

Microorganismos aislados de hemocultivos en 10 años en un hospital pediátrico de tercer nivel de atención

Blanca Leños Miranda,* Martha Abad Acosta,**
Fortino Solórzano Santos,***
Ma. Guadalupe Miranda Novales*

Isolates in blood-cultures ten years follow-up in a pediatric hospital

Fecha de aceptación: noviembre 2007

Resumen

Objetivo: reportar la frecuencia de aislamiento de microorganismos en hemocultivos en un periodo de 10 años en el Hospital de Pediatría (HP) CMN SXXI.

Material y métodos: se incluyeron todos los hemocultivos procesados en la sección de Microbiología del Laboratorio Clínico. Se les realizó siembra ciega y frote en las primeras 24 hrs. En los que existía sospecha de positividad se sembraron en gelosa sangre, chocolate y Mac Conkey. Todos los frascos de cultivo se incubaron a temperatura de 35-37 °C y se observaron durante 10 días. Aquellos en los que se sospechó infección micótica o brucelosis se conservaron por 21 días. A los 10 días se realizó una siembra ciega en gelosa sangre y se descartó que fuera negativa. El crecimiento bacteriano en cajas fue identificado de acuerdo con pruebas bioquímicas convencionales. Para el análisis se utilizó estadística descriptiva.

Resultados: se analizaron un total de 26 535 hemocultivos de 13 826 pacientes hospitalizados. Los porcentajes de positividad variaron de 17 a 21.9%. Las bacterias que se aislaron con mayor frecuencia durante este periodo fueron *Staphylococcus coagulasa* negativa (SCN), *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* y *Enterobacter spp.* La recuperación de *Streptococcus pneumoniae* y *Salmonella spp.* disminuyó y la de *Candida spp.* incrementó de 3.5 a 10%. Se presentó un brote por *Serratia marcescens* en 1995.

Conclusiones: el porcentaje de recuperación en hemocultivos es similar a lo reportado en la literatura. Los SCN son los microorganismos que han ocupado el primer lugar en frecuencia durante una década.

Palabras clave: hemocultivos, bacteremia, microorganismos.

Abstract

Objective. To inform the frequency of isolation of microorganisms in blood cultures during a 10 year period in the Hospital de Pediatría (HP) CMN SXXI.

Material and methods. All blood cultures were processed in the Microbiology section of the clinical laboratory. A blind subculture and smear was done in the first 24 h. Those with suspicion or positive for growth were subculture in blood, chocolate and Mac Conkey agar. The bottles were incubated at 35-37 °C and observed during 10 days. Those with diagnosis of mycotic infection or brucellosis were conserved for 21 days. At 10th day, a blind subculture was done in blood agar and discarded if negative. The growth in agar plates was identified according to conventional biochemical tests. **For the analysis we used descriptive statistics.**

Results. A total of 26,535 blood cultures obtained from hospitalized patients were reviewed. Frequency of positive cultures varied from 17% to 21.9%. The microorganisms isolated more frequently were coagulase-negative *Staphylococcus* (CNS), *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* and *Enterobacter spp.* Recuperation of *Streptococcus pneumoniae* and *Salmonella spp.* decreased and *Candida spp.* increased from 3.5 to 10%. An outbreak due to *Serratia marcescens* occurred in 1995.

Conclusions. Frequency of positive blood cultures was similar to different reports in the literature. CNS had maintained the first place during a decade.

Keywords: blood cultures, bacteremia, microorganism.

*Unidad de Investigación en Epidemiología Hospitalaria; ** División de Pediatría; *** Departamento de Infectología / Dirección Médica del Hospital de Pediatría Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS.

Autor correspondiente: Dra. María Guadalupe Miranda Novales.

Depto. de Infectología / Unidad de Investigación en Epidemiología Hospitalaria, Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS, Av. Cuauhtémoc 330, Col. Doctores, 06720, México D.F. Tel. 56276900 exts. 22462 y 22507.

Introducción

La bacteremia puede ser transitoria, intermitente o continua, y refleja diversos mecanismos básicos de entrada de bacterias en el torrente circulatorio. El hemocultivo es una de las pruebas más eficientes con las que cuentan los laboratorios de microbiología con el fin de comprobar la sospecha de microorganismos en la sangre. Existen numerosas presentaciones en el mercado, las cuales se basan en optimizar la recuperación de microorganismos presentes en la sangre con el uso de diversos medios de cultivo como la infusión cerebro corazón, caldo tripticosa soya, brucilla, entre otros, adicionados con sustancias como el polianetol sulfonato de sodio (SPS) que actúa como anticoagulante, además de tener propiedades antifagocíticas a una concentración de 0.025%,¹ sacarosa, vitaminas o resinas. El objetivo principal es contar con un producto que incremente, permita visualizar y agilizar la recuperación de microorganismos en aquellos pacientes en los que se sospeche sepsis.²⁻⁸

En las guías para el cultivo de sangre Cumitech I y IA, la Sociedad Americana de Microbiología da una serie de recomendaciones con el fin de estandarizar el cultivo de sangre, las cuales son un intento por recuperar el mayor número de agentes causales en una bacteremia utilizando la información de la experiencia de los artículos publicados, así como la importancia de realizar resiembras de los cultivos a las 24 horas. En la actualidad se realizan varios cambios a estas recomendaciones, por ejemplo la adición de resinas, mayor enriquecimiento o la adición de bioindicadores, algunos de ellos radiométricos, que nos permiten visualizar la presencia de metabolitos bacterianos. Para tal fin la mayoría utiliza aparatos o lectores de bioluminiscencia.⁸⁻¹⁰

Los sistemas para el cultivo de sangre a nivel pediátrico recomiendan utilizar un volumen de sangre de 0.5 a 10 ml, aunque los efectos de dicho volumen no se han podido establecer como un estándar, pues para cada uno de los diferentes pacientes y edades las recomendaciones varían; sin embargo, la dilución óptima de sangre para lograr una buena recuperación de microorganismos y controlar el efecto bactericida del suero es de 1:5 a 1:10, pero incluso en recién nacidos y lactantes una dilución de 1:100 puede detectar el crecimiento de 2 a 30 microorganismos/mL.¹¹⁻¹²

En el Hospital de Pediatría, durante varios años, se ha podido evaluar y comprobar la utilidad de algunas presentaciones comerciales antes de ser utilizadas por métodos comparativos como el sistema Vacu-

tainer Becton Dickinson, Bact-Alert Organon técnica, Hemocultín Sanofi, entre otros, hasta un microhemocultivo modificado en volumen, el cual conserva una dilución de medio/sangre de 1:10, con la utilización de 1.8 ml de medio líquido y 0.2 ml de sangre, en el que se encontró una sensibilidad de 95% y una especificidad del 99%, con valores predictivos positivo y negativo de 96 y 99%, respectivamente, con un tiempo de identificación de microorganismos en promedio de 72 horas.¹³

Es importante mantener estos sistemas de vigilancia, sobre todo cuando existen variaciones en los sistemas utilizados. En esta década que se reporta, el Hospital de Pediatría sufre varios cambios en estructura y se incrementan el número de pacientes que se atiende y el personal que en él labora. Por tanto, el objetivo de este estudio fue reportar la frecuencia de aislamiento de microorganismos en hemocultivos en un periodo de 10 años en el Hospital de Pediatría (HP) CMN SXXI.

Material y métodos

Se incluyeron todos los hemocultivos procesados en la sección de microbiología del laboratorio clínico, de enero de 1991 a diciembre de 2000. Las recomendaciones para la toma de la muestra incluyó desinfectar la vena a puncionar con tintura de yodo al 2%, aspirando el volumen necesario, 2 ml para el frasco pediátrico y 0.2 ml para el tubo de microhemocultivo (utilizado en recién nacidos y lactantes). Se recomienda siempre la toma de al menos dos hemocultivos periféricos, tomados con 30 min de diferencia y en un sitio diferente, y además un hemocultivo de catéter en caso de sospechar de una infección relacionada con este dispositivo. Se tomaron dos hemocultivos por edad de los niños hospitalizados. Para cada toma se recolectaron 2 ml para frasco pediátrico o 0.2 ml para microhemocultivo.

Los frascos o tubos inoculados se incubaron hasta 10 días, a 35-37 °C con observación diaria para buscar evidencias de crecimiento, y se realizaron resiembras periódicas de la siguiente manera: a las 24 horas se sembraron de 1 a 2 gotas de los frascos en cajas de petri con gelosa chocolate suplementada con factores V y X incubadas en atmósfera de CO₂; en caso de detección de alguna evidencia de crecimiento se sembraron en gelosa chocolate, gelosa sangre de carnero

al 5% y gelosa Mac Conkey y se realizó un frote. A los 10 días y sin evidencia de desarrollo de microorganismos se realizó siembra en cajas con gelosa sangre de carnero antes de descartarse como negativo.

La identificación de los microorganismos se realizó de acuerdo con las normas microbiológicas establecidas en el manual de microbiología clínica Murray con pruebas bioquímicas convencionales.¹⁴

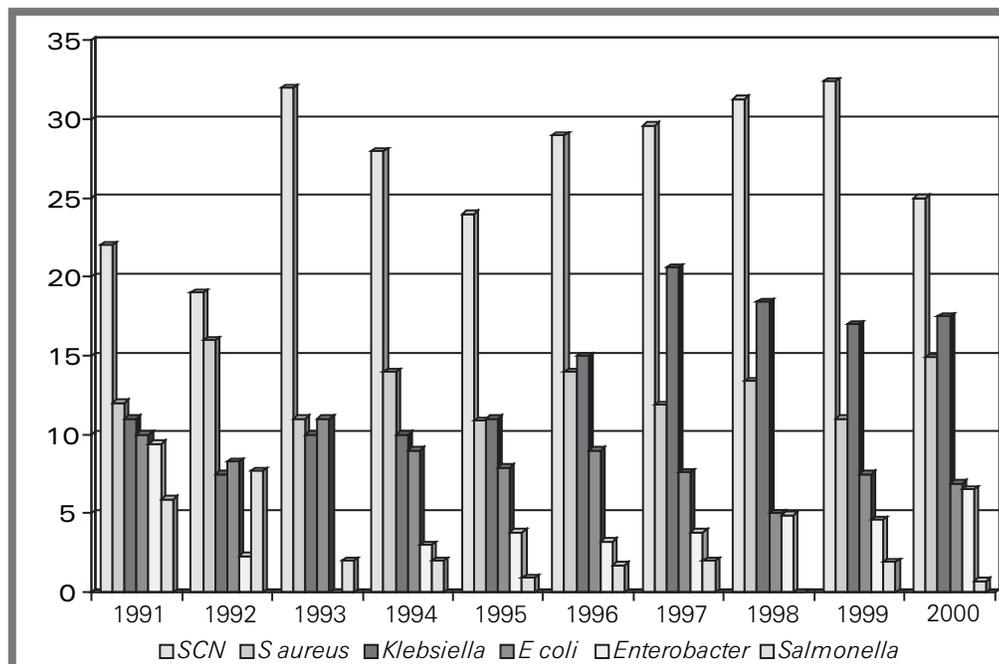
Resultados

Se analizaron un total de 26 535 hemocultivos de 13 826 pacientes hospitalizados, los porcentajes de positividad variaron de 17 a 21.9%. El número de hemocultivos incrementó a partir de 1992, cuando se inauguró el edificio donde se encuentra actualmente el HP, y se incrementó el número de camas y pacientes atendidos (Cuadro 1).

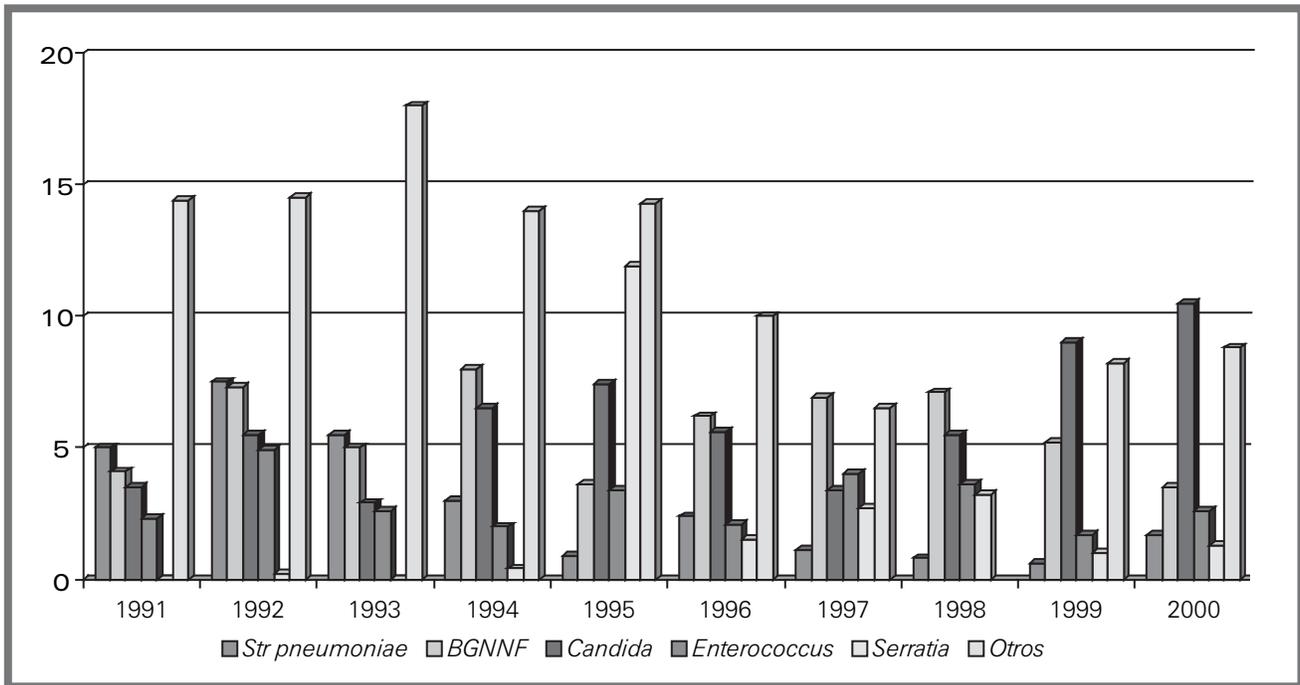
Cuadro 1
Número de hemocultivos procesados por año y frecuencia de resultados positivos

Año	Total	Núm. de positivos	Porcentaje
1991	1 552	340	21.9
1992	2 549	469	18.4
1993	2 188	455	20.8
1994	2 228	479	21.5
1995	2 855	580	20.3
1996	2 796	534	19.1
1997	3 044	554	18.2
1998	3 261	636	19.5
1999	2 909	522	17.8
2000	3 153	536	17.0
Total	26 535	5 105	19.4

Gráfica 1
Porcentaje de los seis microorganismos más frecuentemente aislados en sangre durante 1991 a 2000



Gráfica 2
 Porcentaje de aislamientos de microorganismos de 1991 a 2000
 *B GNNF = bacilos gram-negativos no fermentadores



Discusión

En el Cuadro 2 y las gráficas 1 y 2, se pueden observar el número y la frecuencia de microorganismos recuperados por año. Los *Staphylococcus coagulasa*-negativa ocupan el primer lugar en todo el periodo, seguidos inicialmente por *Staphylococcus aureus* y en los últimos cinco años por *Klebsiella pneumoniae*. En los primeros años el número de microorganismos clasificados como otros (diferentes especies de *Klebsiellas*, *Streptococcus spp.*, *Haemophilus* no tipificables, *Citrobacter*) es mayor, y disminuye al mismo tiempo que se incrementan los aislamientos de levaduras. La recuperación de *E. coli* se mantuvo casi igual y la de *Salmonella spp.* disminuyó a partir de 1992. *Streptococcus pneumoniae* disminuye a partir de 1995, los bacilos gram-negativos no fermentadores variaron poco (principalmente aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa*), y es evidente la aparición de aislamientos de *Serratia marcescens* en 1995, que correspondió a un brote en la unidad de cuidados intensivos neonatales del hospital, el cual se prolongó durante varios meses.

La importancia de contar con buenos procedimientos para la detección de microorganismos, sobre todo en la sangre, que es normalmente estéril, nos permite conocer los agentes con mayor frecuencia involucrados en los procesos infecciosos en pacientes atendidos en las unidades hospitalarias. También permite establecer la epidemiología y, junto con el resultado de los perfiles de susceptibilidad, dar apoyo a las recomendaciones que se incluyen en las guías diagnóstico terapéuticas.

En la década de 1990 la epidemiología del Hospital de Pediatría mostró que el grupo de cocos gram-positivos representaba el mayor número de aislamientos, sobre todo SCN. Las enterobacterias, y de ellas *Klebsiella pneumoniae*, se reportó con mayor frecuencia que en décadas anteriores, cuando *E. coli* era la más frecuente. Es posible que estos cambios se deban a la evolución y a los mecanismos de adaptación, principalmente adquisición de genes que les confieren resistencia, lo cual les permite diseminarse con mayor facilidad en los ambientes hospitalarios, gracias a la

presión selectiva que ejercen los antimicrobianos. En particular para la familia *Enterobacteriaceae* se observó un incremento importante a partir de 1997, y posteriormente se observa el predominio de *Klebsiella pneumoniae* por sobre los otros géneros.¹⁵

La aparición de un microorganismo diferente a los previamente aislados, o en un canal endémico superior al registrado en años anteriores, indica la presencia de un brote. Estos brotes epidémicos pueden convertirse fácilmente en infecciones endémicas cuando no se establece un reconocimiento temprano y se instalan las medidas necesarias para su control. Aparentemente en esta revisión, el único brote que se observó fue el debido a *Serratia marcescens*.¹⁶

Actualmente son necesarias las técnicas de biología molecular para establecer la relación clonal (origen genético) de las bacterias causantes de las infecciones nosocomiales, por lo que ante incrementos en la frecuencia que rebasan el canal endémico, aun con microorganismos habitualmente aislados, se deben realizar investigaciones dirigidas a eliminar la posibilidad de transmisión horizontal.

De lo anterior podemos concluir que la información sistematizada de los resultados del laboratorio de microbiología nos permite conocer la epidemiología de un hospital, identificar brotes y áreas de riesgo, indispensables para reforzar y dirigir las medidas de control.

Bibliografía

- Hall MM, Warren E, Ilstrup DM, Washington JA. *Comparison of Amylosulfate and Sodium Polyanetholsulfonate in Blood Culture Media*. J Clin Microbiol 1976; 3(2): 212-213.
- Szymczak EG, Barr JT, Durbin WA, Goldmann DA. *Evaluation of Blood Culture Procedures in Pediatric Hospital*. J Clin Microbiol 1979; 8(1): 88-92.
- Schell RF, Le Frock JL, Babu JP, Robinson DB. *Recovery of Haemophilus influenzae from Twenty Three Blood Culture Media*. J Clin Microbiol 1979; 9(1): 84-87.
- Maq Donald LC, Fune J, Gaido LB, Weinstein MP, Reimer LG, Flynn TM, Wilson ML, Mirrett S, Reller LB. *Clinical Importance of Increased Sensitivity of Bact/Alert Fan Aerobic and Anaerobic Blood Culture Bottles*. J Clin Microbiol 1996; 34(9): 2180-2184.
- Einstein MP, Mirrett S, Wilson ML, Harrell LJ, Stratton CW, Reller LB. *Controlled Evaluation of Bactec Plus 26 and Roche Septic-Chek aerobic Blood Culture Bottles*. J Clin Microbiol 1991; 29(5): 879-882.
- Wilson ML, Harrell LJ, Mirrett S, Weinstein MP, Stratton CW, Reller LB. *Controlled Evaluation of Bactec Plus 27 and Roche Septic-Chek Anaerobic Blood Culture Bottles*. J Clin Microbiol 1992; 30(1): 63-66.
- Murray PR, Spizzo AW, Niles AC. *Clinical Comparison of the Recoveries of Bloodstream Pathogens in Septic-Chek Brain Heart Infusion Broth with Saponin, Septic-Chek Tryptic Soy Broth, and the Isolator Lysis Centrifugation System*. J Clin Microbiol 1991; 29(5): 901-905.
- Doern GV. *Manual blood culture systems and the antimicrobial removal device*. Clin Lab Med 1994; 14(1): 133-134.
- Bartlett RC, Ellner PD, Washington JA, Sherris JC. *Blood Cultures*. Cumitech I 1973: 1-6.
- Reller LB, MacLowry JD, Washington JA. *Blood Cultures II*. Cumitech I A 1982: 1-11.
- Hurst MK, Yoder BA. *Detection of Bacteremia in Young Infants is 48 hours adequate*. Pediatr Infect Dis J. 1995; 14(8): 711-712.
- Greengood D. *Lacking Blood for Culture*. Lancet 1993; 342(8878): 1006.
- Solórzano SF, Miranda MG, Leaños MB, Díaz PH. *A Blood Micro-Culture System for the Diagnosis of Bacteremia in Pediatric Patients*. Scand J Infect Dis 1998; 30(5): 481-483.
- Murray EJ, Baron MA, Pfaller JH, Tenover JC, Tenover FC. *Manual of Clinical Microbiology*, 8th ed; ASM Press, Washington, D.C., 2003.
- Miranda G, Castro N, Leaños B, Valenzuela A, Garza-Ramos U, Rojas T, Solórzano S, Chihu I and Silva J. *Clonal and horizontal dissemination of Klebsiella pneumoniae expressing shv-5 extended spectrum beta-lactamase in a mexican pediatric hospital*. J Clin Microbiol 2004; 42: 30-35.
- Miranda-Novales MG, Gordillo-Pérez MG, Solórzano-Santos F, Leaños-Miranda B, Villasis-Keever MA, Villegas-Silva R. *Brote por Serratia marcescens en una unidad de cuidados intensivos neonatales (UCIN). Estudio de casos y controles*. Rev Invest Clínica 1998; 50: 13-18.