



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS PROFESIONALES IZTACALA

**ESTUDIO DE CARGA BACTERIANA IN VITRO EN SISTEMA BACTEC  
9120 Y CORRELACIÓN CON HEMOCULTIVOS DE PACIENTES DEL  
INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA**

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**BIÓLOGO**

PRESENTA:

**ROMERO SERRANO, ADRIANA**

ASESOR: WARNER LANS, JEANNETTE

MÉXICO, D. F.

1997



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.

BD 1321/97  
E.1

El presente trabajo se realizó bajo la dirección de la

**Dra. Jeannette Guarner Lans**

en el

Departamento del Laboratorio Clínico del Instituto Nacional  
de Cancerología,

y con la asesoría del

**M. en C. Agustín Ruiz Cabrera**

de

Campus Iztacala

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

A MIS EJEMPLARES PADRES.

SUSANA.S Y AGUSTIN.R

Y A MARIA.

**G R A C I A S**

**DRA. JEANNETTE GUARNER LANS.  
M.en C. AGUSTIN RUIZ CABRERA.  
T.LAB. MARTHA MORELOS GONZALEZ.  
QCA. CONSUELO VELAZQUEZ.  
EQUIPO DE BACTER.**

G R A C I A S

CARLOS  
PATY  
ALEX  
ENRIQUE  
MARIA  
MARTHA  
MEMO  
XOCHITL  
GABRIELA  
ROLANDO

Y A TODOS LOS QUE COMPARTIERON CONMIGO ESTE TRABAJO.

# INDICE

|   | PAGINAS |
|---|---------|
| RESUMEN.  |         |
| INTRODUCCIÓN.   | 1       |
| OBJETIVOS.  | 5       |
| ANTECEDENTES.   | 6       |
| • METODOS DIAGNOSTICOS DE LAS BACTEREMIAS.                                  | 9       |
| METODOLOGIA.  | 20      |
| • SELECCION DE CEPAS BACTERIANAS PARA LA ELABORACION DE CURVAS METABOLICAS. |         |
| • SELECCION DE PACIENTES PARA EL ESTUDIO CLINICO.                           |         |
| MATERIAL Y METODOS.   | 21      |
| • MATERIAL DE LABORATORIO.  |         |
| • CRITERIOS DE EXCLUSION.   |         |
| • MEDIOS DE CULTIVO.  |         |
| • PANELES DE IDENTIFICACION Y SUSCEPTIBILIDAD.                              | 22      |
| • EQUIPO.   | 23      |
| PROCEDIMIENTOS METODOLOGICOS.   | 24      |
| • ESTUDIO DEL MATERIAL PROVENIENTE DE PACIENTES.                            |         |
| • HEMOCULTIVOS EN SISTEMA BACTEC 9120.                                      |         |

|   |    |
|---|----|
| • IDENTIFICACION Y SUSCEPTIBILIDAD DE LOS MICROORGANISMOS AISLADOS DE HEMOCULTIVOS POSITIVOS. MICRO-SCAN. | 25 |
| PRUEBAS IN VITRO.   |    |
| • REACTIVACIÓN Y VERIFICACIÓN DE LAS CEPAS ESTANDARIZADAS Y CLINICAS.                                     |    |
| • REVISION DE EXPEDIENTES .   | 27 |
| RESULTADOS Y DISCUSION DE HEMOCULTIVOS DE PACIENTES .   | 29 |
| • DATOS GENERALES.  |    |
| • RESULTADOS BACTERIOLOGICOS Y CORRELACION CLINICA.   | 31 |
| RESULTADOS Y DISCUSION DE ESTUDIO IN VITRO.   | 38 |
| • ANALISIS DE CRECIMIENTO EN EL BACTEC 9120 DE CEPAS TIPO.  |    |
| • ANALISIS DE CRECIMIENTO EN EL BACTEC 9120 DE BACTERIAS DERIVADAS DE PACIENTES.                          | 40 |
| COMPARACION DE CRECIMIENTO ENTRE CEPAS TIPO Y BACTERIAS PROVENIENTES DE PACIENTES .                       | 43 |
| CONCLUSION  | 45 |
| BIBLIOGRAFIA.   | 47 |

## RESUMEN

Las infecciones constituyen la principal causa de morbi-mortalidad en los pacientes con cáncer debido a los avances importantes de la quimioterapia en distintas neoplasias, intensificación de tratamientos y el aumento de los catéteres intravenosos por permanencia prolongada.

Durante las dos décadas pasadas estudios epidemiológicos han demostrado que las bacterias son los agentes etiológicos mayormente causantes de infecciones agudas en pacientes neutropénicos durante inicios de los años 50, encontrándose que aproximadamente de el 80 al 85% se origina de la flora microbiana endógena del huésped, esto ha incrementado el riesgo de infecciones iniciales en un 50 a 70% causados por bacilos entéricos.

Por lo que es importante la evaluación de hemocultivos en sistemas automatizados (BACTEC 9120) para su presunción diagnóstica a fin de ofrecer un tratamiento adecuado y oportuno.

El estudio constó de dos fases una in vitro, en la que se realizaron diluciones de carga bacteriana de los microorganismos de mayor frecuencia, inoculándoseles en botellas de cultivo Bactec para posteriormente obtener las curvas de crecimiento dadas por el instrumento.

En la fase in vivo se analizaron los estudios clínicos patológicos de 106 pacientes y sus diferentes curvas de crecimiento correlacionándolas con diferentes aspectos clínicos, realizándose pruebas de resistencia y susceptibilidad en sistema Micro-Scan.

La frecuencia de hemocultivos procesados en sistema BACTEC 9120 en el año de 1995 fué de 34.63% positivos, presentandose 70.75% septicemia y 29.24% bacteremia, predominando *Escherichia coli* para gram negativos y *Staphylococcus aureus* en gram positivos.

Se obtuvo una resistencia para gram negativos en piperacilina y cotrimazol, en cuanto a gram positivos se presentó en ampicilina y penicilina, de acuerdo a esto la introducción de sistema BACTEC 9120 en el INCAN aumentó la positividad de hemocultivos estableciéndose la frecuencia de *Escherichia coli*, además de detectar otros microorganismos en sangre a cualquier concentración sin importar el tipo de neoplasia que se esté tratando, observándose también que los pacientes con neoplasias hematológicas y de cáncer de mama se les asocia frecuentemente con bacteremia y septicemia.

Se sugiere, además de los cuidados meticulosos asépticos se haga la implementación de técnicas que involucren los sistemas automatizados para coadyuvar en la selección de microorganismos para el tratamiento oportuno.

## INTRODUCCIÓN

El paciente con cáncer presenta una mayor susceptibilidad a las infecciones, debida a la neoplasia misma, y a los efectos de los tratamientos como lo refiere Bonadonna en 1983, en especial, la quimioterapia y radioterapia. (Whimbey 1987).

En pacientes oncológicos las infecciones más comunes se presentan en el tracto digestivo, respiratorio y urinario; esto se debe a que las mucosas pierden el epitelio y las bacterias que normalmente existen proliferan y causan mucositis. Estas infecciones locales pueden dar lugar a septicemias, que ocupan un lugar importante ya que causan elevada morbi-mortalidad. Generalmente referido por Farreras en 1992, la secuencia de eventos es la siguiente: existe una infección localizada o foco primario (urinario, gastrointestinal), de ahí se produce una bacteremia (bacterias circulantes en sangre), si ésta persiste y se establecen nuevos focos originan una septicemia (Saez 1993, Wade 1986).

Los bacilos gram negativos son los agentes asociados con mayor frecuencia a las bacteremias en pacientes oncológicos, siendo *Escherichia coli* el primer lugar en los focos primarios, por ser esta bacteria la mas abundante dentro de este grupo de microorganismos (Inagaki 1974, Wade 1986).

Una bacteremia se define como la presencia de microorganismos en la sangre. Por otro lado, septicemia indica que no solo existe crecimiento bacteriano en sangre, sino también un foco infeccioso primario, fiebre, hipotensión y/o choque hipovolémico. La septicemia puede sembrar otros focos infecciosos intravasculares, endocarditis o extravasculares como una neumonía o un absceso hepático (Aronson 1987, Kelly 1990, Saez 1993, T. Tilton 1982).

Las bacteremias se clasifican en bacteremias transitorias, intermitentes y continuas. La bacteremia continua es un rasgo primordial de focos intravasculares con diseminación directa de la infección a corazón (endocarditis infecciosa) y generalmente se debe a catéteres intravenosos contaminados. La bacteremia transitoria puede tener pocas consecuencias y ser asintomática; a menudo es consecuencia de procedimientos o manipulación de tejidos infectados o contaminados. La bacteremia intermitente es causada por abscesos no drenados. Un ejemplo es la neumonía neumocócica que al inicio de la enfermedad se presenta con escalofríos que desaparecen con rapidez. Sin embargo, 20 a 30% de las bacteremias intermitentes se convierten en continuas lo que indica una invasión de diversos tejidos (Aronson 1987, McCabe 1962, Tilton 1982, Whimbey 1987).

Con la introducción de quimioterapia, radioterapia y cirugía se ha incrementado la sobrevivencia de los pacientes con padecimientos neoplásicos, sin embargo, debido a estos mismos tratamientos los pacientes se vuelven más susceptibles a las infecciones (Pizzo 1979).

Los pacientes con cáncer pueden estar inmunocomprometidos por la misma neoplasia o por la terapia antineoplásica. Las neoplasias hematopoyéticas, sarcomas y carcinomas están asociadas con un déficit inmunológico que predispone a infecciones con patógenos particulares. Las anomalías del sistema inmunológico en un paciente inmunosuprimido con cáncer se deben a alteraciones de células inmunes y/o rompimiento de las barreras tegumentarias y mucosas. La piel y las superficies mucosas gastrointestinales y respiratorias representan la defensa primaria del huésped contra la invasión de microorganismos endógenos y adquiridos. La integridad de esta barrera puede ser alterada por el tumor o su tratamiento. Las células epiteliales de las mucosas contienen receptores específicos para el ataque y adherencia de microorganismos, estos receptores pueden ser alterados por enfermedades y terapias antineoplásicas y/o antimicrobianas (Aronson 1987, Inagaki 1974). En cuanto a las células inmunes los neutrófilos y los macrófagos son la mayor defensa fagocítica del huésped contra la mayoría de las bacterias y hongos.

En las enfermedades neoplásicas hematológicas o como consecuencia de quimio y radioterapia, el grado de severidad de la neutropenia está directamente relacionada con el riesgo de infecciones. Para satisfacer las necesidades cambiantes existe una reserva de granulocitos en la médula ósea que excede el número de células en la circulación sanguínea. Cuando la granulopoyesis está disminuida por enfermedad o el tratamiento, la reserva de neutrófilos se depleta desarrollándose una granulocitopenia severa (Pizzo 1979, Wade 1986). La quimioterapia para el cáncer puede también producir alteración en la función de los neutrófilos: se disminuyen los fagocitos y la migración de neutrófilos, de acuerdo con lo revisado en el libro de Vicent. (1994), la combinación de prednisona con vincristina y asparaginasa pueden producir una disminución significativa en la capacidad fagocítica. Por otra parte la inmunidad humoral también juega un papel importante en pacientes con cáncer, por ejemplo en leucemia linfoblástica y mieloma múltiple donde existe producción deficiente de anticuerpos se observa incremento de la frecuencia de infecciones piógenas aunque el paciente no presenta neutropenia (Wade 1986).

Los pacientes con cáncer presentan con frecuencia desnutrición, ésta contribuye a la pérdida de integridad de la barrera tegumentaria y mucosa, y alteración en la capacidad fagocítica. Los sitios de origen de las infecciones en un paciente con cáncer están relacionados con la microflora exógena y endógena. En la literatura revisada de Bonadonna (1983) y Vicent. (1994) reportan que más del 80 y 85% de las infecciones que ocurren en este tipo de pacientes provienen de la microflora endógena y de estos la mitad son adquiridas durante la hospitalización (Pizzo 1987, Singer 1977).

Por otro lado, la flora exógena contribuye a la colonización de los pacientes neoplásicos, esto es a través del medio ambiente como el aire, fómites, agua y comida. Así mismo, la tecnología médica actual también provee nuevas rutas para la transmisión de los microorganismos, particularmente el uso de catéteres intravenosos, ventiladores y sondas vesicales (cuadro1). (Tilton.1982). Los microorganismos causantes de estas infecciones nosocomiales generalmente son *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas* y *Candida albicans* (Singer 1977).

| FUENTE                         |   | PRINCIPALES MICROORGANISMOS  | DEFECTOS MUCOSOS Y CUTÁNEOS                                  | ALTERACIÓN DE DEFENSA                          | COMPLICACIONES INFECCIOSAS |
|--------------------------------|---|--|--|--|----------------------------|
| AIRE                           | Sistemas de ventilación, aire acondicionado materiales de construcción.   | enterobacterias, Pseudomonas, Staphylococcus. Aspergillus. Varicela, zoster. |  |  |                            |
| ALIMENTOS                      | Productos diarios, frutas y vegetales frescos, carnes crudas, mal cocidas, etc.                                     | enterobacterias. Pseudomonas, Klebsiella, Staphylococcus, Streptococcus.     | Tracto gastrointestinal                                      | Deficiencias inmunes:                          |                            |
| AGUA                           | Tapas de agua, hielo humectadores, toallas y batas, flores.   | enterobacterias Pseudomonas, Klebsiella.                                     | orofaringe y membranas mucosas                               | humoral y celular.                             |                            |
| CATETERES INSTRUMENTOS EQUIPOS | Soluciones intravenosas, productos sanguíneos, catéteres profundos, tubos de drenaje, endoscopias, tapas a presión. | enterobacterias, Klebsiella sp. Candida.                                     | superficies con piel, orificios corporales, ingles y axilas. | mala nutrición. Defensa fagocítica disminuida. |                            |
| CONTACTO                       | Personal, pacientes, visitantes, objetos, (incluyendo jabón limpiador).   | enterobacterias, Pseudomonas, Staphylococcus.                                | alteraciones inducidas por antibióticos.                     |  |                            |

Cuadro tomado y adaptado de Vicent. D CÁNCER vol. II 1994.

cuadro1. Fuente de infección nosocomial en pacientes de alto riesgo.

Interacción entre colonización e infección.

## **OBJETIVOS**

- Inocular botellas de hemocultivo BACTEC con diluciones decrecientes de las bacterias que con mayor frecuencia causan septicemia en pacientes del INCAN, con el fin de relacionar las diferentes curvas obtenidas en el BACTEC 9120 con la dilucion bacteriana.
- Correlacionar las curvas de crecimiento obtenidas de muestras de pacientes con diferentes aspectos clínicos.
- Conocer el porcentaje de positividad de los hemocultivos mediante el sistema BACTEC 9120.

## ANTECEDENTES

En los individuos sanos los sitios de ataque en mucosa e intertegumentarios son poblados con flora normal inocua, consistiendo predominantemente de aerobios gram positivos, los pacientes con cáncer presentan una disminución en la microflora normal de gram positivos aerobios, por lo que la orofaringe y el tracto gastrointestinal se colonizan por bacilos gram negativos tan pronto como se hospitaliza al paciente, incluso antes de recibir el tratamiento antimicrobiano (Lowell S. Young y col. 1981, Saez X. y col. 1993, Wade 1986).

El patrón de microorganismos aislados en pacientes con cáncer ha cambiado durante las últimas décadas. Durante 1950 y principios de los 60s, *Staphylococcus aureus* fue la bacteria más frecuentemente aislada. Con el uso de las penicilinas semisintéticas resistentes a  $\beta$ -lactamasa, los bacilos gram negativos se transformaron en los microorganismos más comunes (McCabe 1962), especialmente *Escherichia coli*, *Klebsiella sp* y *Pseudomonas aeruginosa*, según Bonadonna (1983), siendo un 50 a 70% (Wade y col 1986, Pizzo y col. 1987, McMabe 1962) Por otro lado, durante la última década, las infecciones debidas a *Pseudomonas aeruginosa* ha disminuido en muchas instituciones.

Una explicación a este fenómeno es la utilización pronta de un esquema terapéutico empírico apropiado (Pizzo 1979; Wade y col. 1987). Cabe mencionar que el aislamiento de *Pseudomonas no aeruginosas* y bacterias multiresistentes incluyendo *Enterobacter sp*, *Citrobacter sp*, *Acinetobacter* y *Serratia marcescens* ha aumentado por el uso indiscriminado de los agentes antimicrobianos, en múltiples instituciones. Esto, como es de esperarse, puede ser un gravísimo problema para los pacientes inmunosuprimidos, ya que si el antibiótico no tiene efecto sobre la bacteria, ellos tampoco pueden utilizar mecanismos inmunológicos para luchar en contra de ellas (Whimbey y col. 1987).

Por otra parte, en otras instituciones las bacterias gram positivas aisladas; más importantes son los *Staphylococcus aureus* y los estafilococos coagulasa negativos, como lo refiere en su libro Vicent en 1994, llegan a representar hasta el 20% de los aislamientos, especialmente en los pacientes que tienen catéteres. Los estreptococos alfa hemolíticos y los del grupo viridans, así como las corynebacterias también pueden ser causantes de infecciones, particularmente en pacientes con granulocitopenia prolongada (Weinstein 1991, Tilton 1982, Wade 1986)

Los hongos pueden ser patógenos relevantes en pacientes inmunosuprimidos que han presentado granulocitopenia prolongada y que han recibido terapia antimicrobiana. Estos microorganismos incluyen levaduras como *Candida sp.*, y hongos como *Aspergillus sp.* y *Cryptococcus neoformans* (Wade 1986, Pizzo y col. 1987).

Cabe mencionar que los anaerobios juegan un papel menor que los aerobios en las infecciones primarias en pacientes oncológicos. Estos son responsables del 5% de las bacteremias y con frecuencia se ven en las infecciones polimicrobianas provenientes de sitios como la boca y el área perianal (Whimbey 1987, Wade y col. 1986)

Aproximadamente del 10 al 20% de los pacientes con cáncer que tienen neutropenia y fiebre presentan bacteremia. Entre los pacientes inmunocomprometidos, el tracto respiratorio es el sitio inicial más común como foco primario de la sepsis (25%), seguido por celulitis perianal y perioral y posteriormente por infecciones del tracto gastrointestinal y genitourinario cada uno (10%) (Wade 1986, Saez y col 1993).

La terapia antimicrobiana de amplio espectro en forma empírica al momento que se presenta fiebre en pacientes con cáncer es de suma importancia. Davis. en 1985 indica en su libro que el tratamiento debe incluir agentes antimicrobianos para bacterias gram positivas y negativas, ya que las infecciones en este tipo de pacientes son mixtas, por lo cual se sugiere utilizar la combinación de dos o más agentes antimicrobianos. Generalmente se utilizan aminoglucosidos combinados con cefalosporinas de tercera generación, o carbapenemes (Craig 1980, Wade 1986)

En el Instituto Nacional de Cancerología (INCan) de la ciudad de México hasta el año de 1988, para la detección de bacteremias en sangre se utilizó caldo de soya tripticaseína (método de Ruiz Castañeda) en el cuál se realizan siembras a las 24, 48 hrs. y 7 días, con el fin de aumentar la probabilidad de crecimiento de cualquier microorganismo (s) presente en la muestra de las siembras. En 1989 debido a la literatura reportada se cambió al método de lisis centrifugación (Isolator/Dupont), que incluye fundamentalmente menor tiempo para obtener resultados positivos, y no necesitar subcultivos múltiples, desventajosamente en este método su medio de cultivo carece de nutrientes y por lo tanto los microorganismos no pueden vivir a largo periodo de tiempo, además de que deben de ser procesados de inmediato, tomar la muestra preferentemente sin terapia antimicrobiana; y la velocidad de centrifugación algunas veces hemoliza la sangre depositada en el hemocultivo. Sin embargo, al finalizar el año de 1989 de acuerdo al trabajo de Montoya (publicado en 1995) reportó que con el isolator la positividad en los hemocultivos disminuyó a 11.9% contra lo obtenido en años anteriores con el método convencional de Ruiz Castañeda 17.4%.

En 1990, en el INCan se realizó un estudio prospectivo pareando hemocultivos realizados tanto con Isolator como con Ruíz Castañeda, encontrando que era mejor utilizar caldo de soya tripticaseína. Esto se debió a que los cultivos que llegaban en la tarde y en la noche no eran procesados inmediatamente por lo que el método de caldo de soya tripticaseína permitía el crecimiento mientras que con el Isolator no existen nutrientes en los tubos y morían las bacterias al no ser procesadas.

A partir de 1991 se volvió a utilizar el método de Ruiz Castañeda, y posteriormente en agosto de 1995 se introdujo, el sistema automatizado BACTEC 9120 (Becton Dickinson). Este es un sistema automatizado para determinar con mayor rapidez crecimiento bacteriano en sangre; el sistema detecta CO<sub>2</sub> producido por el metabolismo de los microorganismos mediante fluorometría (Appelbaum 1983, S. Nolte.1993).

Con el fin de evaluar distintos aspectos del sistema BACTEC 9120, se realizó este estudio que tuvo dos fases, una in vitro y otra in vivo. En la fase in vitro se realizaron diluciones de colonias bacterianas (seleccionando aquellos microorganismos aislados con mayor frecuencia en hemocultivos de pacientes del INCan) que se inocularon en las botellas de cultivo Bactec, y posteriormente se realizaron las curvas de crecimiento dadas por el instrumento. La fase in vivo incluyó el estudio clínico patológico de 106 pacientes con diferentes curvas de crecimiento en el instrumento para ver si éstas tienen relación con diversos aspectos clínicos.

### **METODOS DIAGNOSTICOS DE LAS BACTEREMIAS.**

El hemocultivo es útil para establecer el diagnóstico etiológico de las bacteremias. Debe de tomarse en pacientes con síntomas de septicemia (fiebre y/o hipotensión arterial) o en todo aquel paciente de alto riesgo, (pacientes oncológicos neutropénicos) o aquellos que han estado hospitalizados por períodos prolongados. Stanford. en 1994 señala que los hemocultivos permiten diagnosticar infecciones intravasculares, como endocarditis. Así mismo, los cultivos identifican la bacteria que está causando la infección local que ha dado lugar a la bacteremia y que en ocasiones resulta difícil de aislar del sitio primario (celulitis, ostiomielitis, neumonía, etc..) (Tilton 1982, Aronson 1983, Inagaki 1974, Saez 1993).

La muestra debe de extraerse utilizando técnicas estériles para reducir la posibilidad de contaminación por bacterias presentes en la piel. Se debe de seleccionar un sitio óptimo para la punción, primero desinfectando concéntricamente la piel con alcohol y luego con isodine concentrado. Se utiliza equipo estéril, guantes de latex y cubrebocas. Se desinfecta con yodo el tapón del frasco del hemocultivo antes de inocularlo. Es importante obtener un volúmen de muestra adecuado con respecto a la cantidad de medio de cultivo, generalmente es de 8 a 10 ml (Aronson 1987, Becton Dickinson 1995, Weinstein 1988).

Para lograr el aislamiento de la bacteria, se recomienda que a cada paciente se le realicen 3 hemocultivos separados por lo menos de 20 a 30 minutos; logrando así mayor posibilidad de aislar el microorganismo causante del problema. Así mismo, el primer hemocultivo debe tratarse de obtener durante el pico febril (Aronson 1987).

Existen dos tipos de métodos para la detección de bacterias en los hemocultivos: El método convencional y los métodos no convencionales.

El método convencional se denomina bifásico (caldo/agar) de Ruiz Castañeda, y contiene caldo de soya tripticaseína como medio de cultivo. El procedimiento generalmente se lleva a cabo de la siguiente manera:

1. Limpiar el tapón del frasco con isodine e inyectar en él 10 ml. de sangre.
2. Incubar 24 hrs el frasco a 35°C. además de:
3. Sembrar en una caja de agar sangre, una de MacConkey, una de chocolate y una de Sabouraud, tomando el material con una asa a través de una aguja estéril.
4. En caso de no ser positiva a las 24 hrs. esta primera siembra se resiembra y se incuba nuevamente por 48 hrs y siete días a 35°C en los medios sólidos antes mencionados.
5. Se incuba el frasco de hemocultivo por 7 días cuando se vuelve a sembrar en los medios sólidos; si no existe evidencia de crecimiento se reporta como negativo.

Los métodos no convencionales existentes se citan a continuación:

a) Lisis centrifugación (isolator / Dupont de Nemours). Este sistema consiste en un tubo con doble tapón que contiene como principales reactivos: saponina para lisar las células sanguíneas, propilenglicol para disminuir la espuma, polianetol sulfanato de sodio y EDTA como anticoagulantes, además de un compuesto fluorado inerte para amortiguar y concentrar los microorganismos durante la centrifugación.

De acuerdo a la literatura revisada en el libro de L.Wilson (1994), este método ofrece las siguientes ventajas: obtener resultados positivos en menor tiempo, no necesitar subcultivos múltiples, mayor probabilidad de tener cultivos positivos en pacientes que han recibido antibióticos y en aquellos en que se sospecha infección por microorganismos intracelulares como hongos y micobacterias (Bille 1984, Doern 1978, Singer 1977). Se procesa de la siguiente manera:

1. En condiciones de asepsia y después de limpiar el tapón del tubo con isodine se toma la muestra de 10 ml. de sangre del paciente directamente al tubo.
2. Se traslada lo más rápido posible al laboratorio.
3. Centrifugar los tubos a 3500 rpm. durante 15 min.
4. Limpiar el tapón del tubo con isodine y colocar el adaptador para perforarlo con la prensa, absorber el sobrenadante y desecharlo con una macropipeta, dar vortex (mezclar) durante 10 segundos.
5. Absorber el precipitado con una micropipeta, sembrar en agar sangre, chocolate MacConkey y Sabouraud; dibujando una línea recta con la pipeta y estriar esta en forma perpendicular con el asa.
6. Incubar las cajas a 35° C.durante las primeras 24 hrs. y los siguientes 6 días a temperatura ambiente y observar.

Si las cajas no presentan crecimiento dejar en observación durante 7 días a temperatura ambiente.

b) Subcultivo incluido (Septi Chek / Roche Diagnostics).- A partir de 1992 Wilson y col., demuestran la importancia de este método de cultivo mejorando principalmente la recuperación de microorganismos anaerobios, y levaduras. Este método requiere de un tiempo de incubación de 2 semanas a 35°C, resultando ser análogo a los métodos convencionales. Consiste en una botella convencional para hemocultivo a la que se le incluye una cámara que contiene una lámina de vidrio con tres medios sólidos de cultivo diferentes; el medio líquido está enriquecido con soya tripticaseína y saponinas (R. Murray. 1991).

c) Sistemas automatizados.- En los trabajos de 1915 por Judd y Simmon, se fundamentan las técnicas actuales de los sistemas automatizados. Ellos utilizaban aproximadamente 5 ml. de sangre y 1.5 % de citrato de sodio como anticoagulante, logrando incrementar la posibilidad de detección de bacteremias y fungemias (Tilton 1982). En 1970 se introdujo al comercio la primera generación de sistemas automatizados para la detección temprana de bacterias en sangre, en estos años iniciales se hace uso de métodos radiométricos (Tabla1). Estas técnicas se basaron en el principio de que las bacterias se nutrirían con el medio de cultivo que tenía carbón radioactivo, de tal manera que la detección de crecimiento del microorganismo se hacía al medir el CO<sub>2</sub> producto del metabolismo bacteriano. Este CO<sub>2</sub> era radioactivo ya que el microorganismo lo obtenía de los nutrientes presentes en el medio que tenía la botella. El Bactec 225, manufacturado por Becton Dickinson, requería de agitación continua de las botellas, precaución para el manejo de radioactividad y labor intensa. Diez años después, se presenta la segunda generación: Bactec 301 y 460, mientras que otros sistemas de Difco Sentinel y Bactometer nunca fueron aceptados de acuerdo a lo que refiere en su libro L. Wilson en 1994 (Tilton 1982) .

**TABLA 1 SISTEMAS AUTOMATIZADOS PARA HEMOCULTIVOS**

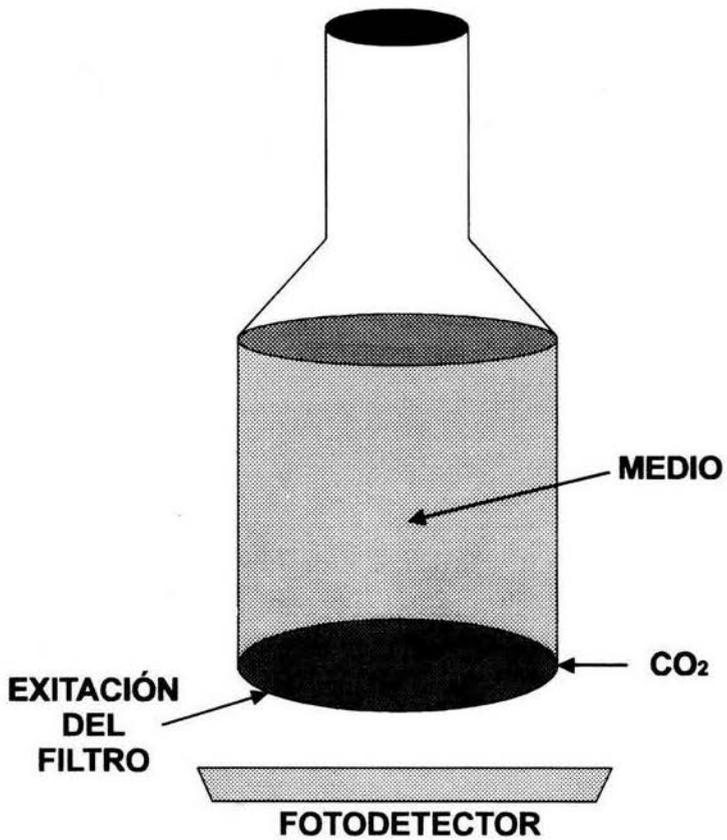
| SISTEMA   | MANUFACTURADO | METODO DE DETECCION      | MONITOREO CONTINUO | AÑO DE INTRODUCCION AL MERCADO |
|---|---------------|--------------------------|--------------------|--------------------------------|
| Bactec 225  | BDDIS         | Radiométrico             | No                 | 1970                           |
| Bactec 301  | BDDIS         | Radiométrico             | No                 | 1980                           |
| Bactec 460  | BDDIS         | Radiométrico             | No                 | 1980                           |
| Bactec 660  | BDDIS         | Espectrofo-<br>tométrico | No                 | 1990                           |
| Bactec 730  | BDDIS         | Radiométrico             | No                 | 1990                           |
| Bactec 860  | BDDIS         | Radiométrico             | No                 | 1990                           |
| Bactec 9120   | BDDIS         | Fluorimétrico            | Si                 | 1993                           |
| Bactec 9240   | BDDIS         | Fluorimétrico            | Si                 | 1994                           |
|   |               |                          |                    |                                |
| Bact/Alert  | OTC           | Colorimétrico            | Si                 | 1993                           |
|   |               |                          |                    |                                |
| BDDIS = Becton Dickinson Diagnostic Instrument Systems. |               |                          |                    |                                |
| OTC = Organon Teknika Corporation.                      |               |                          |                    |                                |

Tabla tomada y adaptada de CLINICS IN LABORATORY MEDICINE de Michael L. Wilson, MD, 1994.

En 1981 los laboratorios Marion en Kansas City introdujeron resinas que permitían atrapar antibióticos para que estos no interfirieran con los hemocultivos (antimicrobial removal device ARD). Estas resinas catiónicas absorbentes poliméricas de agentes antimicrobianos en sangre, permiten el desarrollo bacteriano a pesar de que el paciente esté tomando antibióticos (Doern 1983, Tilton 1982) Para la tercera generación estos avances tecnológicos optimizaron los medios de cultivo; así mismo se buscaron sistemas no radiométricos como el Bactec 660, 730, y 860. En la cuarta generación se optimizó la tecnología dejando de usar material radioactivo y pasando al monitoreo continuo de fluorescencia: Esto es que la producción de CO<sub>2</sub> provoca la formación de compuestos fluorescentes que con sensores colocados en la base de cada botella de cultivo detecta el crecimiento de las bacterias (figura 1).

La fluorescencia del sensor cambia la señal transmitida del componente óptico al electrónico del instrumento. La computadora genera curvas de crecimiento basadas en partículas de unidades de fluorescencia contra el tiempo, los resultados son analizados automáticamente de acuerdo a los algoritmos de detección de desarrollo cada 10 min. teniendo además la capacidad de estandarizarlos día con día (S. Nolte 1993 ). Dentro de estos sistemas automatizados fluorimétricos se encuentran dos tipos:

El sistema BACTEC de Becton Dickinson y Bact - Alert de Organon Teknika. Ambos utilizan la fluorimetría para la detección en la positividad de los hemocultivos en relación a la producción de CO<sub>2</sub> por el metabolismo microbiano, además de estandarizarlo. Estos métodos tienen la capacidad de cultivar múltiples tipos de microorganismos, obteniendo resultados con mayor rapidez y sin necesidad de resiembras (L.Wilson 1991, Prevost 1981, Saez 1993, Thorpe 1990). El sistema BACTEC 9120 cuenta con las siguientes características.



**FIGURA1. BOTELLA PARA HEMOCULTIVO.**

**Adaptada y Modificada de S. Nolte Frederick 1993.**

El medio de cultivo BACTEC contiene nutrientes especiales que favorecen el desarrollo de la mayoría de las bacterias: 1.- es hipertónico ya que contiene un estabilizador osmótico (sacarosa) que ayuda a restablecer la pared celular de las bacterias dañadas por los agentes antimicrobianos y la acción del sistema inmune. 2.-contiene tioles que favorecen las condiciones de anaerobiosis, disminuyendo el potencial de óxido-reducción lo que incrementa la recuperación de los microorganismos anaerobios facultativos, 3.- el factor de dilución medio de cultivo/ sangre, es importantísimo para la recuperación de microorganismos, ya que neutraliza las propiedades bactericidas de la sangre estableciéndose que la dilución óptima es de 1:5 a 1:10. Sin embargo, en los frascos de hemocultivos de BACTEC puede ser de 1:2.5; este incremento en la cantidad de sangre inoculada en los frascos, unido a la presencia de resinas aumenta la frecuencia de aislamientos en el sistema. Por otro lado, la resinas neutralizan la acción de los agentes antimicrobianos y aumentan la lisis de leucocitos 2 a 4 veces más que en medios que solo contienen Polianetolsulfonato sódico (PSS) (Auckenthaler 1982, Craig 1980, Gary 1983, Weinstein 1991).

En relación al tiempo para determinar el hemocultivo como positivo, el sistema BACTEC 9120 es favorecido por la agitación continua a la que se someten los frascos de hemocultivos, lo cual, incrementa notablemente la rapidez en la recuperación de los microorganismos porque aumenta la lisis de los leucocitos que contienen los microorganismos fagocitados, mejorando la exposición del microorganismo a los nutrientes (Tiltton 1982, Appelbaum 1983).

Los sistemas automatizados de hemocultivos permiten la detección y crecimiento bacteriano en forma rápida, después de esto es indispensable identificar al microorganismo que está causando los problemas en el paciente. Para esto lo primero es conocer si se trata de una bacteria gram positiva o negativa o de una levadura; para lo cual es necesario realizar un extendido del hemocultivo en una laminilla y teñirlo con gram. Con estos resultados se puede llamar al médico tratante y comentar que en la sangre de su paciente está creciendo una bacteria gram positiva o negativa lo que hará que el doctor pueda disminuir o cambiar los antibióticos empíricos que fueron dados cuando se sospechó la septicemia. El siguiente paso por el laboratorio de microbiología es identificar en sistema Micro-Scan exactamente cual es la bacteria u hongo que está creciendo y realizar pruebas de sensibilidad a los diversos antibióticos para que se pueda dar la terapia más adecuada.

En el manual de Ballows (1991), señala que originalmente la identificación de un microorganismo se hacía en tubos de ensaye con diferentes medios que contenían, nutrientes específicos e indicadores de que los nutrientes habían sido utilizados por la bacteria. Esto puede darnos una idea de que microorganismo se trata, ya que cada uno tiene un patrón peculiar de utilización de nutrientes. La preparación de los medios específicos o bioquímicas se hacían de forma manual al igual que la lectura. Los patrones se revisaban en libros de taxonomía bacteriana. Por lo que toca a la susceptibilidad a antibióticos se utilizaba el medio Müller Hinton al que se le sembraba la bacteria a forma de llenar la caja de petri y se añadía un disco de papel con el antibiótico. Si las bacterias crecían alrededor del disco con el antibiótico el microorganismo es resistente, pero si existe un halo alrededor del disco donde no crecen bacterias se trata de un microorganismo sensible al antibiótico.

Estos métodos de identificación y susceptibilidad toman por lo menos 24 a 48 horas para su realización y son difíciles de estandarizar por lo que se han ideado sistemas automatizados para hacer mas eficiente este trabajo.

La identificación se basa en la detección de cambios de pH, utilización de sustratos y crecimiento en presencia de agentes antimicrobianos después de una incubación durante 15 a 48 hrs. a 35°C. como se presenta en la tabla 2. Las pruebas de sensibilidad a antimicrobianos en sistema MicroScan (DADE, Sacramento CA) son una miniaturización de las pruebas de identificación y sensibilidad realizadas en placas, sustituyendo a los tubos por pozos. Las pruebas bioquímicas usadas anteriormente son hechas a pequeña escala en los pocillos donde ya existen los medios con los nutrientes y solo se añade la bacteria a cierta dilución en una solución que rehidrata los medios. Las pruebas de susceptibilidad se realizan en caldo de Müller Hinton, ion calcio y magnesio o en caldo Müller enriquecido, con concentraciones de los antimicrobianos que abarcan el intervalo de interés clínico. Después de inocular una solución estandarizada de microorganismos e incubar durante 15 hrs a 35°C se determina la concentración mínima inhibitoria MIC: esta es la menor concentración en Mg/ml del antibiótico que inhibe totalmente el desarrollo del microorganismo en estudio (NCCLS 1995). La sensibilidad cualitativa (sensible, intermedio o resistente) se determina observando la menor concentración de antimicrobiano que muestra inhibición del crecimiento.

**TABLA 2**  
**SUSTRATOS DE IDENTIFICACION**  
**COMPONENTES**

|                      |     |                              |      |
|----------------------|-----|------------------------------|------|
| Cristal violeta      | CV  | Optoquina                    | OP   |
| Prueba presuntiva    | MS  | fosfatasa                    | PHO  |
| Nitrato              | NIT | Esculina bilis al 40%        | BE   |
| Novobiocina          | NOV | L-Pirrolidonil-B- natilamida | PYR  |
| PNP-B-D- Glucurónido | PGR | Arginina                     | ARG  |
| Indoxil fosfatasa    | IDX | urea                         | URE  |
| Voges-Proskauer      | VP  | rafinosa                     | RAF  |
| Lactosa              | LAC | Trehalosa                    | TRE  |
| Manosa               | MNS | Cloruro sódico 6,5%          | NACL |
| sorbitol             | SOR | arabinosa                    | ARA  |
| ribosa               | RBS | inulina                      | INU  |
| manitol              | MAN | bacitracina                  | BAC  |
| piruvato             | PRV | beta - lactamasa             | BL   |

(Manual de Micro Scan Dried Panel 1995)

## **METODOLOGIA**

### **SELECCIÓN DE CEPAS BACTERIANAS PARA LA ELABORACION DE CURVAS METABOLICAS**

Se seleccionaron las siguientes cepas bacterianas *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *klebsiella pneumoniae* y la levadura *Candida albicans*,. tomando como base la mayor frecuencia de aislamiento en hemocultivos durante agosto de 1995 a mayo de 1996.

De acuerdo a las cepas seleccionadas se utilizaron cepas tipo de la ATCC para realizar control de calidad.

### **SELECCION DE PACIENTES PARA EL ESTUDIO CLINICO.**

En agosto de 1995 se implementó el uso del sistema BACTEC 9120, se seleccionaron a106 pacientes a los que se les realizó hemocultivos en este sistema registrándose si sus hemocultivos eran puros o polimicrobianos, además de presentar expediente clínico en el INCAN,

Se analizó el tiempo de detección para cepas ATCC y clínicas, además de considerar si los pacientes eran bacterémicos, septicémicos, su tipo de neoplasia, episodio clínico y ubicación del foco de infección.

## MATERIAL Y METODOS.

### MATERIAL DE LABORATORIO.

Cepas estandarizadas *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* y *Candida albicans*.

### CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.

- ausencia de resultados en hemocultivo con BACTEC 9120
- ausencia de expediente clínico en hospital
- ausencia de datos de episodio clínico

### MEDIOS DE CULTIVO.

|   |                     |
|---|---------------------|
| gelosa sangre                                       | (Becton Dickinson). |
| gelosa chocolate                                    | (Becton Dickinson). |
| gelosa dextrosa sabouraud.                          | (Becton Dickinson). |
| agar MacConkey                                      | (Becton Dickinson). |
| medio BHI infusión cerebro corazón                  | (Becton Dickinson). |
| Frascos de cultivo de líquido Bactec plus aerobic/F | (Becton Dickinson). |

## PANELES DE IDENTIFICACION Y SUSCEPTIBILIDAD.

**\*Paneles combo gram positivos tipo 6 (MicroScan DADE).**

**Agentes antimicrobianos:**

Amoxicilina/k Clavulanato , Ampicilina, Cefalotina, Ciprofloxacina, Eritromicina, Gentamicina, Oxacilina, Penicilina, Rifampicina, Tetraciclina, Trimetoprim sulfametoxazol, Vancomicina.

**\*Paneles combo gram negativo tipo 14 (MicroScan DADE).**

**Agentes antimicrobianos:**

Amikacina, Ampicilina, Aztreonam, Cefotaxime, Ceftazidime, Ceftriaxona, Cefuroxime, Ciprofloxacina, Gentamicina, Imipenem, Piperacilina, Tobramicina, Trimetoprim/ sulfametozaxol.

**\*Paneles para identificación de levaduras.**

Sistema prompt: botellas con solución dilutora, puntas de pipetas, charolas.

Agua para inculo Pluronic -D 25 ml.

Inoculadores D e inculador RENOK (sistema Prompt)

## EQUIPO

|                    |                    |
|--------------------|--------------------|
| BACTEC 9120        | (Becton Dickinson) |
| autoScan-MicroScan | (DADE).            |
| microscopio        | (Leitz Wetzlar).   |
| incubadora         | (Ríos Rocha).      |

## VARIOS.

Equipo para tinción de Gram.

- Cristal violeta
- Lugol
- Alcohol acetona
- Safranina

## **PROCEDIMIENTOS METODOLOGICOS. ESTUDIO DEL MATERIAL PROVENIENTE DE PACIENTES**

La toma de muestra estuvo a cargo de personal capacitado del hospital, pudiendo ser médicos residentes o enfermeras, quienes siguiendo las indicaciones de asepsia para cada caso, hicieron la toma de sangre inoculandola en las botellas BACTEC, siendo transportadas al laboratorio donde se accesan en el sistema de computo y se les introduce en la cámara de incubación del BACTEC 9120 por el personal del laboratorio.

### **BACTEC 9120**

#### **PROCEDIMIENTO DE LOS HEMOCULTIVOS POR EL SISTEMA BACTEC 9120.**

Incubar los hemocultivos en el instrumento durante 5 días. Si el instrumento indica que existe crecimiento bacteriano antes se pasa a subcultivos inmediatamente.

Efectuar un subcultivo de los frascos de hemocultivos positivos en gelosa sangre, gelosa chocolate, gelosa sabouraud y agar MacConkey.

Además preparar un portaobjetos teñido mediante la tinción de Gram.

Observar el frotis para investigar la presencia de microorganismos.

### **MICROSCAN**

#### **IDENTIFICACION Y SUSCEPTIBILIDAD DE LOS MICROORGANISMOS AISLADOS DE LOS HEMOCULTIVOS POSITIVOS.**

Tomar 4 o 5 colonias similares morfológicamente de los cultivos en placas (sangre, chocolate, MacConkey, o Sabouraud) provenientes de los frascos de Bactec.

Emulsionar las colonias en agua pluronic.

Inocular la muestra en el panel correspondiente mediante sistema RENOK.

Incubar los paneles a 37°C por 24 hrs.

Realizar la lectura de paneles en sistema Micro Scan para su identificación y susceptibilidad.

Determinar la susceptibilidad de los microorganismos aislados de hemocultivos positivos por el sistema MicroScan, que se basa en métodos convencionales (NCCLS 1995).

## **PRUEBAS IN VITRO**

Se obtuvieron cepas tipo del American Tissue Culture Registry (ATCC) para *Escherichia coli* 25922, *Staphylococcus aureus* 25923, *Pseudomonas aeruginosa* 27853, *Candida albicans* 14053, y una cepa de subcultivo de *\*Klebsiella pneumoniae* utilizada como control en el laboratorio del INCan. Estas fueron utilizadas para realizar las siguientes pruebas.

### **REACTIVACION Y VERIFICACION DE LAS CEPAS ESTANDARIZADAS Y CLINICAS.**

Las cepas almacenadas en refrigeración se les reactivó elevando la temperatura progresivamente y sembrando de la siguiente manera:

*Staphylococcus aureus* por estría cruzada en agar sangre (Becton dickinson), *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *\*Klebsiella pneumoniae* por estría cruzada en agar MacConkey (Becton Dickinson), y *Candida albicans* en medio sabouraud (Becton Dickinson).

Se dejaron a 37°C durante 24 hrs. y en incubadora (Ríos Rocha de temperatura controlada).

Los crecimientos obtenidos puros fueron lavados con agua pluronic-D 25 ml. y se ajustó su turbidez con el tubo nº 5 de MacFarland.

Se hicieron diluciones de infusión cerebro corazón (BHI) (Becton Dickinson) a volúmen final de 10 ml.

Se crecieron las bacterias ATCC en medio BHI de Becton Dickinson, de ahí se hicieron diferentes diluciones con micropipetas automáticas (de 20 a 200 µl, y de 0.5 a 10 µl) siguiendo la siguiente relación (1:50, 1:100, 1:500, 1:1000, 1:2000, 1:4000, 1:5000, 1:7000, 1:8000 y 1:9000), en 10 ml. de cada bacteria.

1. Se sembraron las diferentes diluciones bacterianas inoculándolas con asa calibrada 0.001 µl, depositando la muestra en el centro de la caja en forma perpendicular a la línea del inóculo en medios (enriquecidos y selectivos) correspondientes para cada microorganismo.
2. Se incubó a 35°C por 24hrs.
3. Se realizó el conteo de colonias para cada cepa en cada dilución, obteniéndose el número de unidades formadoras de colonias.
4. Se seleccionaron las diluciones en las que se obtuvieron entre 1 y 50 colonias, 51 y 100 colonias y más de 101 colonias para inocular las botellas de Bactec.
5. Se inocularon en botellas bactec las diluciones seleccionadas para obtener su tiempo de detección y unidades fluorimétricas, mediante las curvas de positividad reportadas por el sistema Bactec 9120.

## **REVISIÓN DE EXPEDIENTES**

En la revisión de expedientes de los pacientes con hemocultivos positivos se buscaron los siguientes datos:

- edad
- sexo
- tipo de neoplasia
- estadio clínico
- terapia recibida para la neoplasia

datos clínicos al tiempo de la toma del hemocultivo (fiebre, tensión arterial, estado mental, foco infeccioso en otro sitio, neutropenia) tratamiento empírico y final para la septicemia.

Se consideró como bacteremia real a aquellos pacientes que tuvieran dos de tres de los siguientes datos:

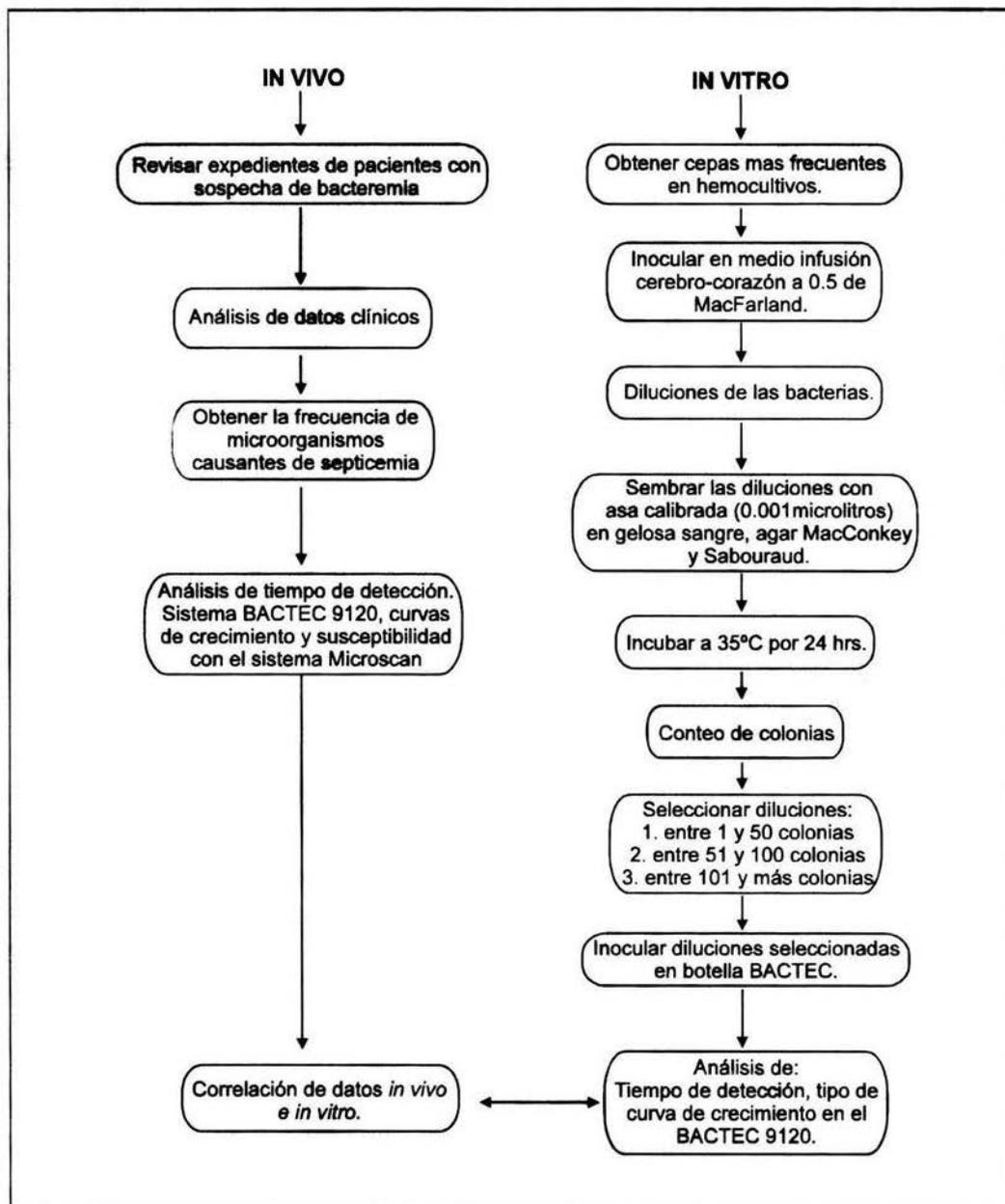
- fiebre.
- hipotensión arterial.
- foco infeccioso en otro sitio.

aunados al cultivo positivo en sangre. Aquellos que no cumplieron con estos requisitos fueron considerados pseudobacteremias.

En las curvas de crecimiento en el Bactec se estudió el tiempo en que el instrumento detectaba positividad y se correlacionó con datos clínicos en especial al considerar la bacteremia como causa de muerte.

Se hizo análisis de frecuencia de los microorganismos aislados, los diversos datos clínicos, y la frecuencia de bacteremias reales.

**Diagrama 1**  
**Correlación del estudio retrospectivo y prospectivo en sistema BACTEC 9120**



## **RESULTADOS Y DISCUSION DE HEMOCULTIVOS DE PACIENTES.**

### **DATOS GENERALES.**

Los datos obtenidos en cuanto a hemocultivos en el periodo entre agosto de 1995 y mayo de 1996. Como se puede ver existieron 690 cultivos de sangre en los que los médicos sospecharon bacteremia, teniendo un promedio de 98 hemocultivos mensuales. De estos, 239 (34.63%) fueron positivos, esto es que se detectó crecimiento con el sistema Bactec 9120 y que al realizar subcultivos éstos resultaron en el aislamiento de uno o más microorganismos. De las botellas subcultivadas a los 5 días, en las que el Bactec 9120 nos dió lecturas negativas, los subcultivos fueron negativos (no se aislaron microorganismos), por lo que se considera que no existieron falsos negativos. En la tabla 3 se observan los hemocultivos positivos que correspondieron a 106 pacientes, lo que indica que se tuvo más de un cultivo. Recordemos que es importante que se tenga más de un cultivo por paciente para obtener mayores posibilidades de detectar las bacteremias.

**TABLA 3 FRECUENCIA DE HEMOCULTIVOS, BACTEREMIAS Y PSEUDOBACTEREMIAS.**

|   |     |           |
|---|-----|-----------|
| Total de hemocultivos                         | 690 |           |
| Total de hemocultivos positivos               | 239 | (34.63 %) |
| Pacientes con septicemias                     | 75  | (70.75%)  |
| Pacientes con bacteremias                     | 31  | (29.24%)  |
| Total de pacientes con hemocultivos positivos | 106 | (29.24 %) |

En la tabla 4 podemos observar que la mayoría de nuestros pacientes tuvieron de 1 a 2 botellas de hemocultivo, decreciendo el número de casos con 3 de estos.

**TABLA 4 FRECUENCIA DE HEMOCULTIVOS POSITIVOS CUANDO SE TIENE UNA, DOS Ó MÁS.**

| Nº DE HEMOCULTIVOS | Nº DE PACIENTES  | TOTAL DE HEMOCULTIVOS | %          |
|--------------------|------------------|-----------------------|------------|
| 1                  | 31 (29.0%)       | 31                    | 12.97      |
| 2                  | 35 (33.0%)       | 70                    | 29.29      |
| 3                  | 22 (21.0%)       | 66                    | 27.62      |
| 4                  | 18 (17%)         | 72                    | 30.12      |
| <b>TOTAL</b>       | <b>106(100%)</b> | <b>239</b>            | <b>100</b> |

De los 106 pacientes registrados se reportaron 239 hemocultivos positivos, los cuales correspondieron a 18 pacientes con cuatro hemocultivos, 22 con tres, 35 con dos y 31 con un solo hemocultivo con un porcentaje de 57.7% de las muestras corresponden al 38% de los pacientes. Estos datos resultaron interesantes ya que en estudios previos realizados por Montoya (1995) en el laboratorio del INCAN la mayoría de los casos tuvieron un cultivo y una minoría 2 ó más. Esto puede indicar que existe una mayor conciencia por parte de los médicos para tomar más de un cultivo por paciente, lo que resulta en un incremento en la frecuencia de positividad y por tanto se ayuda a obtener mejores resultados.

## **RESULTADOS BACTERIOLOGICOS Y CORRELACION CLÍNICA.**

Los resultados de los aislamientos bacterianos en los primeros siete meses que se utilizó el sistema Bactec 9120, se presentan en la tabla 5. Como se puede observar las bacterias que se aislaron con mayor frecuencia fueron gram negativas y de estas la *Escherichia coli* es la que predomina. Esto es similar a lo que se ha encontrado en años previos en el INCAN. Las bacterias gram positivas solo se presentan en menos del 20% de los hemocultivos y las levaduras en 5%. Es interesante notar que los aislamientos polimicrobianos han disminuido; esto probablemente se debe a que el sistema Bactec disminuye la contaminación que si se puede presentar cuando se preparan los medios en forma casera, al momento de inocular las botellas (tapón estéril anterior al tapón de hule) y en el momento de las lecturas (ya que no se abre la botella, sino hasta que el cultivo es positivo).

Al hacer la diferenciación de las septicemias con las bacteremias, se encontró 75 pacientes con septicemia y 31 con bacteremias (tabla 5). Recordemos aquí que la presencia de microorganismos en sangre puede ser una situación transitoria debida a situaciones como el aseo dental, defecar y otras. En pacientes inmunosuprimidos las bacteremias cobran importancia ya que pueden sembrarse sitios con los microorganismos dando lugar después a septicemias (Inagaki 1974, Singer 1977, W.Mayo 1982, Weinstein 1991, Whimbey 1987).

**TABLA 5 FRECUENCIA DE MICROORGANISMOS AISLADOS EN PACIENTES Y SU RELACION CON SEPTICEMIA O BACTEREMIA.**

| MICROORGANISMOS   | N         | BACTEREMIA SIN SEPTICEMIA (%) | N         | SEPTICEMIA (%) |
|---|-----------|-------------------------------|-----------|----------------|
| <b>Estafilococos</b>  |           |                               |           |                |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i>   | 4         | 3.77                          | 2         | 1.88           |
| <i>Staphylococcus aureus</i>  |           |                               | 11        | 10.3           |
| <b>Estreptococos</b>  |           |                               |           |                |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i>   |           |                               | 6         | 5.66           |
| <i>Enterococos</i> *  |           |                               | 2         | 1.88           |
| Otros estreptococos **  | 3         | 2.83                          | 4         | 3.77           |
| <b>TOTAL</b>  | <b>7</b>  | <b>6.60</b>                   | <b>25</b> | <b>23.58</b>   |
| <b>Enterobacterias</b>  |           |                               |           |                |
| <i>Escherichia coli</i>   | 4         | 3.77                          | 15        | 3.77           |
| <i>Enterobacter sp</i>  | 5         | 4.71                          | 4         | 8.49           |
| <i>Klebsiella sp</i>  | 2         | 1.88                          | 9         | 0.94           |
| <i>Citrobacter sp</i>   | 1         | 0.92                          | 1         | 1.88           |
| <i>Serratia marcescens</i>  | 1         | 0.92                          | 2         |                |
| <i>Proteus mirabilis</i>  | 1         | 0.92                          |           |                |
| Otros ***   |           |                               | 2         | 31.13          |
| <b>TOTAL</b>  | <b>14</b> | <b>13.20</b>                  | <b>33</b> |                |
| <b>No Enterobacterias</b>   |           |                               |           | 8.49           |
| <i>Aeromona hydrophyla</i>  | 1         | 0.94                          |           |                |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i>   | 3         | 2.83                          | 9         | 1.88           |
| <i>Acinetobacter baumannii</i>  | 1         | 0.94                          |           | 10.37          |
| <i>Xanthomona maltophilia</i>   | 1         | 0.94                          | 2         |                |
| <b>TOTAL</b>  | <b>6</b>  | <b>5.66</b>                   | <b>11</b> | <b>2.83</b>    |
| <b>Levaduras</b>  |           |                               |           | 0.94           |
| <i>Candida albicans</i>   | 2         | 1.88                          | 3         | 0.94           |
| <i>Candida tropicalis</i>   | 1         | 0.94                          | 1         | 5.66           |
| <i>Candida parapsilosis</i>   |           |                               | 1         |                |
| <i>Prototheca sp</i>  |           |                               | 1         |                |
| <b>TOTAL</b>  | <b>3</b>  | <b>2.83</b>                   | <b>6</b>  |                |
| <i>Haemophilus influenzae</i>   | 1         | .94                           |           |                |
| <b>TOTAL DE CULTIVOS POSITIVOS:</b>   | <b>31</b> |                               | <b>78</b> |                |
| *Polimicrobianos<br><i>Enterobacter agglomerans/Enterobacter cloacae.</i><br><i>Staphylococcus aureus/Candida albicans.</i> |           |                               |           |                |
| <b>TOTAL</b>  | <b>2</b>  | <b>1.88</b>                   |           |                |

**\*Estreptococos**

*Enterococo del grupo D*  
*Enterococo faecium*  
*Enterococo faecalis*

**\*\*Otros**

*Streptococcus beta hemolítico*  
*Streptococcus bovis*  
*Streptococcus morbillorum*  
*Streptococcus mitis*

**\*\*\*Enterobacterias**

*Enterobacter Cloacae*  
*Enterobacter agglomerans*  
*Klebsiella pneumoniae*

Se puede observar que en las bacterias gram positivas, el Instituto no parece tener el problema de enterococo resistente a vancomicina como sucede actualmente en muchos hospitales de los E.U.A. Sin embargo sí estamos viendo resistencia de los Enterococos a eritromicina, cefalotina y gentamicina. Por lo que toca a los bacilos gram negativos, el hospital tiene cepas altamente resistentes a ampicilina, incluso se está viendo con mayor frecuencia de resistencia imipenem, Piperacilina y Cefuroxime. En las tablas 6 y 7, se presentan los datos de suceptibilidad y resistencia de las bacterias que con mayor frecuencia fueron aisladas.

**TABLA 6 PORCENTAJE DE RESISTENCIA A DIFERENTES ANTIMICROBIANOS DE COCOS GRAM POSITIVOS EN HEMOCULTIVOS DE PACIENTES DEL INCAN, ENTRE AGOSTO DE 1995 Y MAYO DE 1996.**

|                                   | N              | TS    | RIF | TE                | OX    | AM    | P     | VA              | E     | CF    | AUG   | GM    | CP    |
|-----------------------------------|----------------|-------|-----|-------------------|-------|-------|-------|-----------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> | 2              |       | 50  | 50                | 50    | 100   | 100   | 0               | 50    | 0     | 0     | 50    | 50    |
| <i>Staphylococcus aureus</i>      | 11             | 20    | 0   | 27.7              | 18.18 | 9.09  | 9.09  | 0               | 45.45 | 18.18 | 18.18 | 0     | 9.09  |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i>   | 6              | 16.66 | 50  | 33.33             | 50    | 33.33 | 33.33 | 0               | 16.66 | 16.66 | 33.33 | 33.33 | 33.33 |
| <i>Enterococos</i>                | 2              | 50    | 50  | 50                | 50    | 50    | 50    | 0               | 100   | 100   | 10    | 100   | 10    |
| Otros estreptococos               | 4              | 20    | 25  | 50                | 25    | 50    | 50    | 0               | 20    | 50    | 25    | 20    | 25    |
| <b>N = No. de cepas</b>           |                |       |     |                   |       |       |       |                 |       |       |       |       |       |
| T/S Trimethoprim Sulfamethoxazole | P Penicilina   |       |     | AM Ampicilina     |       |       |       | Te Tetraciclina |       |       |       |       |       |
| AUG Amoxicilina/K Clavulanate     | GM Gentamicina |       |     | CP Ciprofloxacina |       |       |       | Ox Oxacilina    |       |       |       |       |       |
| Rif Rifampicina                   | E Eritromicina |       |     | Va Vancomicina    |       |       |       | CF Cefalotina   |       |       |       |       |       |

**TABLA 7 PORCENTAJE DE RESISTENCIA A DIFERENTES ANTIMICROBIANOS DE BACILOS GRAM NEGATIVOS EN HEMOCULTIVOS DE PACIENTES DELL INCAN, ENTRE AGOSTO DE 1995 Y MAYO DE 1996.**

| Enterobacterias                | N  | Cp    | AM   | IMP | PI  | CRM | AK    | CAZ  | CAX   | AZT   | CFT  | TS | GM   | TO  |
|--------------------------------|----|-------|------|-----|-----|-----|-------|------|-------|-------|------|----|------|-----|
| <i>Escherichia coli</i>        | 15 | 13.33 | 53.3 | 30  | 40  | 30  | 14    | 6    | 10    | 13.33 | 3.33 | 25 | 14   | 10  |
| <i>Enterobacter cloacae</i>    | 4  | 0     | 50   | 2   | 2   | 20  | 2     | 2    | 5     | 5     | 5    | 0  | 0    | 0   |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i>   | 9  | 50    | 100  | 10  | 50  | 30  | 11.11 | 10   | 11.11 | 10    | 20   | 20 | 50   | 10  |
| <i>Citrobacter frundii</i>     | 1  | 10    | 100  | 100 | 10  | 100 | 10    | 20   | 10    | 10    | 10   | 10 | 10   | 10  |
| <i>Serratia marcescens</i>     | 2  | 10    | 100  | 30  | 50  | 100 | 50    | 20   | 50    | 20    | 20   | 50 | 50   | 50  |
| <i>Morganella morganii</i>     | 2  | 20    | 100  | 100 | 50  | 50  | 20    | 0    | 50    | 50    | 50   | 50 | 20   | 10  |
| No-Enterobacterias             | N  | Cp    | AM   | IMP | PI  | CRM | AK    | CAZ  | CAX   | AZT   | CFT  | TS | GM   | TO  |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i>  | 9  | 15    | 80   | 10  | 10  | 40  | 15    | 22.2 | 0     | 40    | 10   | 80 | 44.4 | 40  |
| <i>Xanthomonas maltophilia</i> | 2  | 100   | 100  | 100 | 100 | 100 | 0     | 100  | 100   | 100   | 100  | 0  | 50   | 100 |

**N = No. de cepas**

CP Ciprofloxacina

CFT Cefotaxime

TS Trimethoprim/sulfamethoxazol

AM Ampicilina

CRM Cefuroxime

AK Amikacina

IMP Imipenem

AZT Aztreonam

CAZ Ceftazidime

PI Piperacilina

GM Gentamicina

CAX Ceftriaxona

To tobramicina

En cuanto a las neoplasias hematológicas (24 casos, 13 con linfomas y 11 con leucemias) presentan con mayor frecuencia septicemias como se observa en la tabla 8, esto probablemente se debe a que la misma neoplasia deja severos defectos en el sistema inmune así como a la terapia para ellas ya que se merma de forma notable a la médula ósea. Le siguen en frecuencia los cánceres de mama, esto posiblemente se debe a la quimioterapia que se les da a estas pacientes. La frecuencia de los cánceres en este trabajo contrasta con lo que sucede a nivel nacional, ya que sabemos que el tumor maligno más frecuente es el cérvico-uterino, sin embargo a éste se le trata con radioterapia y cirugía por lo que el sistema inmune no se compromete de manera fundamental y por tanto los pacientes no son susceptibles a septicemia con la frecuencia de otras neoplásias .

**TABLA 8 TIPOS DE NEOPLASIA Y MICROORGANISMOS CAUSANTES DE SEPTICEMIA.**

| TIPO DE NEOPLASIA   | MICROORGANISMOS                      | %      |
|---|--------------------------------------|--------|
| Cáncer de mama<br>(12 casos)<br>gram + (4)<br>gram - (7)<br>levaduras 1               | <i>Xanthomonas maltophilia</i>       | 1 1.33 |
|   | <i>Staphylococcus epidermidis</i>    | 1 1.33 |
|   | <i>Candida albicans</i>              | 1 1.33 |
|   | <i>Pseudomonas aeruginosa</i>        | 2 2.66 |
|   | <i>Klebsiella pneumoniae</i>         | 2 2.66 |
|   | <i>Escherichia coli</i>              | 2 2.66 |
|   | <i>Staphylococcus aureus</i>         | 3 4    |
| Cáncer de ovario<br>(8 casos)<br>gram + (1)<br>gram - (6)<br>levaduras 1              | <i>Klebsiella pneumoniae</i>         | 1 1.33 |
|   | <i>Enterobacter cloacae</i>          | 1 1.33 |
|   | <i>Enterobacter agglomerans</i>      | 1 1.33 |
|   | <i>Staphylococcus aureus</i>         | 1 1.33 |
|   | <i>Candida tropicalis</i>            | 1 1.33 |
|   | <i>Escherichia coli</i>              | 3 4    |
| Cáncer cérvico uterino<br>(9 casos)<br>gram + (1)<br>gram - (8)                       | <i>Klebsiella pneumoniae</i>         | 1 1.33 |
|   | <i>Serratia marcescens</i>           | 1 1.33 |
|   | <i>Citrobacter freundii</i>          | 1 1.33 |
|   | <i>Enterobacter agglomerans</i>      | 1 1.33 |
|   | <i>Enterococo faecium</i>            | 1 1.33 |
|   | <i>Escherichia coli</i>              | 1 1.33 |
|   | <i>Pseudomonas aeruginosa</i>        | 3 4    |
| Cáncer de pulmón<br>(9 casos)<br>gram + (6)<br>gram - (2)<br>levaduras                | <i>Staphylococcus aureus</i>         | 1 1.33 |
|   | <i>Escherichia coli</i>              | 1 1.33 |
|   | <i>Klebsiella pneumoniae</i>         | 1 1.33 |
|   | <i>Candida parapsilosis</i>          | 1 1.33 |
|   | <i>Streptococcus morbillorum</i>     | 1 1.33 |
|   | <i>Streptococcus pneumoniae</i>      | 4 4.33 |
| Mieloma múltiple<br>(6 casos)<br>gram + (3)<br>gram - (3)                             | <i>Streptococcus beta hemolítico</i> | 1 1.33 |
|   | <i>Staphylococcus aureus</i>         | 1 1.33 |
|   | <i>Streptococcus pneumoniae</i>      | 1 1.33 |
|   | <i>Xanthomonas maltophilia</i>       | 1 1.33 |
|   | <i>Escherichia coli</i>              | 2 2.66 |
| Linfoma no Hodking<br>(13 casos)<br>gram + (5)<br>gram - (7)<br>levaduras 1           | <i>Klebsiella pneumoniae</i>         | 1 1.33 |
|   | <i>Prototheca sp</i>                 | 1 1.33 |
|   | <i>Pseudomonas aeruginosa</i>        | 2 2.66 |
|   | <i>Streptococcus mitis</i>           | 2 2.66 |
|   | <i>Morganella morganni</i>           | 2 2.66 |
|   | <i>Escherichia coli</i>              | 2 2.66 |
|   | <i>Staphylococcus aureus</i>         | 3 4    |
| Leucemia linfoblástica aguda<br>(11 casos)<br>gram + (2)<br>gram - (7)<br>levaduras 2 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i>        | 2 2.66 |
|   | <i>Staphylococcus aureus</i>         | 2 2.66 |
|   | <i>Escherichia coli</i>              | 2 2.66 |
|   | <i>Candida albicans</i>              | 2 2.66 |
|   | <i>Klebsiella pneumoniae</i>         | 3 4    |
| Cáncer de recto<br>(7 casos)<br>gram + (3)<br>gram - (4)                              | <i>Staphylococcus epidermidis</i>    | 1 1.33 |
|   | <i>Streptococcus pneumoniae</i>      | 1 1.33 |
|   | <i>Enterococo faecalis</i>           | 1 1.33 |
|   | <i>Streptococcus havis</i>           | 1 1.33 |
|   | <i>Enterobacter agglomerans</i>      | 1 1.33 |
|   | <i>Escherichia coli</i>              | 2 2.66 |

Los datos clínicos de los pacientes permiten ver que en nuestra serie los organismos gram negativos presentan en más de la mitad de los casos neutropenia, son febriles el 45% y 30% presentan hipotensión. Mientras que las septicemias con cocos gram positivos presentan neutropenia en un tercio de los casos, y las levaduras raramente presentan síntomas. Los focos infecciosos secundarios más frecuentes fueron el genitourinario y el respiratorio .(Tabla 9)

| TABLA 9 DATOS CLINICOS DE PACIENTES CON SEPTICEMIA |                                   |       |                                   |       |                    |       |
|--|-----------------------------------|-------|-----------------------------------|-------|--------------------|-------|
| EPISODIOS  | MICROORGANISMOS<br>GRAM NEGATIVOS |       | MICROORGANISMOS<br>GRAM POSITIVOS |       | LEVADURAS          |       |
|  | Nº DE<br>PACIENTES                | %     | Nº DE<br>PACIENTES                | %     | Nº DE<br>PACIENTES | %     |
| Febril   | 34                                | 45.33 | 18                                | 24    | 3                  | 4     |
| Hipotensión  | 6                                 | 8     | 2                                 | 2.66  | 0                  | 0     |
| Choque séptico                                     | 17                                | 22.66 | 12                                | 48    | 1                  | 1.33  |
| Neutropenia  | 44                                | 58.66 | 25                                | 33.33 | 0                  | 0     |
|  |                                   |       |                                   |       |                    |       |
| Foco/infección<br>gastrointestinal                 | 20                                | 26.6  | 2                                 | 2.66  | 2                  | 2.66  |
| Genitourinario                                     | 9                                 | 12    | 2                                 | 2.66  | 1                  | 1.33  |
| Respiratorio                                       | 11                                | 14.66 | 20                                | 26.6  | 3                  | 4     |
| Hepático   | 2                                 | 2.66  | 1                                 | 1.33  | 0                  | 0     |
| Renal  | 2                                 | 2.66  | 0                                 | 0     | 0                  | 0     |
|  |                                   |       |                                   |       |                    |       |
| Mortalidad   | 23                                | 52%   | 5                                 | 20%   | 2                  | 33.3% |
| TOTAL DE<br>BACTEREMIAS                            | 75                                |       |                                   |       |                    |       |

Por último, quisiera llamar la atención hacia la mortalidad en este grupo de pacientes. Es importante notar que aquellas septicemias por bacilos gram negativos tienen una alta mortalidad, no así aquellas causadas por gram positivos. Dos de los seis casos con levaduras resultaron en muerte.

## **RESULTADOS Y DISCUSION DE ESTUDIO IN VITRO. ANÁLISIS DE CRECIMIENTO EN EL BACTEC 9120 DE CEPAS TIPO.**

Los resultados que se obtuvieron por conteo de colonias en las diluciones realizadas para la selección de inóculo en botellas BACTEC se observan en la siguiente tabla.

| <b>Tabla 10.</b> |                         |                              |                              |                                |                         |
|------------------|-------------------------|------------------------------|------------------------------|--------------------------------|-------------------------|
| <b>DILUCION</b>  | <i>Escherichia coli</i> | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | <i>Staphylococcus aureus</i> | <i>*Pseudomonas aeruginosa</i> | <i>Candida albicans</i> |
| 1:50             | 600                     | 195                          | 5500                         | 750                            | 1120                    |
| 1:100            | 127                     | 79                           | 550                          | 304                            | 54                      |
| 1:500            | 93                      | 75                           | 448                          | 205                            | 23                      |
| 1:1000           | 81                      | 47                           | 246                          | 134                            | 20                      |
| 1:1500           |                         |                              | 200                          |                                | 12                      |
| 1:2000           | 70                      | 14                           | 158                          | 48                             | 7                       |
| 1:4000           | 50                      |                              | 135                          | 45                             |                         |
| 1:5000           | 47                      |                              | 122                          | 14                             |                         |
| 1:7000           |                         |                              | 118                          |                                |                         |
| 1:8000           | 21                      |                              | 90                           |                                |                         |
| 1:9000           | 14                      |                              | 76                           |                                |                         |

NOTA:\* Cepas tipo ATCC

Los datos de las cepas ATCC que reporta como positivos el Bactec 9120 en cuanto al tiempo y las unidades fluorométricas se presentan en la tabla 11.

| TABLA 11 TIEMPO Y NUMERO DE UNIDADES FLUORIMETRICAS EN QUE LAS DILUCIONES DE LAS CEPAS CONTROL DIERON RESULTADOS POSITIVOS. |          |      |                               |      |                         |
|---|----------|------|-------------------------------|------|-------------------------|
| MICROORGANISMO  | DILUCION | UFC* | TIEMPO DE DETECCIÓN EN HORAS. | X    | UNIDADES FLUOROMETRICAS |
|   | 1:500    | 93   | 2:50                          | 2.33 | 35238                   |
| <i>Escherichia coli</i>   | 1:4000   | 50   | 2:50                          |      | 38178                   |
|   | 1:9000   | 14   | 2:00                          |      | 35643                   |
|   |          |      |                               |      |                         |
| <i>*klebsiella pneumoniae</i>   | 1:100    | 79   | 3.33                          | 2.94 | 59729                   |
|   | 1:1000   | 47   | 2.83                          |      | 37054                   |
|   | 1:2000   | 14   | 2.67                          |      | 31389                   |
|   |          |      |                               |      |                         |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i>   | 1:1000   | 134  | 6:67                          | 8.10 | 38819                   |
|   | 1:2000   | 48   | 9.98                          |      | 35320                   |
|   | 1:5000   | 14   | 7.67                          |      | 34359                   |
|   |          |      |                               |      |                         |
| <i>Staphylococcus aureus</i>  | 1:100    | 550  | 4.84                          | 4.08 | 37433                   |
|   | 1:1500   | 200  | 3.67                          |      | 39397                   |
|   | 1:5000   | 122  | 4.34                          |      | 30354                   |
|   | 1:9000   | 76   | 3.50                          |      | 30822                   |
|   |          |      |                               |      |                         |
| <i>Candida albicans</i>   | 1:100    | 54   | 11.92                         | 8.92 | 36214                   |
|   | 1:1000   | 20   | 7.51                          |      | 38400                   |
|   | 1:2000   | 7    | 7.35                          |      | 29135                   |

\*Nota UFC = Conteo de colonias en placas a la dilución.

X = Promedio de los tiempos.

Es interesante notar que no importa la concentración de bacterias presentes en las botellas, cada cepa es reportada por el instrumento como positiva en un tiempo determinado (Appelbaum 1983, S Nolte 1993, T.Kelly 1991, W. Mayo 1982) por lo tanto no hay correlación de las curvas de crecimiento con los diferentes aspectos clínicos de los pacientes. Las 2 bacterias que presentan positividad en menos tiempo son *Escherichia coli* y *\*Klebsiella pneumoniae* en aproximadamente 2 horas y media.

En lugar intermedio están los *Staphylococcus aureus* y aquellos que tardan más tiempo en ser detectados son *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans* con un promedio de 8 horas y sin importar la concentración bacteriana presente. Las unidades fluorimétricas para decidir si hay crecimiento tienen un rango entre 29135 y 59727 con un promedio de 39000 unidades.

Estos hallazgos son diferentes a lo que lógicamente uno podría pensar. Uno supone que al disminuir el número de colonias inoculadas en el medio el instrumento tardará más tiempo en obtener positividad, sin embargo esto no es así. Posiblemente los sensores en el sistema están diseñados para detectar la menor cantidad de CO<sub>2</sub> producido, no importando el volumen, así que suponemos que los tiempos de positividad van en relación con el tiempo de doblaje de cada tipo de bacteria, esto es aquellas con tiempo de doblaje corto son detectadas más rápido que aquellas con tiempos de doblaje más largo (Auckenthaler 1982, Becton Dickinson 1995, S. Nolte 1993, L.Wilson 1993).

## **ANALISIS DE CRECIMIENTO EN EL BACTEC 9120 DE BACTERIAS DERIVADAS DE PACIENTES.**

Es interesante notar que para todas las bacterias gram positivas y negativas existe gran variabilidad, cosa que no parece suceder con las levaduras. Por esto concluimos que es posible que el tiempo de positividad vaya en relación a la cepa y no tanto en cuanto al número de colonias presentes. Esto es, habrá cepas de *Escherichia coli* que crezcan en 4 horas, mientras que habrá otras que tardan hasta 22 horas, y esta variabilidad puede relacionarse con los antibióticos o antiqumioterapicos presentes en el paciente. En las tablas 12, 13 y 14 se presentan los datos de los pacientes con septicemia en cuanto al tiempo de detección de las bacterias y las unidades fluorimétricas.

**TABLA 12 TIEMPO DE DETECCIÓN Y UNIDADES FLUORIMÉTRICAS DE ORGANISMOS GRAM NEGATIVOS DETECTADOS DE PACIENTES CON SEPTICEMIA**

| MICROORGANISMOS                 | N  | TIEMPO DE DETECCIÓN EN HORAS | X     | UNIDADES FLUORIMÉTRICAS |
|---------------------------------|----|------------------------------|-------|-------------------------|
| <i>Enterobacter agglomerans</i> | 3  | 10.90                        | 11.78 | 39492                   |
|                                 |    | 18.90                        |       | 37289                   |
|                                 |    | 5.54                         |       | 37103                   |
| <i>Xanthomona maltophilia</i>   | 2  | 14.00                        | 18.73 | 44573                   |
|                                 |    | 23.46                        |       | 29961                   |
| <i>Morganella morganii</i>      | 2  | 3.00                         | 10.25 | 37459                   |
|                                 |    | 17.50                        |       | 59609                   |
| <i>Escherichia coli</i>         | 15 | 6.23                         | 11.64 | 36887                   |
|                                 |    | 13.53                        |       | 36731                   |
|                                 |    | 4.01                         |       | 39406                   |
|                                 |    | 15.53                        |       | 93108                   |
|                                 |    | 12.48                        |       | 32854                   |
|                                 |    | 12.54                        |       | 37971                   |
|                                 |    | 11.17                        |       | 41884                   |
|                                 |    | 6.69                         |       | 37147                   |
|                                 |    | 23                           |       | 36169                   |
|                                 |    | 3.45                         |       | 39526                   |
|                                 |    | 18.84                        |       | 45868                   |
|                                 |    | 22.67                        |       | 38761                   |
|                                 |    | 9.38                         |       | 32881                   |
|                                 |    | 5.25                         |       | 43201                   |
|                                 |    | 9.93                         |       | 39139                   |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i>   | 9  | 1.00                         | 7.42  | 41116                   |
|                                 |    | 15.28                        |       | 32900                   |
|                                 |    | 9.81                         |       | 32925                   |
|                                 |    | 13.50                        |       | 36916                   |
|                                 |    | 3.32                         |       | 44210                   |
|                                 |    | 9.27                         |       | 35749                   |
|                                 |    | 3.86                         |       | 38979                   |
|                                 |    | 5.71                         |       | 35939                   |
|                                 |    | 5.07                         |       | 48858                   |
| <i>Enterobacter cloacae</i>     | 1  | 10.90                        | 10.09 | 39492                   |
| <i>Citrobacter freundii</i>     | 1  | 11.01                        | 11.01 | 44053                   |
| <i>Serratia marcescens</i>      | 2  | 15.91                        | 12.07 | 42365                   |
|                                 |    | 9.50                         |       | 37579                   |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i>    | 9  | 10.03                        | 13.37 | 33203                   |
|                                 |    | 10.38                        |       | 34066                   |
|                                 |    | 16.02                        |       | 33698                   |
|                                 |    | 1.00                         |       | 52864                   |
|                                 |    | 4.03                         |       | 35937                   |
|                                 |    | 48                           |       | 39564                   |
|                                 |    | 6.79                         |       | 38182                   |
|                                 |    | 20.61                        |       | 41516                   |
|                                 |    | 3.55                         |       | 40623                   |
| <b>TOTAL 44 BACTEREMIAS.</b>    |    |                              |       |                         |

Nota: N = número de casos con esa bacteria.

X = promedio de horas en que se obtuvo el resultado positivo.

**TABLA 13 TIEMPO DE DETECCION Y UNIDADES FLUORIMETRICAS DE MICROORGANISMOS GRAM POSITIVOS DE PACIENTES CON SEPTICEMIA.**

| MICROORGANISMO                       | N  | TIEMPO DE DETECCION EN HORAS | X     | UNIDADES FLUORIMETRICAS |
|--------------------------------------|----|------------------------------|-------|-------------------------|
| <i>Staphylococcus epidermidis</i>    | 2  | 13.79                        | 7.64  | 34593                   |
|                                      |    | 1.50                         |       | 37503                   |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i>      | 6  | 5.95                         | 11.08 | 43266                   |
|                                      |    | 20.38                        |       | 31456                   |
|                                      |    | 0.80                         |       | 34673                   |
|                                      |    | 25.25                        |       | 34359                   |
|                                      |    | 11.53                        |       | 36076                   |
|                                      |    | 2.60                         |       | 40167                   |
| <i>Enterococo faecalis</i>           | 2  | 2.34                         | 6.2   | 36214                   |
|                                      |    | 10.06                        |       | 37780                   |
| <i>Streptococcus mitis</i>           | 2  | 20.10                        | 14.65 | 41106                   |
|                                      |    | 9.21                         |       | 37487                   |
| <i>Streptococcus Beta hemolitico</i> | 1  | 21.56                        | 21.56 | 48177                   |
| <i>Enterococo faecium</i>            | 1  | 10.21                        | 10.21 | 37409                   |
| <i>Staphylococcus aureus</i>         | 11 | 3.32                         | 15.54 | 44210                   |
|                                      |    | 20.62                        |       | 37894                   |
|                                      |    | 18.15                        |       | 40125                   |
|                                      |    | 23.10                        |       | 35866                   |
|                                      |    | 1.00                         |       | 33582                   |
|                                      |    | 18.98                        |       | 42098                   |
|                                      |    | 1.00                         |       | 36123                   |
|                                      |    | 23.84                        |       | 37733                   |
|                                      |    | 48.75                        |       | 45564                   |
|                                      |    | 2.03                         |       | 47838                   |
|                                      |    | 10.22                        |       | 34052                   |
| <b>TOTAL 25 BACTEREMIAS.</b>         |    |                              |       |                         |

Nota: N = número de pacientes con esa bacteria.

X = promedio en horas en que se obtuvo el resultado positivo.

El sistema Bactec intenta con las resinas atrapar antibióticos pero no se toman en cuenta otros medicamentos que podrían también afectar el crecimiento de las bacterias.

**TABLA 14 TIEMPO DE DETECCIÓN Y UNIDADES FLUORIMÉTRICAS DE LEVADURAS DE PACIENTES CON SEPTICEMIA.**

| MICROORGANISMOS                             | TIEMPO DE DETECCIÓN EN HORAS | X     | UNIDADES FLUORIMÉTRICAS |
|---|------------------------------|-------|-------------------------|
| <i>Candida albicans</i>                     | 23.95                        | 22.60 | 48070                   |
|   | 20.62                        |       | 37814                   |
|   | 20.26                        |       | 35948                   |
| <i>Candida tropicalis</i>                   | 20.39                        |       | 33021                   |
| <i>Candida parapsilosis</i>                 | 16.17                        |       | 36170                   |
| <i>Protoheca sp</i>                         | 34.26                        |       | 51768                   |
| <b>TOTAL 6 BACTEREMIAS DE 75 PACIENTES.</b> |                              |       |                         |

Nota: X = Promedio en horas en que se obtuvo el resultado positivo.

## **COMPARACIÓN DE CRECIMIENTO ENTRE CEPAS TIPO Y BACTERIAS PROVENIENTES DE PACIENTES.**

Es evidente que existen variaciones entre la media de los pacientes y las cepas de la ATCC para *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *\*Klebsiella pneumoniae* y *Candida albicans*. En la tabla 15 se presentan los tiempos de crecimiento y positividad de las bacterias provenientes de pacientes y de las cepas tipo.

| <b>TABLA 15. COMPARACION DE TIEMPO DE CRECIMIENTO ENTRE CEPAS TIPO Y BACTERIAS PROVENIENTES DE PACIENTES</b> |  |   |
|--|--|---|
| <b>MICROORGANISMOS</b>   | <b>TIEMPO ESTANDARIZADO EN HORAS DE CEPAS TIPO</b> | <b>TIEMPO DE DETECCION EN HORAS DE BACTERIAS EN PACIENTES</b> |
| <i>Escherichia coli</i>  | 2.33   | 11.64   |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i>  | 8.10   | 7.42  |
| * <i>Klebsiella pneumoniae</i>   | 2.94   | 13.37   |
| <i>Staphylococcus aureus</i>   | 4.08   | 15.54   |
| <i>Candida albicans</i>  | 8.92   | 22.60   |

Estas diferencias son las mismas observadas entre las diferentes cepas de los pacientes por lo que suponemos que los tiempos en que el instrumento da como positivo un cultivo, van de acuerdo con la cepa bacteriana y no con la carga bacteriana como se mostró en la tabla 11.

## CONCLUSIONES

- En pacientes oncológicos del Instituto Nacional de Cancerología el microorganismo más frecuentemente causante de bacteremias, fué el bacilo gram negativo *Escherichia coli*, mientras que *Staphylococcus aureus* para cocos gram positivos.
- El sistema BACTEC reporta curvas de tiempos de detección de acuerdo a la producción de CO<sub>2</sub>, de cualquier microorganismo presente en la muestra sin importar cantidades de estos mismos.
- El sistema BACTEC reportó en menores tiempos curvas de producción de CO<sub>2</sub> de cepas estandarizadas, a diferentes concentraciones.
- A través del sistema BACTEC se obtienen tiempos de positividad en los hemocultivos sin importar tratamiento.
- El perfil de susceptibilidad de los cocos gram positivos presenta una elevada resistencia a los β-láctamicos como la ampicilina y la penicilina.
- Las enterobacterias muestran una mayor resistencia a la piperacilina y cotrimazol.
- La resistencia del grupo de las no enterobacterias es alta para aminoglucósidos.

- Las septicemias causadas por bacterias gram negativas presentan síntomas con mayor frecuencia que las causadas por bacterias gram positivas y levaduras.
- Los pacientes con neoplasias hematológicas y cáncer de mama son los que con mayor frecuencia se asocian con bacteremia y septicemia.

## BIBLIOGRAFÍA

- Amábile Cuevas F.Carlos: La resistencia bacteriana a los antibióticos. **Centro de investigación y estudios IPN** 1988, p.57-68.
- Appelbaum. P.C, Beckwith D. G, Dipersio J.R, Dyke W.J, Salventi. F. and Larry L. Stone: Enhanced detection of bacteremia with a new Bactec resin blood culture medium. **J. Clin. Microbiol.** 1983, 17: 48 -51.
- Aronson. Mark D. and Bor D.H: Blood cultures. **Annals. of internal. Med.** 1987, 106 : 246-254.
- Auckenthaler, D. M. and J. A. Washington: Comparison of recovery of organisms from blood cultures diluted 10% (volume/volume) and 20% (volume/volume). **J. Clin Microbiol.** 1982, 15:860-864.
- Ballows. A., W. J. Hausler, K. L. Herman, H.D. Isenberg, and H, J. Shadomy (Eds.), 1991. **MANUAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY**, 5<sup>th</sup> ed. American Society for Microbiology, Washington D.C
- Bannister Elena and Edward: Detection of yeast septicemia by biphasic and radiometric methods. **J. Clin. Microbiol.** 1981, 13 : 655-660.
- Becton Dickinson. **Diagnostic instrument systems** - catalog. No 4402192. (Aerobic); U.S.A.1993
- Bille. J; Randall S.: Clinical evaluation of the lysis centrifugation blood culturs system for the detection of fungemia and comparison with conventional biphasic broth blood culture system. **J. Clin. Microbiol.** 1984, 12: 126-28

- Bodey G. P.: Klebsiella bacteremia; A 10 year review in a cancer institution. **Cancer**. 1989, 64: 2368-2376.
- Bonadonna Gianni, Gioacchino Robustelli Della Cuna, 1983. **MANUAL DE ONCOLOGIA MEDICA**, Ed. masson. Barcelona. p. 881-904.
- Craig Wallis, Joseph L. Melnick, Ruben. D. Wende and Phyllis E. Riely: Rapid isolation of bacteria from septicemic patients by use of an antimicrobial agent removal device. **J. Clin. Microbiol.** 1980, 11: 462-464.
- Damaso Diego. 1990. **ANTIBACTERIANOS**. Ed. Marketing Pharm, S. A. Madrid.p. 158-90.
- Davis D. Bernard, Renato Dulbecco, Harold S. Ginsberg. 1985. **TRATADO DE MICROBIOLOGIA**. 3ª ed. Ed. Salvat cap. 5 Barcelona. p. 50-59, 94-106.
- Devita Vicent T. 1994. **CANCER** . Ed. Salvat Philadelphia. p 2088-2129.
- Doern. V. G. Gantz. N. M.: Detection of bacteremia in patients receiving antimicrobial therapy: An evaluation of the antibiotic removal device and 16 B medium .**J.Clin. Microbiol.** 1983, 18: 43-48.
- Doern. V. G. Smith. K.: New centrifugation blood culture device. **J. Clin. Microbiol.** 1978, 7: 52-54.
- Dwight J. Hardy, Barbara B. Hulbert. and Paula C. Migneault.: Time to detection of positive BacT/ Alert blood cultures and Lack of need for routine subculture of 5 to 7 day negative cultures. **J.Clin. Microbiol.** 1992, 30: 2743-2745.
- Farreras. P. Valentí, M. Dalmau. Ciria. 1992. **MEDICINA INTERNA DIAGNOSTICO Y TRATAMIENTO**.vol 1, Ed. Doyma, Barcelona, p.308-1294

- Inagaki Jiro., M. D, Rodríguez V., and Bodey Gerald P., M.D.: Causes of death in cáncer patients. **Cancer**. 1974, 33: 568-573
- Kiani. Daria., Edward. L. Quinn., Keith H. Burch., Tom Madhavan., Louis D. Saravolatz., Thomas R. Neblett, PhD.: The increasing Importance of Polymicrobial Bacteremia. **Jamer. Med. Assoc.** 1979, 242: 1044-1047
- Lowell. S. Young., : Nosocomial infections in the immuno compromised adult, **Am. J. Med.** 1981, 70: 398-403
- Mandell. L. Gerald. 1991. **ENFERMEDADES INFECCIOSAS**. vol. 1 Ed. panamericana, Buenos Aires. p. 311-665.
- Manual **MICRO-SCAN** dried panel quality control procedural. DADE ATCC. West. Sacramento, CA. U.S.A. 1995. p 2-32
- Manual de utilización. **Paneles gram positivos deshidratados**. U.S.A.1995. p 3-11
- Mayo. W. J., and Richard P. Wenzel, Rates of hospital - Acquired bloodstream infections in patients with specific malignancy. **CANCER**. 1982, 50: 187-190.
- McCABE W.R, M.D. Jackson G.G.: Gram negative bacteremia in clinical laboratory and therapeutic observations. **Arch. intern. Med.** 1962, 110: 856-864.
- Montoya Perez Patricia. 1995. Comparación de dos métodos de hemocultivos para aislamiento de microorganismos. Tesis. **UNIVERSIDAD MOTOLINIA**.
- Murray R. P.; Baron E. J. 1995. **MANUAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY**.The ASM Press. Washington DC. p. 1050-1059.
- Murray. R. P.: Comparison of the lysis centrifugation and agited biphasic blood culture system for detection of fungemia. **J.Clin. Microbiol.** 1991, 27: 96-98

**Faltan páginas**

**N° 50-51**

Weinstein. Melvin P, Mirret S, Wilson M. L.: Controlled evaluation of Bactec plus 26 and Roche Septi-check aerobic blood culture bottles. **J. Clin. Microbiol.** 1991, 29: 879-882.

Whimbey E, Timothy E.: Bacteremia and fungemia in patients with neoplastic disease. **Am. J. Med.** 1987, 82: 723-730.

Ej. 1 BO 1251/97

"ESTUDIO DE CARGA BACTERIANA IN VITRO  
EN SISTEMA BACTEC 9120 Y CORRELACION  
CON HEMOCULTIVOS DE PACIENTES DEL  
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRIA

ROMERO SERRANO, ADRIANA