HEMOCULTIVOS

Ana Cristina Villagra de Trejo
Diplomado Infectología – Fac. de Medicina – UNT.
2018.

HEMOCULTIVOS

Hacen diagnóstico de bacteriemia, relacionada o no, con diferentes procesos infecciosos.

Si el set de hemocultivos tiene cuatro botellas (40 ml), aumenta la tasa de recuperación del agente de bacteriemia en 20%.

En endocarditis infecciosa, se pueden extraer tres muestras. Una sola no es adecuada .

BACTERIEMIA

Bacterias en sangre, **hemocultivos (+)**

Invasión del torrente sanguíneo

⇧

foco infeccioso extra / intravascular

⇧

Por capilares o vasos linfáticos.

Aislar microorganismos en hemocultivos

trascendental,

"Diagnóstico etiológico de Bacteriemia"

sensibilidad a los antimicrobianos.

CUANDO OBTENER HEMOCULTIVOS????

- **Endocarditis.**
- **Infecciones relacionadas (catéteres – marcapasos - prótesis vasculares)**
- Síndrome febril pacientes I.C.
- Fiebre origen desconocido.
- Infecciones osteoarticulares agudas.
- Neumonías graves que requieren internación.
- Abscesos órganos profundos.
- Peritonitis Bacteriana espontánea.
- Meningitis.
- Epiglotitis.
- Mediastinitis.

BACTERIEMIAS: CLASIFICACIÓN

Acorde a la Duración

Continua

- Endocarditis / Endarteritis.
- Primera semana Tifoidea y Brucellosis

Transitoria

- Meningitis.
- Neumonías.
- Manipulación mucosas o tejidos infectados.

Intermitentes

- Abscesos no drenados.
- Peritonitis Bacteriana espontánea

CLASIFICACIÓN DE BACTERIEMIAS

Acorde a la duración de la misma:

Continua
Focos endovasculares

Endocarditis	Fístulas arteriovenosas infectadas
Tromboflebitis séptica	Fiebre tifoidea
Endarteritis	Brucellosis

Intermitente

Abscesos no drenados (intra- abdominales, hepáticos, pélvicos, perinefríticos, prostáticos)	Otras infecciones extravasculares

Transitoria

Manipulación de mucosas (extracción dentaria, cateterización, endoscopia digestiva)	Tejido infectado (forúnculo, celulitis)	Actividades de la vida diaria (cepillado de dientes)

ETIOLOGÍA VS FACTORES PREDISPONENTES

Déficit de Linfocitos

- *S. pneumoniae.*
- *H. influenzae.*
- *N. meningitidis.*
- *Nocardia spp.*
- *Listeria spp*

B

T

- *Mycobacterium spp.*
- *Salmonella spp.*
- *Legionella spp.*

Déficit de:

Complemento

- *Neisseria spp*

Neutrófilos

- *Staphylococcus spp.*
- Bacilos Gram (-)
- *Corynebacterium spp.*
- *Aspergillus spp.*
- Levaduras

ETIOLOGÍA VS FACTORES PREDISPONENTES

- **Anemia Drepanocítica** …*Salmonella spp - S. pneumoniae - E. coli*
- **Mieloma múltiple** … *S. pneumoniae.*
- **Carcinoma Múltiple….** *S. gallolyticus* (bobis I) - *C. septicum.*
- **Drogadictos I.V.** …. *S. aureus – P. aeruginosa – C. albicans.*
- **SIDA…** *Salmonella spp – Shigella spp – H. capsulatum – C. neoformans – Candida spp.*
- **Cirrosis…** *E. coli – S. pneumoniae.*

HEMOCULTIVOS: TOMA DE MUESTRAS

Elaborar la solicitud y etiquetar los frascos con los siguientes datos:

- **Nombre completo del paciente.**
- **Sala y número de cama.**
- **Hora de extracción.**
- Diag. presuntivo y tto o no de antimicrobianos.
- Sellar el pedido o aclarar Nombre y apellido del médico.

ORDEN MÉDICA

DEBE VENIR CON DATOS SUFICIENTES PARA GARANTIZAR LA OPTIMIZACIÓN EN LA MUESTRA TANTO EN EL:

- PROCESAMIENTO.
- INTERPRETACIÓN.
- INFORME.

HEMOCULTIVOS: TOMA DE MUESTRAS

Preparación de los frascos

- Confirmar buen estado del FRASCO
- Identificarlos adecuadamente.
- Detallar toma y lugar de la extracción.
- Retirar la tapa del frasco. Desinfectar con una gasa impregnada en alcohol o equivalente* (clorhexidina). Dejar secar al aire.

*** Dejar actuar el antiséptico de 1.5 a 2 minutos**

ANTISEPSIA DE LA PIEL

- Un 20 % de las bacterias, pueden sobrevivir a la antisepsia previa, por ubicarse en capas profundas de la misma.
- Algunos Autores recomiendan, preparación previa con alcohol etílico o isopropílico. Luego iodo povidona al 10% o alcohol iodado al 1%.
- Tiempo de contacto: Iodo povidona 1.5 a 2 minutos – Alcohol iodado solo 30 segundos.
- Clorhexidina, demostró ser mejor que los antes citados.

Hall, K; Lyman, J; Clinical Mycrobiol Rev, 19. 2006

TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN

Si el transporte

no es inmediato

- Conservar los frascos a T°ambiente.
- Nunca deben ser refrigerados.

HEMOCULTIVOS: CONSTITUCIÓN DEL FRASCO

Medios de Cultivos

Caldos Enriquecidos

Sustancias que facilitan crecimiento de bacterias fastidiosas e inhibidoras de factores que se encuentran en sangre, dificultando el crecimiento Bacteriano

Gelatina

2 %

Anticoagulante

SPS
(Polianetol Sulfonato de Sodio)

Inhibe Act. Bactericida Suero y Fagocitosis.
Neutraliza ATB.
Inactiva Complemento.
Neutraliza Lisozimas.

Inhibidores

Sistemas que retiren ATB.
Adición de penicilinasas

HEMOCULTIVOS: PROCESAMIENTO.

Incubar 5 días

Gram (+)

DEFINICIONES

- **Muestra de Hemocultivo:** una punción venosa o arterial.
- **Set de Hemocultivos:** nº de frascos que se inoculan con **una muestra.**
- **Serie de Hemocultivos**. Conjunto de frascos que se inoculan con **mas de una punción** venosa y/o arterial.
- **Retrocultivo:** cultivo con **dos muestras** de sangre, una obtenida a través del catéter y otra de vía periférica (esta última es la que se saca primero).

IMPORTANCIA DEL VOLUMEN DE SANGRE CULTIVADA

Es la variable mas importante en lo concerniente a la Sensibilidad, independientemente de la edad del paciente y del método usado.

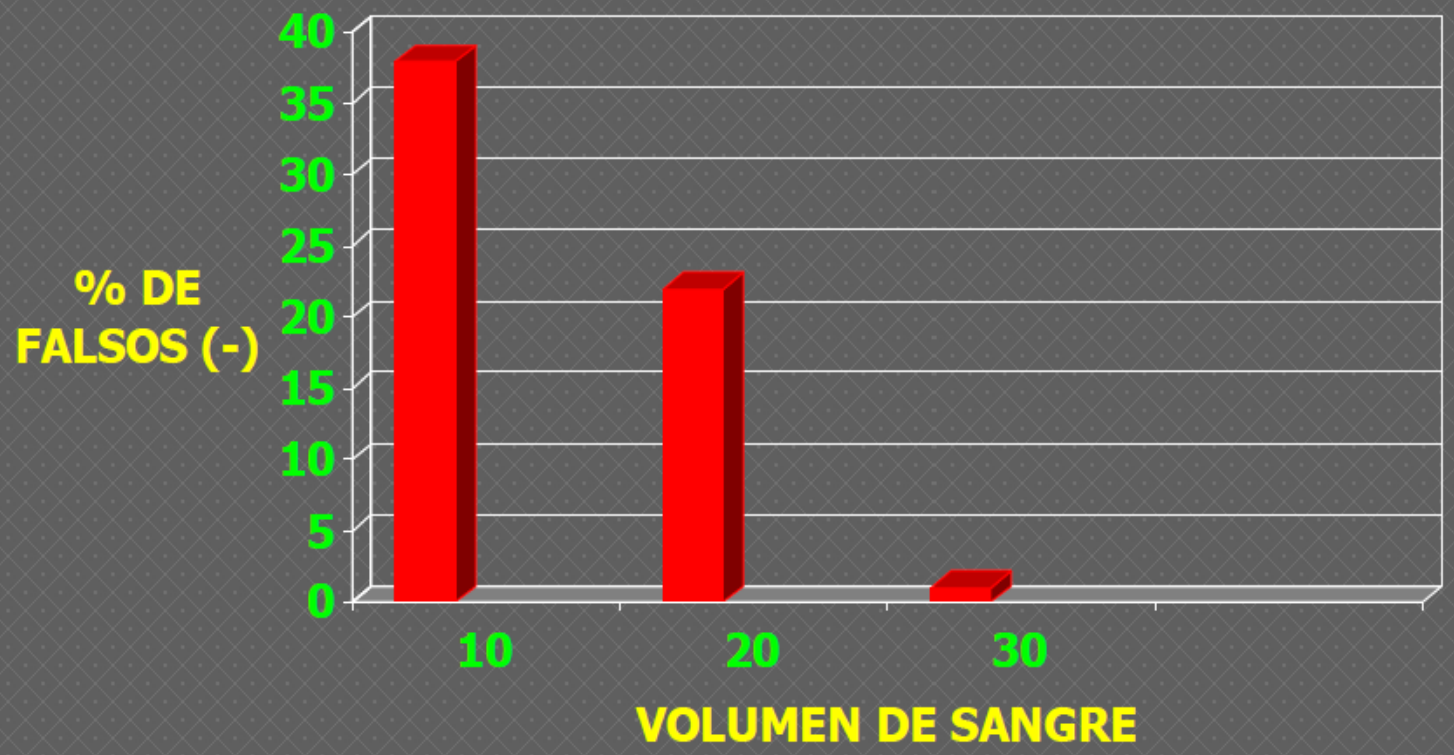
Baron,E; Weinstein,M; Dunne,W; Yagupsky,P; Welch,D; Wilson,D. Cumitech Blood Cultures IV. 2005
Arpi,M, Eur Jclin Microbiol Infect Dis, 8, 1989.
Cockerill,F. Clin Infect Dis, 38, 2004.
Hall,M. J Clin Microbiol, 3. 1976
Ilstrupt,D; washington,J. Diagns Microbiol Infect Dis, 1. 1983
Li,J. J Clin Microbiol, 32. 1994.
Mermel,L; Maki,D. Ann Intern med, 119. 1993.
Plord,J. J Clin Microbiol, 22. 1985
Sandven,P. Acta pathol Microbiol Scand, 89.1981
Tenney,J. J Clin Microbiol, 15. 1982
Washington,J. CRC Press, 1978.

HEMOCULTIVOS: TOMA DE MUESTRAS

El volumen de sangre a cultivar admitido en general para:

- **Adultos** es de **10 ml por extracción**, aunque algunos autores recomiendan 20 ó 30 ml.
- **Niños**, especialmente recién nacidos y prematuros, de **1 a 5 ml**.

HEMOCULTIVOS. IMPORTANCIA DEL VOLUMEN



WASHINGTON, ILSTRUP.REV INF DIS.5.1986

NEONATOS: RAZONES POR LA CUAL SE HEMOCULTIVAN BAJOS VOLÚMENES

- Dificultad en la toma de muestras.
- Urgencia en instaurar el tratamiento antimicrobiano adecuado.
- Preocupación por mantener una volemia adecuada.
- Evitar transfusiones luego de repetidas punciones por diferentes motivos.

IMPORTANCIA DEL NÚMERO DE FRASCOS CULTIVADOS

Porqué tomar mas de un frasco de hemocultivo???

- Lograr indirectamente un volumen correcto de sangre.
- Discrimina bacteriemia de contaminación, cuando se aíslan microorganismos de piel.
- Mejora la detección de bacteriemias/fungemias intermitentes.
- Documenta bacteriemias/fungemias continuas y persistentes.

PORQUE TOMAR MAS DE 1 FRASCO DE HEMOCULTIVO?

- Uno, casi nunca es suficiente para excluir o identificar bacteriemia.
- Dos son suficiente cuando: probabilidad bacteriemia baja o moderada (neumonías, IU) o cuando el germen aislado no es un contaminante frecuente (Enterobacterias, PAE y otros)

PORQUE TOMAR MAS DE 1 FRASCO DE HEMOCULTIVO?

- **Tres deben ser tomados** cuando la probabilidad de Bacteriemia es alta o se sospecha de bacteriemia continua (endocarditis)
- Cuatro cuando la probabilidad de bacteriemia es alta (> 50%) y el germen es un contaminante frecuente (endocarditis protésica x SCN) o pacientes sospechosos de haber recibido TTO ATB previo)

HEMOCULTIVOS: TOMA DE MUESTRAS

Extracciones: número/intervalo

2-3 frascos (S 95%) / cada 30´ a 60´

Dilución final recomendada

(Volumen sangre paciente/caldo del frasco)

1/5 a 1/10

sirve para neutralizar prop. bactericidas del suero

y no mas dilución porque se reduce la positividad.

MOMENTO DE LA TOMA DE MUESTRAS

El ingreso de bacterias a sangre ocurre una hora después del pico febril.

Bennett, I; Beeson, P; Yale,J; Biol. Med. 26. 1954.

No se ha demostrado, que haya diferencias, en tomar aleatoriamente 2 o 3 muestras, en un periodo de 24 horas, vs intervalos espaciados, relación al pico febril.

Li,J.J Clin. Mycrobiol. 32. 1994.

MOMENTO DE LA TOMA DE MUESTRAS

Desde un punto de vista práctico, se debe tomar mas práctico, mas inmediato al pico febril, separando las muestras por escasos minutos en pacientes graves y previo a la ingesta de antimicrobianos.

Cuando se quiere documentar bacteriemia continua, se pueden separar las muestras por una hora.

Baron, E; Weisntein, M; Dunne, W; Yagupsky, Welch, D; Wilson, D. Cumitech Blood Cultures IV. 2005.

HEMOCULTIVOS: TOMA DE MUESTRAS

Generalmente se aceptan **dos o tres extracciones**

separadas 30 minutos cada 24 horas.

En casos de extrema urgencia como meningitis,

shock

séptico el intervalo puede reducirse.

TIEMPO DE INCUBACION

Swirls Miscellaneous

HEMOCULTIVOS: INCUBACIÓN

Incubación

- 5 d.35°C mas agitación (para bacterias)
- 7-15 d.35°C más agitación (para levaduras)
- 42 d. 35°C sin agitación p/ micobacterias.

HEMOCULTIVOS. TIEMPO DE INCUBACION RUTINARIO. SISTEMA BACT-ALERT

- 5 DIAS
  - MAYOR TIEMPO
    - NO MEJORA LA RECUPERACION DE BACTERIEMIAS
    - AUMENTA LA RECUPERACION DE CONTAMINANTES

- WILSON Y COL. DIAGN MICROBIOL INFECT DIS.16.1993
- HARDY Y COL. J CLIN MICROBIOL.30. 1992
- SOLOAGA, R Y COLS. HNRG-ICYCC, SADI-SADEBAC.1996-97
- SYILAGYI Y COL. ASM. 1995
- REID Y COL. ASM. 1994
- RECTENWALD Y COL. ASM. 1994

HEMOCULTIVOS. INCUBACION POR MAS DE 7 DIAS

- HONGOS (ESPECIALMENTE DIMORFOS)
- LEPTOSPIROSIS
- BRUCELLOSIS
- *Bartonella* spp
- MICOBACTERIAS
- ENDOCARDITIS

HEMOCULTIVOS MANUALES. TIEMPO DE INCUBACION RECOMENDADO

MURRAY,P.(J CLIN MICROBIOL,1985)	7 DIAS
RELLER; MC LOWRY (CUMITECH 1A)	7 DIAS
WASHINGTON,J.(CLIN LAB MED 1994)	7 DIAS
WEINSTEIN (REV IINF DIS 1983)	>14 DIAS (INCREM DEL 5%)
	>14 DIAS (INCREM DEL 5 %)
BARLETT	7 DIAS
DUNNE, NOLTE, WIL-SON (CUMITECH 1B, 1997)	

HEMOCULTIVOS: TOMA DE MUESTRAS

Lisis-Centrifugación

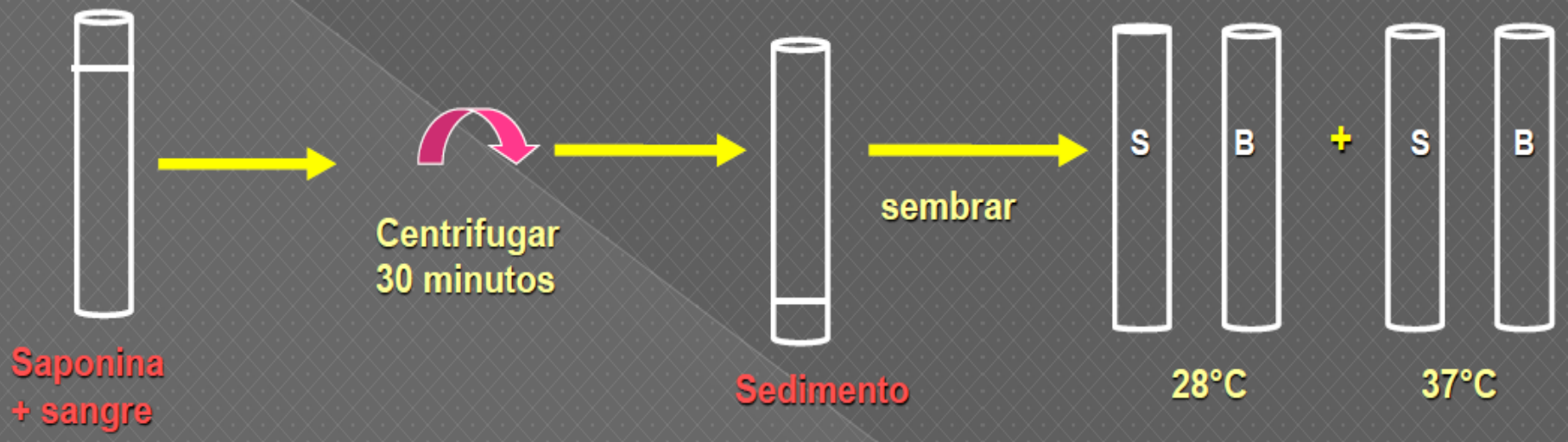
Tubos Isolator

Saponina-propilenglicol-polianetol sulfonato de sodio.

- Lisis leucocitos eritrocitos.
- Liberación bacteriana.
- Evita coagulación.

Cult.inmediato médula ósea p bact.intracelulares y lento crecimiento.

LISIS CENTRIFUGACION
Procesamiento para hongos



S: Sabouraud miel c/antibióticos

B: BHI agar c/ antiboticos

LISIS CENTRIFUGACON. VENTAJAS TEORICAS

- MENOR TIEMPO EN OBTENER COLONIAS AISLADAS
- MENOR TIEMPO DE CONTACTO DEL MICROORGANISMO CON ATB
- DILUCION (1/400) DEL ATB
- MEJOR DETECCION DE BACTERIEMIAS POLIMICROBIANAS
- CUANTIFICACION DE BACTERIEMIA
- BUENA RECUPERACION DE *H.capsulatum, C.neoformans, Fusarium, Penicillium marneffei, Brucella spp, Mycobacterium spp, B.henselae, B.quintana Y Legionella.*

LISIS CENTRIFUGACION. DESVENTAJAS

- MAYOR CONTAMINACION
- TECNICA LABORIOSA
- ALTO COSTO
- BAJA RECUPERACION DE *S.pneumoniae, Abiotrophia* spp, *H.influenzae, anaerobios, P.aeruginosa.*
- LA MUESTRA DEBE SER PROCESADA DENTRO DE LAS 8 h DE EXTRAIDA

TIEMPO DE POSITIVIZACION DE LOS MICROORGANISMOS CON SISTEMA BACT/ALERT ICYCC 1996-1999

Germen	Mediana (h)	Rango (h)
S. aureus	14,8	2,2-144
SCN	24	8,8-156
E. faecalis	16,8	9-160,8
S. pneumoniae	11,9	6,3-18,7
P. aeruginosa	18,5	6,3-127,2
Enterobacter spp	14	8-127,2
S. marcescens	18,2	7,7-148,8
K. pneumoniae	11,8	2,2-163,2
E. coli	11,5	2,5-110,4
A. baumannii	13,8	7,5-96
P. mirabilis	13,6	2,3-115,2

Soloaga y col. ASM 2000

N=942 (EPISODIOS DE BACTERIEMIA)

NUMERO DE HEMOCULTIVOS POSITIVOS

- **A mayor número de hemocultivos positivos mayor probabilidad de bacteriemia.**

- Beekman,S. Control Hosp Epidemiol, 26. 2005
- McGregor. Arch Intern Med, 130. 1972
- Weinstein,M Rev infect Dis, 5. 1983
- Weinstein,M. Clin Infect Dis, 24. 1997
- Schifman,R.Arch Pathol Lab Med, 122, 1998.
- Tokars,J. Clin Infect Dis, 39. 2004
- Hall,K. Clin Microbiol Rev, 19. 2006
- Herwaldt,L. Clin Infect Dis, 22. 1996
- Seo,S . Am J Med, 109. 2000

TIEMPO DE POSITIVIZACION

- No diferencia significativamente bacteriemia de contaminación cuando se aíslan dentro de las primeras 48 h.
- Cuando se recupera SCN o difteroides o *Bacillus* spp luego del 3 día casi siempre es contaminación.

- Souvenir,D. J Clin Microbiol, 36. 1998.
- Khatib,R. J Clin Microbiol, 33. 19
- Hall,K. Clin Microbiol Rev, 19. 2006 95
- Evans,M Diagn Microbiol Infect Dis, 14. 1991.
- Han,X. Diagn Microbiol Infect Dis, 33. 1999.
- Hardy,D. J Clin Microbiol, 30. 1992
- Huang,A. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 17. 1998.
- Kurlat,I. J Clin Microbiol, 27. 1989
- Reisner,B. Clin Microbiol Rev, 37. 1999.
- Saito,T. J Infect Chemother, 9. 2003.
- Masterson,K. Am J Clin Pathol, 90. 1988

HEMOCULTIVOS. ORIGENES DE LA CONTAMINACION

- VARIA AMPLIAMENTE ENTRE EL 0,6 AL 6%
- NIVELES ACEPTABLES: 2-3%
- PIEL
  - PACIENTE
  - EXTRACIONISTA
- TAPA DEL FRASCO
- DESINFECTANTES CONTAMINADOS
- SISTEMAS DE EXTRACCION CONTAMINADOS
- SUBCULTIVOS EN EL LABORATORIO

Hall,K; Lyman,J. Clin Microb Rev, 19.2006

HEMOCULTIVOS. Diplococos gram positivos que no desarrollan en subcultivo

- Anaerobios
- *Abiotrophia* y géneros relacionados
- *S.pneumoniae* (autolisis)

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

- VÁLVULA CARDIACA PROTESICA – PARCHES VASCULARES – MARCAPASOS.

  Jerarquizar aislamiento de SCN, Difteroides, *Propionibacterium acnes* .

- VIH, optimizar detección de

  H. capsulatum, C. neoformans y Micobacterias.

  Usando lisis centrifugación o frascos especiales de BACTEC o BACT ALERT.

INFORMES DEL LABORATORIO AL MÉDICO

- Hemocultivo positivo, levaduras o bacterias?
- Bacterias, Gram positivas o negativas?
- Gram positivas, son estafilococos o estreptococos?
- Estafilococos, son meti Resistentes o Sensibles?
- Bacilos Gram (-), carbapenemasa? β lactamasa espectro extendido?
- Levaduras, especie sensible o resistente a azólicos?

Preguntas respondidas mas el antibiograma y/o identificación directa desde el frasco de hemocultivo hará que el paciente reciba tratamiento adecuado

A PARTIR DEL SHOCK SÉPTICO LA MORTALIDAD AUMENTA 7% POR HORA!!!!!!!!!!!!

(KUMAR Y COLS, CRIT CARE).

OBJETIVO PRIMORDIAL DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA

- CONTRIBUIR A **REDUCIR MORBI-MORTALIDAD** EN PACIENTES CON INFECCIONES FATALES.
- **OPTIMIZAR LA TERAPEUTICA** EN TIEMPO Y FORMA DE TODAS LAS INFECCIONES.

PARA ESTO SE DEBE ALCANZAR UN EQUILIBRIO ENTRE PRECISIÓN Y RAPIDEZ EN LOS RESULTADOS.

Importancia clínica de la ID directa desde el frasco

- Diferenciar *S.aureus o S.lugdunensis* de otros SCN.
- 2 muestras de hemocultivos con SCN, si son de la misma especie (> probabilidad de bacteriemia verdadera)
- Frente a cocos en cadenas en hemocultivo en paciente con endocarditis, corresponde a *Enterococcus spp o S.viridans*?
- Determinar presencia de levaduras resistentes a azólicos

IMPORTANCIA CLÍNICA DE LA ID DIRECTA DESDE EL FRASCO

- Bacilo Gram (-) *P.aeruginosa*, otro BNF o enterobacterias?
- Diplococo Gram (-) *Neisseria, Moraxella, Acinetobacter*?.
- Orientar rápidamente hacia una enfermedad de base (ej estreptococos del grupo bovis en carcinoma de colon).

En este aspecto es donde el microbiólogo debe jerarquizarse aportando datos relevantes de un determinado microorganismo o de una cierta resistencia en el tratamiento del paciente.

MUCHAS GRACIAS