = 1.8 (1.1 a 2.9)

Fuente: Revisión de expedientes de la Unidad Médica de Alta Especialidad Hospital de Especialidades Siglo XXI, en la investigación de "Relación entre hemograma y hemocultivo para descartar infecciones bacterianas en pacientes".



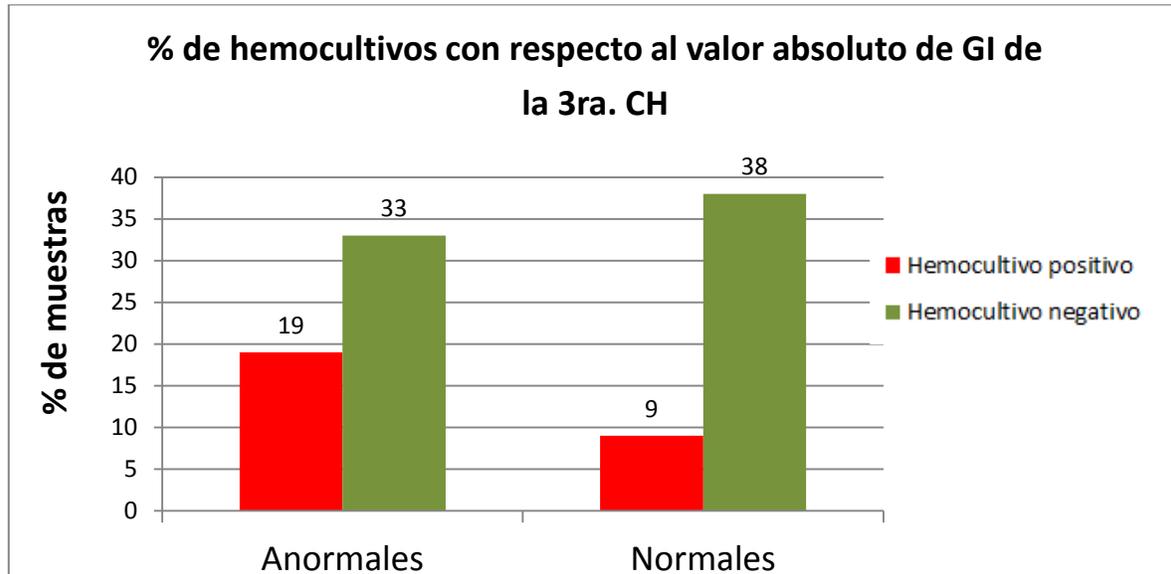
**Grafica 11.-** Frecuencias de hemocultivos positivos y negativos, con respecto al valor absoluto de GI de la 2da. CH de los pacientes con valores normales y anormales, obteniendo una frecuencia de hemocultivos positivos con GI anormales del 16% que corresponden a 47 pacientes, y hemocultivos negativos con GI anormales del 31% que corresponden a 90 muestras. Por otro lado el valor de Granulocitos inmaduros normales de los hemocultivos negativos corresponde al 41% del total de los pacientes que serían 117 personas y de los hemocultivos positivos con granulocitos inmaduros normales corresponden al 11% de la población en estudio que serían 32 individuos. n= 286.



Prueba Chi cuadrada. Valor  $p = 0.015$

RM (IC 95%) = 1.9 (1.1 a 3.2)

Fuente: Revisión de expedientes de la Unidad Médica de Alta Especialidad Hospital de Especialidades Siglo XXI, en la investigación de "Relación entre hemograma y hemocultivo para descartar infecciones bacterianas en pacientes".

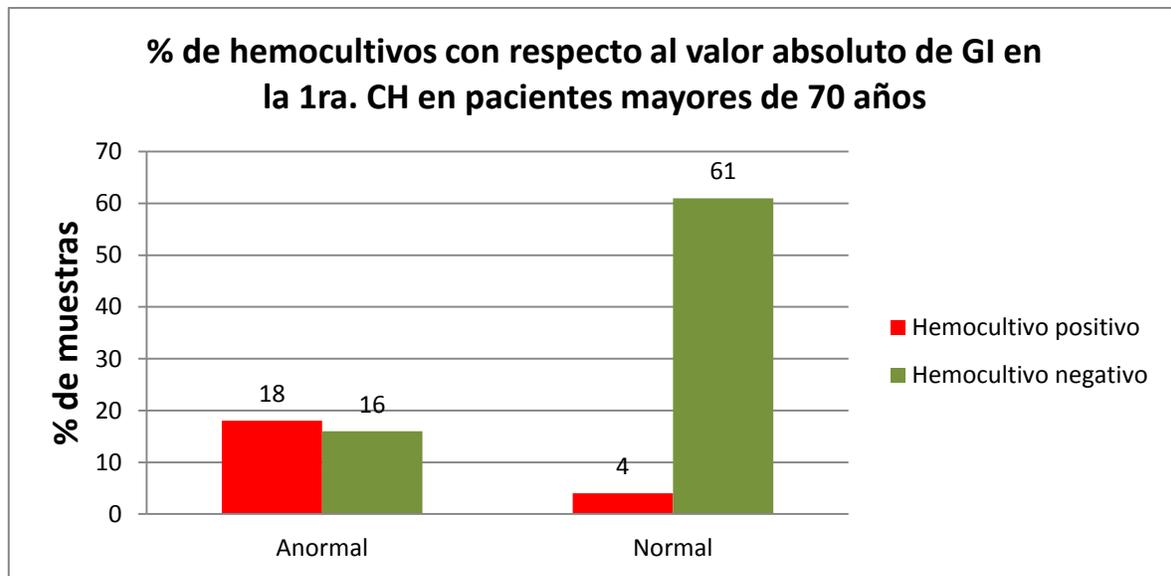


**Grafica 12.-** Frecuencias de los hemocultivos positivos y negativos, con respecto al valor absoluto de GI de la 3ra. CH de los pacientes con valores normales y anormales, obteniendo una frecuencia de hemocultivos positivos con GI anormales del 19% que corresponden a 41 pacientes, y de los pacientes con GI anormales del 33% de hemocultivos negativos que corresponden a 70 muestras, los valores normales de GI para pacientes con hemocultivo positivo fue del 9% que corresponden a 19 pacientes, y de 38% de los hemocultivos fueron negativos que corresponden a 80 muestras.  $n = 210$ .

Prueba Chi cuadrada. Valor  $p = 0.004$

RM (IC 95%) = 1.9 (1.1 a 3.2)

Fuente: Revisión de expedientes de la Unidad Médica de Alta Especialidad Hospital de Especialidades Siglo XXI, en la investigación de "Relación entre hemograma y hemocultivo para descartar infecciones bacterianas en pacientes".

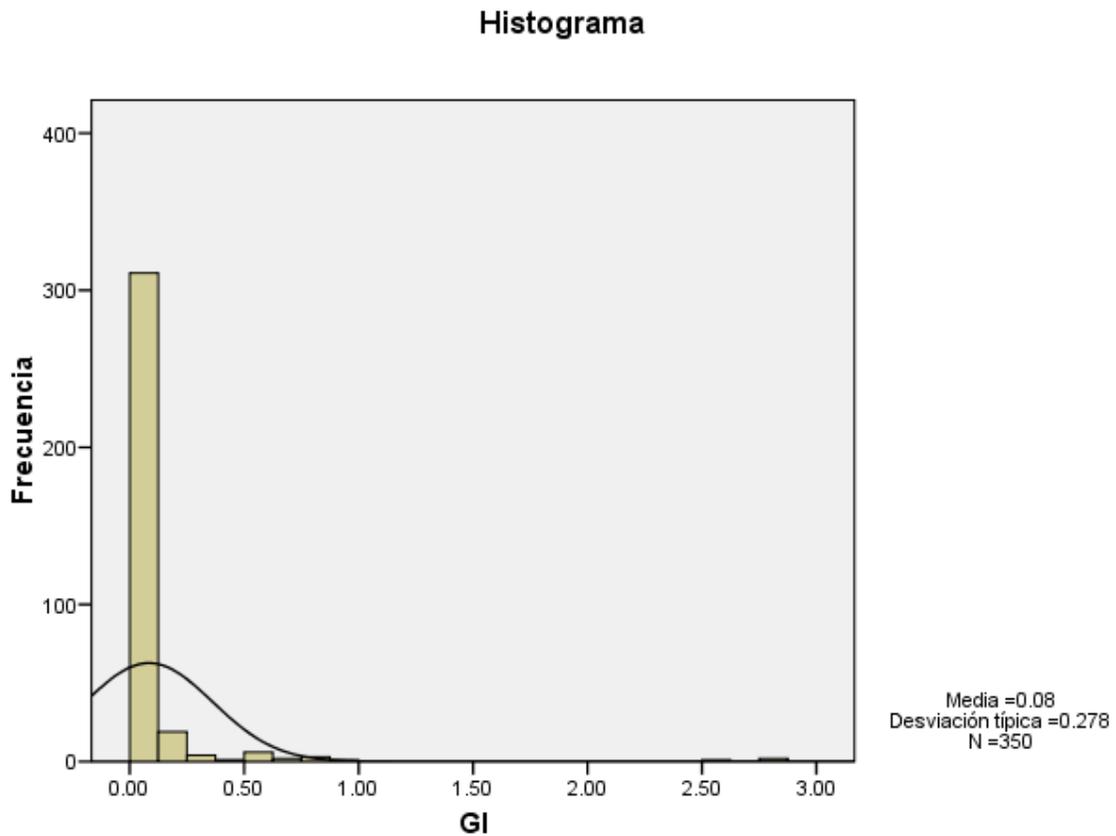


**Grafica 13.-** Frecuencias de hemocultivos positivos y negativos, con respecto al valor absoluto de GI de la 1ra. CH de los pacientes con valores normales y anormales, para los pacientes mayores de 70 años, obteniendo una frecuencia de hemocultivos positivos con GI anormales del 18% que corresponden a 9 pacientes, y de los pacientes con GI anormales del 16% de hemocultivos negativos que corresponden a 8 muestras, los valores normales de GI para pacientes con hemocultivo positivo fue del 4% que corresponden a 2 pacientes, y de 61% de los hemocultivos fueron negativos que corresponden a 30 muestras. n= 49

Prueba Chi cuadrada. Valor p = 0.0001

RM (IC 95%) = 16.9 (3.0 a 94.2)

Fuente: Revisión de expedientes de la Unidad Médica de Alta Especialidad Hospital de Especialidades Siglo XXI, en la investigación de “Relación entre hemograma y hemocultivo para descartar infecciones bacterianas en pacientes”.



**Grafica 14.-** Histograma de los resultados obtenidos de los valores absolutos de GI.

Fuente: Revisión de expedientes de la Unidad Médica de Alta Especialidad Hospital de Especialidades Siglo XXI, en la investigación de "Relación entre hemograma y hemocultivo para descartar infecciones bacterianas en pacientes".



## Capítulo 6

### Discusión de resultados

En el presente capítulo se encontraron muchas coincidencias con diferentes autores, en primera se coincide con (Del Favero et al. 65) el cual menciona que la mayoría de las UCI van a predominar los pacientes varones en comparación con las mujeres, con respecto a la frecuencia de aislamientos se obtuvo más alta que la reportada por (Blanco et al. 68) la cual obtuvo de 9%, pero se obtuvo menor frecuencia de aislamientos en comparación con la encontrada por (Sánchez et al. 70) que fue del 14% y nosotros obtuvimos una frecuencia del 13% de aislamientos, respecto a los servicios con mayor número de muestras se coincide con el autor Blanco el cual reporta que los servicios de mayor demanda son los medicina interna, de igual forma no se coincide con el autor Del Favero y Sánchez respecto a las bacterias más aisladas ya que ellos dos encontraron a *Escherichia coli*, Blanco encontró a las bacterias gram negativas, coincidiendo parcialmente con (Hurtado et al. 72) que el encontró en primer lugar de aislamientos a *Staphylococcus aureus*, lo que cabe mencionar de dicha investigación es que se tiene un alto índice de contaminación por parte las muestras de hemocultivos el cual tiene una frecuencia del 11%. La bacteria que presentó el promedio más alto de granulocitos inmaduros fue *Pseudomonas aeruginosa*, se coincide con el autor (Parks et al. 81) respecto al valor diagnóstico de los granulocitos inmaduros para la detección de pacientes con sepsis, al igual que con el autor (Van der et al. 83) que refiere el uso de los granulocitos inmaduros es un marcador útil para predecir infección al igual que lo comento (Guerin et al. 85), estos tres autores describen la importancia que tienen los granulocitos inmaduros para predecir infecciones, pero no muestran el valor absoluto de los mismos y así demostrar si es que existiera la asociación de variables. Recordando que en esta investigación se realizó un análisis bivariado esto es que la influencia de una variable independiente modifica a la otra variable dependiente. Y finalmente para evaluar la posibilidad de que los resultados no son producto del azar, la estadística clásica aporta una serie de métodos y pruebas que permiten pronunciarse al respecto, esto es el caso de la



prueba chi cuadrada en la cual debemos de obtener un valor de P menor a 0.05 con un nivel de confianza del 95%, estos valores de P se obtuvieron en las tres primeras muestras de citometría hemática coincidiendo con el autor (Guerin et al. 85). Y con respecto al análisis que se hizo por grupos de edades para establecer que grupos son más susceptibles de presentar un riesgo relativo el grupo que tiene mayor posibilidad de presentar un riesgo es de los 70 años y más, el cual tiene 16 veces más posibilidades de tener un proceso infeccioso si es que se encuentran elevados sus granulocitos inmaduros en sus citometrías hemáticas.

### Sobre las características de los pacientes

La distribución por sexos de los pacientes incluidos en la muestra se sitúa en valores que son habituales para los hospitales de tercer nivel (grafica 1).

Encontramos que el 53% fueron varones y el 47% mujeres. En todas las UCI es un hecho constante el predominio de pacientes varones. Coincidiendo con Del Favero et al. 65) el cual encontró un porcentaje más alto de hombres en los diferentes servicios con un 70% y 30% de mujeres.

En este sentido, la investigación “Relación entre hemograma y hemocultivo para descartar infecciones bacterianas en pacientes” donde participaron 350 pacientes de la Unidad Médica de Alta Especialidad Hospital de Especialidades Siglo XXI, se contó con 165 mujeres y 185 hombres.

La edad media de 49 años  $\pm$  17.5 años con un (rango de 18 años en adelante). El promedio de edad de las mujeres fue de 49.5 años (grafica 2)  $\pm$  16.7 años (rango de 18 en adelante). La edad media de los hombres fue de 49.14 años (grafica 3)  $\pm$  18.2 años (rango de 18 en adelante). Lo cual no coincide con la investigación realizada por (Del Favero et al. 65) en la cual se encontró un promedio de edad de 41 años, este investigador solo trabajo con edades de pacientes de 19 años y hasta los 68 años. En nuestro estudio no encontramos diferencia significativa en las edades después de los 68 años que influyera en la eliminación de estos pacientes ya que se encontró que después de los 70 años en adelante, también tienen significancia estadística y se comportan igual el valor absoluto de GI e



inclusive se observa que el riesgo relativo aumenta 16 veces más de presentar infección. Por lo cual no se pueden eliminar a los pacientes mayores de 70 años en adelante.

Frecuencia de los resultados obtenidos de los hemocultivos divididos por ser positivos y negativos, y por género. Obteniendo 47 hombres positivos que representan el 13% de la población y 139 negativos que representan el 40% de toda la población. Y de las mujeres se obtuvieron 43 positivos que representan 12%, y de los pacientes negativos se obtuvieron en total 121 pacientes que representan el 35% del total de la investigación (grafica 4).

Los 90 hemocultivos positivos corresponden al 13% del total de los 700 hemocultivos. Lo cual está por arriba de los valores normales de aislamiento que son de 9% reportado por (Blanco et al. 68) y por debajo de la reportado por (Sánchez et al. 70) en un hospital en Chiapas el cual encontró de 14% de aislamiento en los hemocultivos, y de igual forma muy por debajo de los estándares aplicados en Sevilla España que van desde 2 al 20% descubierta por Cisneros Herreros. Esta diferencia se podría explicar de que el paciente realmente está enfermo y que los criterios para la realización de hemocultivos es más restrictiva en nuestro hospital pero de igual forma comparándonos con otros países estamos por debajo del promedio ideal de aislamientos que es del 20%, esto es debido a él uso previo de antibióticos en los pacientes lo cual genera un índice menor de la recuperación de microorganismos infecciosos, está documentado que las condiciones adecuadas para que se tome un hemocultivo es antes de iniciar el tratamiento con antibióticos o suspender todo tipo de este siempre que ello sea posible durante 24 – 48 horas previas a la toma. También los medios de cultivo contienen SPS que es un anticoagulante polianiónico que inhibe la actividad bactericida del suero y la fagocitosis, inactiva el complemento y neutraliza a la lisozima y los antibióticos aminoglucósidos.

Con respecto a los Servicios de atención médica del hospital el mayor número de muestras de hemocultivo fueron: Medicina Interna con 72 pares de hemocultivos, U.C.I. con 56, Nefrología con 48, Gastrocirugía con 35, Neurología con 33,



hemodiálisis con 22 pares respectivamente (grafica 5). Esto era de esperarse ya que al realizar esta investigación en un hospital de tercer nivel en donde están los pacientes más graves y se ven las patologías más delicadas coincido con (Blanco et al. 68) que debido al tipo de pacientes que se internan en el hospital, con amplios y variados tratamientos antibióticos e internaciones previas. Es en este tipo de servicios en donde existe mayor aislamiento bacteriano. Coincidiendo los mismos los cuales presentaron mayor número de pacientes positivos quedando en primer lugar Medicina Interna con 19 positivos, Gastrocirugía con 15 positivos, Nefrología con 12 positivos, Neurocirugía con 11 positivos, U.C.I. y Hemodiálisis con 11 positivos los dos (grafica 6).

Con respecto a las bacterias más aisladas se obtuvo a *Staphylococcus epidermidis* con 22 aislamientos, *Staphylococcus aureus* con 13 aislamientos, *Escherichia coli* con 10 aislamientos, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus hominis* todos los 4 anteriores con 6 aislamientos cada uno (grafica 7). Los cuales no coinciden con los reportados por (Del Favero et al. 65), (Sánchez et al. 70), los cuales reportan que la bacteria más aislada fue *Escherichia coli*, ni con (Blanco et al. 68) los cuales coinciden en que la mayoría de aislamientos fueron de bacterias Gram negativas. Esto es debido a que *Escherichia coli* es el agente etiológico más frecuente en infecciones del tracto urinario, además de ocasionar infecciones intestinales y otras como neumonías nosocomiales, colecistitis, peritonitis, osteomielitis, artritis infecciosa, e incluso otitis externa, siendo también una de las causas más frecuente de bacteriemia. Los principales vectores de la infección son las manos entre personas de contacto estrecho, sobre todo las de los profesionales sanitarios, y como elementos implicados: termómetros, geles empleados en ecografías, sondas de oxigenoterapia o jabón líquido. Lo cual nos indica que el control de calidad en dichas instituciones no es el adecuado.

El aislamiento de cepas *Escherichia coli* con betalactamasas de espectro extendido (BLEE) tanto en la comunidad como en el hospital se ha convertido en



un problema creciente. Esto es debido a que la presencia de microorganismos multirresistentes es cada vez más frecuente.

Las betalactamasas de espectro extendido (BLEE), también llamadas betalactamasas de espectro ampliado (BLEA), son enzimas producidas por bacilos gran negativos fundamentalmente enterobacterias, con más frecuencia por *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*. Son capaces de inactivar además a las penicilinas y a las cefalosporinas de primera y segunda generación, a las oximino-cefalosporinas y al aztreonam.

Coincidiendo parcialmente con (Hurtado et al. 72) ya que el encuentra en primer lugar de aislamientos a *Staphylococcus aureus* en niños y para la investigación fue la segunda bacteria más aislada. Este documento que las infecciones del tracto respiratorio inferior constituyen una causa importante de morbi-mortalidad en la población pediátrica.

Con respecto a *Staphylococcus epidermidis* esta se aisló en primer lugar pero es algo que se explicará más adelante, cuando se analicen el porcentaje de contaminación obtenido de los hemocultivos.

El número de aislamientos de *Staphylococcus epidermidis* fue de 22 en total, teniendo 11 muestras que son de hemocultivos centrales y 11 muestras de hemocultivos periféricos (gráfica 8), en dicha Unidad Médica de Alta Especialidad Hospital de Especialidades Siglo XXI, no se reportan los hemocultivos periféricos con el crecimiento de *Staphylococcus epidermidis* esto con el fin de no tener evidencia de sus altísimos índices de contaminación en el momento de la toma de muestra, la cual la realizan los médicos tratantes en los pisos respectivos, si consideramos que los estándares de calidad marcan que no debe de exceder del 3% de contaminación con una técnica adecuada. En nuestro estudio tuvimos el 11% de contaminación con flora saprofita de la piel teniendo en cuenta que se aislaron 102 bacterias en total. Tenemos casi 4 veces más contaminación de lo permitido por consiguiente coincido con (Wedble et al. 78) el cual implementó una intervención para disminuir el porcentaje de contaminación inicial el cual fue de



6.7% y después de su intervención disminuyó al 2.3%. Este fenómeno lo asocio a solo dos factores los cuales pueden ser: 1.- Falta de conocimiento de la técnica en el momento de la fase pre analítica o 2.- A negligencia médica.

Y si analizamos solo el porcentaje de esta bacteria tendríamos el 50% de contaminación lo cual sería una cifra sin precedentes.

Continuando con los resultados obtenidos de los promedios más representativos en muestras de CH del valor absoluto de GI encontramos que la bacteria 1.- *Pseudomonas aeruginosa*, 2.- *Staphylococcus aureus*, 3.- *Acinetobacter baumannii* y 4.- *Staphylococcus hominis* (gráfica 9). Coincidió con (García et al. 69) el cual encontró que el índice de granulocitos inmaduros es la presencia en sangre periférica de metamielocitos, mielocitos y promielocitos. Se usó inicialmente en el diagnóstico de la sepsis neonatal. El índice de granulocitos inmaduros, sin ser equivalente al recuento de bandas es un indicador de infección o de estímulo de los granulocitos a nivel de la médula ósea, sobre todo en casos de sepsis en donde el diagnóstico oportuno es de vital importancia.

También se coincide con (Parks et al. 81 - 82), el cual concluye que los pacientes con sepsis mostraron cambios significativos en los valores de rutina y datos de población de células (CPD) relacionados con el conteo de glóbulos rojos (RBC), neutrófilos, linfocitos y plaquetas, lo que puede indicar la inmadurez de neutrófilos o la activación, podría ser útil para la detección de pacientes con sepsis, en conjunción con los biomarcadores de sepsis utilizados en la actualidad.

De igual forma (Van der et al. 83), concluye que el porcentaje de granulocitos inmaduros es un marcador útil, como la PCR, para predecir la infección, su capacidad de invasión, y la gravedad, en los pacientes críticos. Y el autor (Guerin et al. 85). Menciona que los granulocitos inmaduros circulantes predijeron deterioro sepsis temprana y fueron enriquecidos en células supresoras de origen mieloide, que podría ser responsable de la inmunosupresión a través de la inducción de la linfopenia de células T.



Todos estos cuatro autores realizaron excelentes aportaciones de la importancia que tienen los granulocitos inmaduros en predecir infecciones, pero no muestran un promedio del valor absoluto de los GI encontrados en los pacientes con infección. Quiero pensar que no realizaron una asociación de positividad de la elevación de granulocitos inmaduros con respecto al resultado de hemocultivos, lo cual en esta investigación si se realizó y se encontró a *Pseudomonas aeruginosa* con un promedio de las 4 primeras citometrías hemáticas de  $0.5 \times 10^3 \mu\text{L}$  en valor absoluto, para *Staphylococcus aureus* un promedio de  $.18 \times 10^3 \mu\text{L}$ , de igual manera *Acinetobacter baumannii* obteniendo un valor absoluto de  $.109 \times 10^3 \mu\text{L}$ , y para *Staphylococcus hominis*  $.075 \times 10^3 \mu\text{L}$ .

Esto coincide con la literatura por desgracia *Pseudomona aeruginosa*, tiene unas sencillas necesidades de crecimiento y la versatilidad nutricional hacen posible su amplia distribución y crecen en muchos lugares, se hallan también en el ambiente hospitalario, en ambientes húmedos, como la comida, las flores de los jarrones, los lavabos, los baños, las fregaderos, los respiradores y los equipos de diálisis, e incluso las soluciones desinfectantes. Es infrecuente que forme parte de forma persistente de la flora microbiana normal del ser humano, excepto en los pacientes hospitalizados y en los pacientes ambulatorios inmunodeprimidos.

Los factores de patogenicidad asociados

Adhesinas

La adherencia de *Pseudomona aeruginosa* a las células del organismo anfitrión está mediada por los pili y por adhesinas de estructura diferente a la de estos. Los pili desempeñan una importante función en la unión a las células epiteliales, y tienen una estructura semejante a la de los pili característicos de *Neisseria gonorrhoeae*. *Pseudomonas aeruginosa* produce también neuraminidasa, que elimina los residuos de ácido siálico del receptor de los pili, aumentando así la adherencia de las bacterias a las células epiteliales.



### Capsula de polisacáridos

*Pseudomona aeruginosa* sintetiza una cápsula de polisacáridos (conocida también como exopolisacárido mucoide, cubierta de alginato o glucocálix) dotada de diversas funciones. La capa polisacárida ancla las bacterias a las células epiteliales y a la mucina traqueo bronquial. La cápsula protege también al microorganismo frente a la fagocitosis y la actividad de antibióticos como los aminoglucósidos. La producción de este polisacárido mucoide está sometida a una compleja regulación. Los genes que controlan la producción del polisacárido alginato pueden estar activados en algunos pacientes, como los aquejados de fibrosis quística u otras enfermedades respiratorias crónicas, los cuales están predispuestos a la colonización a largo plazo por cepas mucoides de *Pseudomona aeruginosa*. Las cepas mucoides pueden transformarse en un fenotipo no mucoide cuando se cultivan en condiciones in vitro.

De igual forma esta descrito en la literatura que la Cápsula y el Exopolisacárido mucoide; suprime la actividad de los neutrófilos y de los linfocitos. Y es por esta acción que tienen que emigrar los granulocitos inmaduros desde la medula ósea hasta la sangre periférica para para combatir el proceso infeccioso. Y es por eso que existe un valor muy alto de los granulocitos inmaduros en sangre periférica.

Con respecto al mecanismo de acción de los *Staphylococcus* estos produce un gran número de factores de virulencia, entre los que figuran cinco toxinas citolíticas (que dañan la membrana) (alfa, beta, delta, gamma y leucocidina de Pantón-Valentine [P-V]), dos toxinas exfoliativas (A y B), ocho enterotoxinas (A a E, G a I) y la toxina-1 del síndrome del shock tóxico (TSST-1). Las toxinas citolíticas se han descrito también como hemolisinas, aunque no constituye un nombre adecuado debido a que las actividades de las cuatro primeras toxinas no se restringen únicamente a los hematíes y la leucocidina P-V es incapaz de lisar estas células. Las citotoxinas pueden provocar la lisis de los neutrófilos, lo que da lugar a la liberación de las enzimas lisosomales que posteriormente dañan los tejidos circundantes. Y es por este mecanismo de acción que se pueden aumentar



los granulocitos inmaduros en sangre periférica en los pacientes con este tipo de infecciones.

La parte medular de esta investigación fue asociar el aumento de GI en pacientes con infección demostrada por hemocultivo teniendo que realizar para ellos tablas 2 X 2 en las cuales se analiza la distribución de una variable con relación a otra u otras es una tarea corriente en Salud Pública, vinculada, la mayoría de las veces, a la búsqueda de un patrón que indique la relación, (o la falta de ella) entre las variables estudiadas. Este es un proceso clave en la identificación de las posibles causas de los problemas de salud, y también de factores que, aun cuando no puedan ser finalmente considerados causales, resulten estar asociados a estos daños y constituyan importantes elementos prácticos para la identificación de grupos con mayores riesgos de padecer determinado daño.

Y este análisis es bivariado ya que el estudio de la influencia de una variable (variable independiente) sobre la forma en que se modifica otra (variable dependiente). Las tablas de contingencia son una herramienta fundamental para este tipo de análisis. Están compuestas por filas (horizontales), para la información de una variable y columnas (verticales) para la información de otra variable. Estas filas y columnas delimitan celdas donde se vuelcan las frecuencias de cada combinación de las variables analizadas. En su expresión más elemental, las tablas tienen solo 2 filas y 2 columnas (tablas de 2x2).

Sin embargo, el análisis de la relación entre las variables estudiadas es más directo cuando se computan medidas de asociación. Estas medidas, basadas en la comparación entre las frecuencias del daño en diferentes grupos, pueden realizarse a través de razones (razón de prevalencias, riesgo relativo, odds ratio) o de sus diferencias (riesgo atribuible y fracción atribuible). Finalmente, para evaluar la posibilidad de que los resultados observados sean solo producto del azar, la estadística clásica aporta una serie de métodos y pruebas que permiten pronunciarse al respecto. Dichas pruebas computan la probabilidad de haber



obtenido los datos empíricamente observados, calculadas bajo el supuesto de que la hipótesis de nulidad es correcta (la cual se denota como “p”). En general, la mayoría de los investigadores trabajan con un nivel de significación del 5% (equivalentemente, con un nivel de confianza del 95%), por lo que aceptan que existe asociación entre las variables estudiadas cuando el valor de p es menor que 0,05.

Estas asociaciones se pudieron establecer con un valor de P menor a 0.05, lo cual indica que existe una fuerte asociación entre el valor absoluto de GI con una infección comprobada por hemocultivos. De igual forma se coincide con (Axel et al. 74) el cual hace mención que los granulocitos inmaduros en los pacientes de U.C.I. aumentan durante las primeras 48 horas de la infección y que son un buen marcador para discriminar pacientes infectados y no infectados pero no reporta cual el valor obtenido de granulocitos inmaduros en estos casos. Lo mismo pasa con el autor (Guerin et al. 85).

Solo se pudo obtener en esta investigación un valor de P menor 0.05 en las tres primeras citometrías hemáticas esto en debido a que las bacterias más patológicas se aíslan en muestras de hemocultivo durante las primeras 24 a 48 horas estableciendo género y especie e iniciando tratamiento a un corto plazo lo cual disminuye el porcentaje de granulocitos inmaduros en sangre periférica (grafica 10 - 12). Y es por eso que no existe asociación de la 4ta. A la 9na. Citometría hemática, y de igual manera se fueron perdiendo de pacientes ya que no se les practica muestras de citometría hemática y el número total de pacientes en la 5ta. A la 9na CH no era representativo.

También se realizaron diferentes agrupaciones por edades los cuales fueron de 18 a 30 años, 31 a 40, 41 a 50, 51 a 60, 61 a 69 y de 70 en adelante para establecer una estimación de riesgo si el hecho de tener granulocitos inmaduros elevados podrían presentar dichos pacientes un proceso infeccioso, encontrando que los pacientes más vulnerables son los de 70 años en adelante ya que presentan 16



---

veces más posibilidades de presentar un proceso infeccioso si es que en su citometría hemática tienen valores altos de granulocitos inmaduros (grafica 13).



---

## Capítulo 7

### Conclusiones

Se determinó el valor absoluto de los granulocitos inmaduros para los pacientes sanos que fue de  $0.00 \times 10^3/\mu\text{L}$  –  $0.025 \times 10^3/\mu\text{L}$ . Contemplando dos desviaciones estándar con el grupo control.

De igual forma se comprobó la asociación de valores absolutos de Granulocitos Inmaduros, los cuales oscilan en valores de  $0.08 \times 10^3/\mu\text{L}$  -  $2.5 \times 10^3/\mu\text{L}$  para los pacientes con un proceso infeccioso en el cual se logró el aislamiento de dicho microorganismo hasta establecer el género y la especie a tratar, siendo *Pseudomona aeruginosa* la bacteria más patológica lo cual se ve favorecida por sus propiedades ya descritas.

Se estableció un rango de granulocitos inmaduros en valor absoluto en la muestras de citometría hemática para las 7 bacterias más patológicas del hospital, el cual fue de  $.08 \times 10^3/\mu\text{L}$  -  $.20 \times 10^3/\mu\text{L}$  con una media de  $.14 \times 10^3/\mu\text{L}$  en la presente investigación. Esto se realizó para tener un criterio más en la toma de decisiones por parte del personal médico al momento de tomar una muestra de hemocultivo.

El rango anterior nos sirve de mucho ya que la citometría hemática es un estudio de rutina el cual no se está aprovechando al máximo, esto es debido a que el personal del laboratorio clínico no lo toma en cuenta en el momento de que se trabaja la muestra y al no tener un criterio de cohorte de granulocitos inmaduros estos pasan desapercibidos por parte del médico y del químico clínico.

Es muy frecuente que los médicos de dicho hospital únicamente están realizando laboratorio y por consiguiente están dejando la clínica en segundo plano.

No se pudo establecer el tiempo en el cual ocurrió la positividad de los hemocultivos, ya que el servicio trabaja los 365 días de año con sus respectivas 8 horas en el turno de la mañana, dejando descubierto la tarde y la noche, los cuales son resguardados en el área de urgencias hasta que inicie el turno



matutino del área de bacteriología, y al no tener una bitácora donde se indique la hora en que el hemocultivo fue tomado y llevado al área correspondiente de urgencias o de bacteriología, no se puede determinar el tiempo en horas para cada bacteria a partir de su toma, pero si se observó que las bacterias más patológicas crecieron después de 24 a 72 horas posteriormente de ser ingresadas al sistema de incubación lo cual corresponde a lo ya descrito con diversos autores.

Se logró determinar las bacterias más aisladas las cuales fueron: 1.- *Staphylococcus epidermiis*, 2.- *Staphylococcus aureus*, 3.- *Escherichia coli*, 4.- *Pseudomonas aeruginosa*.

Tenemos un alto porcentaje de contaminación en las muestras de hemocultivo el cual es del 11%, lo cual nos indica que no existe una fase pre analítica con estándares de calidad durante el proceso de manipulación por parte de los médicos tratantes, ya que en la fase analítica el procesamiento de los frascos se realiza con estricto apego a los estándares de calidad los cuales ya fueron descritos en los diagramas de flujo.

De igual forma se realizaron las agrupaciones por grupos de edades encontrando que los pacientes mayores de 70 años tienen 16 veces más probabilidades de tener un proceso infeccioso si es que en su citometría hemática se encuentran elevados sus granulocitos inmaduros.

Sugerencias para próximas investigaciones.

Para el personal médico:

- 1.- Utilizar estos resultados de valores absolutos de granulocitos inmaduros para la mejor toma de decisiones en el momento de realizar hemocultivos por parte de los médicos tratantes. El cual fue de  $0.08$  a  $0.2 \times 10^3/\mu\text{L}$ . Tomando en cuenta la media de las muestras obtenidas con  $\pm 2$  desviaciones estándar.
- 2.- Se reportaran los hemocultivos periféricos que sean *Staphylococcus epidermidis*, para que el comité de enfermedades infecciosas y el comité de ética



de la UMAE Siglo XXI realice las respectivas intervenciones para disminuir las muestras contaminadas en la fase pre analítica.

3.- Si los médicos son recurrentes con la falta de conciencia durante la fase pre analítica, se les realizara un seguimiento de sombra y de trazabilidad de sus muestras, el cual será realizado por el comité de enfermedades infecciosas y el comité de ética.

4.- Si aun con el punto anterior continúan las muestras de hemocultivo contaminadas, se pasara el reporte a los mismos comités, con el nombre del médico tratante y servicio en el cual se encuentra. Para que realicen una sanción ejemplar ya sea económica o con días laborales extras. Y se le comentara el paciente la situación para que el decida si es que quiere seguir recibiendo la atención medica por el médico tratante.

Para el personal químico:

1.- Establecer que en el reporte de la citometría hemática de los 3 turnos se imprima el valor absoluto de los Granulocitos Inmaduros. Concientizar al personal del laboratorio de la importancia de este valor y dar a conocer los resultados obtenidos de dicha investigación.

2.- Continuar con este tipo de asociaciones para hongos y parásitos en los pacientes de dicho hospital, por parte de los nuevos tesistas que estén interesados en realizar investigación.

3.- Participar continuamente en la fase pre analítica con los médicos tratantes para que se realice conciencia de los puntos necesarios para que sea una muestra de calidad.

4.- Capacitar continuamente y homogenizar criterios de trabajo en la fase analítica para disminuir el tiempo en el reporte de resultados para el paciente, implementando un diagrama de flujo para el manejo de los hemocultivos.

Para el área de Investigación



---

1.- Realizar más investigación respecto a los granulocitos inmaduros y sus aplicaciones.



---

## Referencias bibliográficas

- 1.- Briggs, C. Quality counts: New parameters in blood cell counting. Internat J Lab Hematol 2009; 31: 277-297.
2. Krause, JR. The automated white blood cell differential. A current perspective. Hematol Oncol Clin North Am 1994; 8: 617-629.
3. Gulati, GL y Hyun, BH. The automated CBC. A current perspective. Hematol Oncol Clin North Am 1994; 8: 593-603.
4. Zwik, D. Pathology and Laboratory Medicine Newsletter. [www.childrens-mercy.org](http://www.childrens-mercy.org). [www.childrens-mercy.org/Content/view.aspx?id=2727](http://www.childrens-mercy.org/Content/view.aspx?id=2727). Consultado el: 3 de mayo del 2014
5. Bruegel M, Fielder GM, Matthes G, Thiery J. Reference Values for Immature Granulocytes in Healthy Blood Donors Generated on the Sysmex XE-2100 Automated Hematology Analyzer. Sysmex J Internat 2004; 14: 5-7.
6. Field D, Taube E, Heumann S. Performance evaluation of immature granulocyte parameter on Sysmex XE - 2100 automated hematology analyzer. Lab Heme 2006: 11-14.
7. Piva E, Pasini L. Innovations on automated enumeration of immature granulocytes. RIMeL-IJLaM 2008; 4 (3, supl 1): 102 – 103.
8. Weiland T, Kalkman H, Heihn H. Evaluation of automated immature granulocyte parameter on Sysmex XE-2100 automated hematology analyzer versus visual microscopy (NCCLS H20A). Sysmex Internat J 2002; 12: 63-70.
- 9.- Zaragoza R, Microbiología aplicada al paciente crítico. Medica panamericana Buenos Aires. 2007 primera edición, 69 – 82, 233 – 241.
- 10.- Sanders CC, A problema with antimicrobial susceptibility test. ASM New 1991; 57:187 – 190



11.- Low DL, Scheld WM. Strategies for stemming the tide of antimicrobial resistance, Editorial Jama 1998; 279: 394 – 395.

12.- Garayral JP, Robinson R, Sandstedt D. A new integrated system for microbiological testing. In: Abstracts of the 8ta. European Congress on Clinical Microbiology and infectious Diseases. Lausanne: European Society of Clinical microbiology and infectious Diseases; 199: 254.

13.- Funke G, Monnet D, debeardis C, von Graevenity A, Freney J. Evaluation of the VITEK 2 System for rapid identification of medically relevant gram- negatives rods. J. clin Microbiol 1998;36: 1948 – 1952.

14.- Traczewski MM, Barry AL, Brown Sd, Hinder JA, Bruckner DA, Sahm DF. The VITEK 2 rapid susceptibility test system was evaluated for testing Enterobacteriaceae, Pseudomonas aureginosa and Acinetobacter sp. Againt cephalosporins. In Abstracts of the 98th American society of Microbiology. Atlanta: American society of Microbiology; 1998.

15.- Moland ES, Thomson KS, Sanders CC. VITEK 2: A new rapid susceptibility test system. In: Abstracts of the 37th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Toronto: American society of Microbiology, 1997: D48.

16.-Jarlier V, Dib S, Nguyen J, Philippon A. New integrated system (VITEK2) for antibiotic susceptibility testing. In: abstracts of the 37th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Toronto: American society of Microbiology, 1997: D50.

17.- Fremaux A, Sissia G, Geslin P, Zindel J. evaluation of a new system VITEK 2 for susceptibility testing of Streptococcus pneumoniae. In: abstracts of the 37th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Toronto: American society of Microbiology, 1997: D49.

18.- Ruiz G. Fundamentos de Hematología. 4ª edición. México. Medica Panamericana. 2009. P 13 – 23.



- 19.- Asimov I. El río viviente. 1a. Ed. México, D.F.: Limusa; 1989.
- 20.- Rodgers GP, Young N, editores. Bethesda Handbook of clinical hematology. 2a. Ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2010.
- 21.- Holland SM, Gallin JI. Harrison Principios de Medicina Interna. Trastornos de los granulocitos y monocitos. 18ª edición. U.S.A. Mc Grawll Hill; 2012. P. 472 - 484
- 22.- McKenzie SB. Hematología clínica. 1a. Ed. México, D.F.: El Manual Moderno; 2009.
- 23.- San-Miguel JF, Sánchez-Guijo FM. Cuestiones en hematología. 2a. Ed. Madrid: Elsevier; 2002.
- 24.- Ehrlich P. Beitrag zur Kenntnis der Anilinfärbungen und ihre Verwendung in der mikroskopischen Technik. Arch Mikr Anat 1877; 13: 263.
- 25.- Sánchez-Valle ME, Hernández NF. Protocolo diagnóstico de la linfopenia. Medicine 2004; 9(21): 1362-4.
- 26.- Archer RK, Engisch HJ, Gaha T, Ruxton J. The eosinophil leucocytes in the blood and bone marrow of patients with Down's anomaly. Br J Haematol 1971; 21(3): 271-276.
- 27.- Arreguín OL, Meza MA, Blanco FF. Eosinófilos. Revista Alergia: México 1995; 42(1): 1-8.
- 28.- Lacy P, Becker AB, Moqbel R. The human eosinophil. Wintrobe's clinical hematology. 11a. Ed. Philadelphia: Lipincott Williams & Wilkins; 2004, p. 311-34.
- 29.- Yoshimoto T, Yasuda K, Tanaka H, Nakahira M, Imai Y, Fujimori Y, Nakanishi K. Basophils contribute to T(H)2-IgE responses in vivo via IL-4 production and presentation of peptide-MHC class II complexes to CD4+ T cells. Nat Immunol 2009; 10(7): 706-12.



30.- Castaño D, Rojas M. Alteraciones en fagocitos mononucleares: un viraje al significado de la muerte de monocitos y macrófagos en la inmunopatogénesis de la tuberculosis. *Biomédica* 2010; 30(Supl): 45-64.

31.- Gordon S, Taylor PR. Monocyte and macrophage heterogeneity. *Nat Rev Immunol* 2005; 5(12): 953-64.

32.- Rutherford MS, Witsell A, Schook LB. Mechanisms generating functionally heterogeneous macrophages: chaos revisited. *J Leukoc Biol* 1993; 53(5): 602-18.

33.- Hymery N, Leon K, Carpentier FG, Jung JL, Parent-Massin D. T-2 toxin inhibits the differentiation of human monocytes into dendritic cells and macrophages. *Toxicol In Vitro* 2009; 23(3): 509 – 519.

34.- López CS, Suárez MMJ. Leucocitosis. *Guías clínicas* 2006; 6(25): 1-4.

35.- Díaz de HC, Bastida P. Interpretación del hemograma pediátrico. *An Pediatr Contin* 2004; 2(5): 291-296.

36.- Hurtado MR, Mellado OY, Flores RG, Vargas VP. Semiología de la citometría hemática. *Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM* 2010; 53(4): 36-43.

37.- Faile R. y cols. Hemograma manual e interpretación. 5ª. Edición. Brasil. *Medica Panamericana*; 2011. P 259 – 279

38.- Campuzano-Maya G. Eosinofilia: Las 215 causas más frecuentes. *Medlab* 2005; 11(7-8): 321-361.

39.- Tinagate HN, Chetty MN. Basophilia as a feature of the myelodysplastic syndrome. *Clin Lab Haematol* 1986; 8(3): P 269-271.

40.- Bain BJ. Quantitative Changes in blood cells. A practical guide. 4th. Ed. Massachusetts: Blackwell Publishing; 2006, p. 217-62.

41.- Sánchez-Valle ME, Hernández NF. Protocolo diagnóstico de la linfocitosis. *Medicine* 2004; 9(21): 1365-1367.



---

42.- Sánchez-Valle ME, Hernández NF. Protocolo diagnóstico de la monocitosis y la monocitopenia. *Medicine* 2004; 9(21): 1368-71.

43.- Guibaud S, Plumet-Leger A, Frobert Y. Transient neutrophil aggregation in a patient with infectious mononucleosis. *Am J Clin Pathol* 1983; 80: 883- 884.

44.- Skubitz KM. Neutrophilic leukocytes. In: Greer JP, Foerster J, Lukens JN, Rodgers GM, Paraskevas F, Glader B, eds. *Wintrobe's clinical hematology*. 11th ed. Philadelphia, PA, USA; Lipincott Williams & Wilkins. 2004: 267-310.

45.- Christensen RD, Bradley PP, Rothstein G. The leukocyte left shift in clinical and experimental neonatal sepsis. *J Pediatr* 1981; 98: 101-105.

46.- Patiala J. Shift to the left in the peripheral blood picture in pulmonary tuberculosis; its relation to the neutrophil reaction in bone marrow. *Ann Med Intern Fenn* 1954; 43: 45-50.

47.- Bedell SE, Kang JL. Leukocytosis and left shift associated with quinidine fever. *Am J Med* 1984; 77: 345-346.

48.- Kluge W. Leucocytic shift to the left in mongolism, with some observations on segmentation inhibition and the Pelger-Huët anomaly. *J Ment Defic Res* 1959; 3: 56-62.

49.- Mittwoch U. The relationship between the leucocyte count, the shift to the left and the incidence of drumsticks in mongolism. *Acta Genet Med Gemellol (Roma)* 1959; 8: 131-138.

50.- Rumke C. The statistically expected variability in differential leukocyte counting. In: Koepke J, ed. *Differential Leukocyte Counting*. Chicago; College of American Pathologists. 1977.

51.- Dutcher TF. Leukocyte differentials. Are they worth the effort? *Clin Lab Med* 1984; 4: 71-87.



52.- Cornbleet PJ. Clinical utility of the band count. Clin Lab Med 2002; 22: 101-136.

53.- Committee for the clarification of nomenclature of cells and diseases of blood and blood forming organs: First report. Am J Clin Pathol 1948; 18: 443-450.

54.- NCCLS. H20-A: Reference leukocyte differential count (proportional) and evaluation of instrumental methods; approved standard. Villanova, PA, : NCCLS; 1992.

55.- College of American Pathologists. Color atlas of hematology: An illustrated field guide based on proficiency testing. 1998. Northfield, IL, USA; 1998

56.- Sacher RA, McPherson RA. Widmann's clinical interpretation of laboratory tests. 11th ed. ed. Philadelphia, PA, USA: Davis; 2000

57.- Saxena S, Wong ET. Heterogeneity of common hematologic parameters among racial, ethnic, and gender subgroups. Arch Pathol Lab Med 1990; 114: 715-719.

58.- Hoyer JD. Leukocyte differential. Mayo Clin Proc 1993; 68: 1027-1028.

59.- Cornbleet PJ, Thorpe G, Myrick D. Evaluation of instrument flagging of left shift using College of American Pathologists reference band identification criteria. Lab Hematol 1995; 2: 25-102.

60.- Fujimoto H, Sakata T, Hamaguchi Y, Shiga S, Tohyama K, Ichiyama S, et al. Flow cytometric method for enumeration and classification of reactive immature granulocyte populations. Cytometry B Clin Cytom 2000; 42: 371-378.

61.- Manroe BL, Rosenfeld CR, Weinberg AG, Browne R. The differential leukocyte count in the assessment and outcome of early-onset neonatal group B streptococcal disease. J Pediatr 1977; 91: 632-637.



62.- Ansari-Lari MA, Kickler TS, Borowitz MJ. Immature granulocyte measurement using the Sysmex XE-2100. Relationship to infection and sepsis. Am J Clin Pathol 2003; 120: 795-799.

63.- Nigro KG, O’Riordan M, Molloy EJ, Walsh MC, Sandhaus LM. Performance of an automated immature granulocyte count as a predictor of neonatal sepsis. Am J Clin Pathol 2005; 123: 618-624.

64.- Field D, Taube E, Heumann S. Performance evaluation of the immature granulocyte parameter on the Sysmex XE-2100 automated hematology analyzer. Lab Hematol 2006; 12: 11-14.

65.- Del Fávero, H., Rubio, G., Gutiérrez, J., Madrid, J., Regonesi, C., Reyes, J. M., & Zúñiga, C. (2001). Transfusión de granulocitos en pacientes neutropénicos febriles. Clínica y Ciencia, 1(2).

66.- Yubero, M., Vírseda, I., Agustino, A., Prieto, R. I., & Canalda, M. (2003). Evaluación del Autoanalizador Hematológico SYSMEX SF 3000. Revista de Diagnóstico Biológico, 52(1), 32-34.

67.- Maya, G. C. Utilidad del extendido de sangre periférica: los leucocitos periférica, 5, 10.

68.- Blanco, M., Scandizzo, E., González, Y., Pestana, L., & Albarenque, F. Frecuencia de aislamientos microbiológicos en hemocultivos. Revista científica Hospital del cruce. 2011; 10: 8, 13.

69.- García González y cols. Utilidad de la biometría hemática en la práctica clínica. Leucocitos (Segunda parte). 2012

70.- Sánchez González y cols. “Frecuencia de microorganismos aislados de hemocultivos en un hospital de tercer nivel en el estado de Chiapas”. Revista científica de enfermedades infecciosas de microbiología 2010 pagina 53 a 58.



71.- Klever Saenz F., Narváez, L., Cruz, M., & Checa, C. (2010). Granulocitos inmaduros: Valores de referencia empleando analizador SYSMEX XE-2100. *Rev Mex Patol Clin*, 57(4), 163-169.

72.- Hurtado, I. C., Sánchez, D. P., Espinal, D. A., & Garcés, C. (2012). Evolución clínica y de laboratorio de episodios de neutropenia febril en niños con cáncer, en un hospital de Colombia, período 2007-2009. *Revista chilena de infectología*, 29(6), 672-676.

73.- Jade Pérez Ong, & Delgado, J. V. (2013). Comparación entre diferencial automático por SYSMEX XT1800i y diferencial manual en la alerta de granulocitos inmaduros.

74.- Axel Nierhaus and cols, (2013) Revisiting the white blood cell count: immature granulocytes count as a diagnostic marker to discriminate between SIRS and sepsis--a prospective, observational study. *BMC Immunol*. Feb 12 ;14:8. doi: 10.1186/1471-2172-14-8.

75.- Singhal, L · Gupta, P K · Kale, P · Gautam, V · Ray, P (2013). Trends in antimicrobial susceptibility of *Salmonella Typhi* from North India (2001-2012). *Journal Indian journal of medical microbiology*.

76.- Negro E. y cols. (2013). Utility of PCR amplification and DNA microarray hybridization of 16S rDNA for rapid diagnosis of bacteremia associated with hematological diseases. *Int J Infect Dis*. 2013 Apr ;17(4):e271-6.

77.- Pautas C. y cols. (2013). A new workflow for the microbiological diagnosis of febrile neutropenia in patients with a central venous catheter. *J Antimicrob Chemother*. 2013 Apr ;68(4):943-6.

78.- Weddle G y cols. (2013) Reducing blood culture contamination in a pediatric emergency department. *Pediatr Emerg Care*. 2011 Mar ;27(3):179-81..



79.- Reyes, L. H. H., & Fundora-Sarraff, T. A. (2013). El hemograma: nueva clasificación y perspectivas. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*, 30(1).

80.- M. Depoorter y cols (2014). Optimal flagging combinations for best performance of five blood cell analyzers. *International Journal of Laboratory Hematology*. Pag. 1- 8.

81.- Park S. y cols (2014). Sepsis affects most routine and cell population data (CPD) obtained using the Sysmex XN-2000 blood cell analyzer: neutrophil-related CPD NE-SFL and NE-WY provide useful information for detecting sepsis. *Int J Lab Hematol*. May 28.

82.- Park S. y cols (2014). An extended leukocyte differential count (16 types of circulating leukocytes) using the CytoDiff flow cytometric system can provide information for the discrimination of sepsis severity and prediction of outcome in sepsis patients. *Cytometry B Clin Cytom*. Jul ;86 (4):244-56.

83.- Van der Geest PJ. Y cols (2014). Immature granulocytes predict microbial infection and its adverse sequelae in the intensive care unit. *J Crit Care*. Aug;29(4):523-7.

85.- Guérin E y cols (2014). Circulating immature granulocytes with T-cell killing functions predict sepsis deterioration\*. *Crit Care Med*. Sep ;42(9).

86.- Manual de ayuda Versatrek (2008) "Trek Diagnostic Systems" pagina 62.

87.- Manual de biomeriux S.A. Durham, North Carolina U.S.A. (2002) pag. 6-49 a 6-55.