

Desde el laboratorio a la clínica

# El hemocultivo pediátrico: indicaciones y técnica

MARINA DE CUETO Y ÁLVARO PASCUAL

Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla. España.

m@marinadecueto.e.telefonica.net; apascual@us.es



Roger Ballabrera

## Puntos clave

- El diagnóstico de certeza de bacteriemia y fungemia se realiza mediante hemocultivo que permite el aislamiento y la identificación de los agentes causales.
- El empleo de una técnica de extracción aséptica y el cultivo de un volumen adecuado de sangre son factores determinantes para mejorar la rentabilidad del hemocultivo.
- En pacientes pediátricos en los que no es posible obtener sangre por punción venosa, puede obtenerse sangre a través de catéter siempre que con el catéter se sigan las mismas medidas de asepsia que se recomiendan para la piel.
- El aislamiento en hemocultivos de posibles patógenos oportunistas que forman parte de la flora cutánea (estafilococos coagulasa negativos, estreptococos del grupo viridans) debe valorarse en función de criterios microbiológicos y clínicos.
- El volumen recomendado de sangre para hemocultivo en pacientes pediátricos es del 4-4,5% del total del volumen de sangre dividido en 2 extracciones. Volúmenes inferiores disminuyen la rentabilidad del hemocultivo.

La bacteriemia se define como presencia de bacterias en sangre demostrada por un hemocultivo positivo. El término fungemia hace referencia a la presencia de hongos en sangre. Ambas son complicaciones graves de las infecciones bacterianas y fúngicas, respectivamente, y se producen cuando los microorganismos invaden y se multiplican en el torrente sanguíneo<sup>1,2</sup>.

Septicemia y sepsis son expresiones que se emplean para denominar el síndrome clínico con el que habitualmente se manifiesta la bacteriemia o la fungemia<sup>1-3</sup>.

La detección de la bacteriemia y la fungemia es una de las prioridades del laboratorio de microbiología, dada su importancia diagnóstica y pronóstica; sin embargo, la rentabilidad del hemocultivo puede estar limitada por distintos factores que determinan resultados falsos positivos, por contaminación de la muestra, o falsos negativos, en relación, generalmente, con el cultivo de un volumen inadecuado de sangre o un tratamiento antibiótico previo<sup>1,4-8</sup>.

## Indicaciones de hemocultivo

Aunque es difícil enumerar todas las situaciones clínicas en que deben obtenerse hemocultivos, de forma general, se indica su obtención siempre que haya sospecha clínica de sepsis o fiebre de origen desconocido<sup>1,2,6</sup>; también, en pacientes con infecciones invasivas, como meningitis, pielonefritis, artritis, infecciones graves de la piel y tejidos blandos o neumonía, que son procesos que con frecuencia cursan con bacteriemia y hemocultivos positivos<sup>1,2,9,10</sup>. Los signos orientativos incluyen fiebre o hipotermia, leucocitosis o granulocitopenia, deterioro uniorgánico o multiorgánico de etiología no aclarada, shock, deterioro hemodinámico de causa desconocida o combinaciones de algunos de éstos<sup>3</sup>. Asimismo, la extracción de hemocultivos está indicada en niños con disminución súbita de la vitalidad, ya que en esta población pueden no presentarse los signos y los síntomas típicos de sepsis<sup>3</sup>. El hemocultivo debe obtenerse siempre que sea posible antes de la administración del tratamiento antimicrobiano y debe complementarse con el cultivo de otras muestras clínicas, como líquido cefalorraquídeo, orina, muestras del tracto respiratorio inferior o líquido sinovial en pacientes con sospecha de meningitis, pielonefritis, neumonía o artritis séptica, respectivamente<sup>1,2</sup>.

## Obtención de la muestra de sangre

La probabilidad de que el resultado de los hemocultivos positivos represente una bacteriemia verdadera aumenta cuando la muestra se obtiene adecuadamente. El momento óptimo para la extracción de hemocultivos es inmediatamente antes del pico febril. Como este hecho es imposible de predecir con exactitud, se recomienda que la sangre para cultivo se extraiga lo antes posible después del comienzo de la fiebre<sup>1,2</sup>. La muestra de sangre para hemocultivo debe extraerse, siempre que sea posible, por punción venosa, la utilización de sangre arterial no ha demostrado ventajas sobre la venosa. Cada

muestra de sangre debe obtenerse de lugares de punción venosa diferentes para disminuir la probabilidad de contaminación<sup>1,2</sup>. Aunque, la contaminación de la sangre obtenida a través de catéteres venosos o arteriales es frecuente, especialmente en recién nacidos y lactantes, la dificultad para obtener sangre por punción venosa es un problema real y la sangre para hemocultivo se obtiene sistemáticamente a través de catéteres. En estos casos, es imprescindible seguir con el catéter las mismas normas de asepsia que se indican para la desinfección de la piel<sup>9,11</sup>.

## Asepsia de la piel

El principal problema para la interpretación correcta de los hemocultivos es su contaminación con la flora cutánea durante la extracción. Para evitarla, debe prepararse antes la piel de la zona de extracción. Después de la palpación de la vena elegida para la punción, se limpiará la zona con alcohol isopropílico o etílico de 70°. Se aplicará a continuación, de forma circular, un desinfectante yodado (povidona yodada al 10% durante 1 min). Es muy importante dejar secar el compuesto yodado para que ejerza su acción. En recién nacidos no suelen utilizarse compuestos yodados, por lo que deben realizarse 2 limpiezas con alcohol isopropílico o emplear clorhexidina<sup>1,2</sup>. Con una técnica aséptica correcta, el número de hemocultivos contaminados no debe exceder del 3%<sup>1,2</sup>. En general, se consideran microorganismos contaminantes *Staphylococcus coagulasa negativa*, *Bacillus* spp., *Propionibacterium acnes*, *Corynebacterium* spp. y otros que forman parte de la microbiota de la piel, siempre que su presencia no se repita en más de una muestra por paciente<sup>1,2,4,5</sup>.

## Extracción

Antes de proceder a la extracción, se limpiarán los tapones de los frascos de hemocultivo con un antiséptico que se dejará secar para evitar su entrada en el interior del frasco al inocular la sangre. Se ha demostrado que la introducción de pequeñas cantidades de antiséptico en el frasco puede inhibir el crecimiento bacteriano<sup>1,2</sup>.

## Número e intervalo de las extracciones

Se considera una extracción para hemocultivo la sangre extraída de una única punción venosa, independientemente de los frascos en los que se inocule. Habitualmente en adultos se inoculan 2 frascos (aerobio y anaerobio) con cada extracción<sup>1,2</sup>. En recién nacidos y lactantes, puede inocularse sólo un frasco aerobio con cada extracción. En pediatría se considera óptimo realizar 2 extracciones (1 frasco aerobio cada una) para la documentación de un episodio de bacteriemia, utilizando, siempre que sea posible, lugares diferentes de punción venosa. De esta manera, logran detectarse más del 95% de las bacteriemias. La extracción debe realizarse lo antes posible después de la aparición de los síntomas, teniendo en cuenta que las bacterias se eliminan rápidamente de la sangre. Por esta misma razón no se recomiendan extracciones separadas por períodos concretos, al contrario, diferentes estudios han demostrado que se obtienen similares resultados cuando se extraen los hemocultivos simultáneamente

que cuando se extraen separados por períodos arbitrarios durante 24 h<sup>5,6,8,11</sup>.

## Volumen y dilución de la sangre

De todas las variables que influyen en el aislamiento de una bacteria u hongo en un hemocultivo, el volumen de sangre cultivada es la más importante, debido al bajo número de microorganismos presentes en la mayoría de las bacteriemias. La mayor parte de los estudios muestran cifras próximas a 10 UFC/ml (unidades formadoras de colonias/ml) de sangre, y muy rara vez superiores a 100 UFC/ml<sup>4,5,8,12</sup>. En recién nacidos y lactantes, tradicionalmente se ha considerado que la cantidad de bacterias presentes en sangre en el curso de una bacteriemia es mayor, por lo que volúmenes iguales o incluso inferiores a 1 ml permitirían obtener resultados aceptables y comparables a los de los adultos. Sin embargo, diferentes autores han demostrado que la bacteriemia de bajo nivel es muy común en la población pediátrica y que el volumen de sangre para cultivo debe ser siempre proporcional al peso (al volumen de sangre total) y a la edad<sup>4,5,8,12</sup>. Para optimizar la rentabilidad del hemocultivo, se recomienda cultivar un volumen de sangre aproximadamente del 4,5% del volumen total de sangre del paciente, volúmenes inferiores determinan en bacteriemias de bajo nivel resultados falsos negativos o un mayor tiempo para la detección de un resultado positivo. Las consecuencias que se derivan de ello incluyen: necesidad de realizar nuevos hemocultivos, mayor tiempo de tratamiento antibiótico empírico y nuevas pruebas diagnósticas<sup>8,12-15</sup>.

## Transporte y conservación de hemocultivos

Los frascos de cultivo, con su debida identificación, deben transportarse al laboratorio inmediatamente. Si no pueden enviarse inmediatamente al laboratorio, se incubarán en una estufa a 35-37 °C hasta ese momento. Los hemocultivos que van a procesarse en sistemas automáticos pueden mantenerse a temperatura ambiente o a 35-37 °C<sup>1,2</sup>.

## Diagnóstico microbiológico

En los últimos años se han introducido en los laboratorios sistemas automáticos de incubación y seguimiento de hemocultivo en los que, al eliminar totalmente la manipulación, realizan una lectura continua de los frascos de cultivo, y notifican de modo inmediato los resultados positivos. Estos sistemas automáticos permiten el diagnóstico de bacteriemia mediante la detección del dióxido de carbono producido por los microorganismos presentes en la sangre. Los datos obtenidos en cada lectura se transmiten a un ordenador donde se analizan según un algoritmo que determina cuándo se produce crecimiento bacteriano, a la vez que disminuyen el número de falsos positivos y falsos negativos<sup>16,17</sup>. Además de la identificación del agente etiológico, el aislamiento de patógenos a partir de hemocultivos permite realizar estudio de sensibilidad para poder instaurar un tratamiento específico dirigido, así como detectar brotes

nosocomiales y seguir las tendencias de las resistencias a los antimicrobianos<sup>18,19</sup>.

## Interpretación de los resultados

Un hemocultivo puede ser positivo sin que ello represente un episodio verdadero de bacteriemia. Es frecuente que la propia microbiota cutánea del paciente o del personal que realiza la extracción pueda contaminar la muestra de sangre. Se denomina bacteriemia verdadera a la producida por microorganismos realmente presentes en la sangre de los pacientes y bacteriemia falsa a la causada por una contaminación accidental del cultivo<sup>1,2,9,11</sup>. La distinción entre bacteriemias verdadera y falsa es un asunto de la máxima importancia y trascendencia para el paciente. Uno de los datos orientativos más importante es la propia identidad de los microorganismos aislados. Microorganismos como *S. aureus*, *Escherichia coli* y otras enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pneumoniae* y estreptococos beta-hemolíticos, son la causa de bacteriemias verdaderas en más del 90% de los casos<sup>1,2,11</sup>. Por el contrario, puede ser de dudoso valor el aislamiento en hemocultivo de microorganismos que forman parte de la microbiota del paciente, como los estafilococos coagulasa negativa, *Streptococcus* del grupo *viridans*, *Corynebacterium* spp., *P. acnes*, *Bacillus* spp. y algunas especies de *Clostridium* que, en conjunto, suponen menos del 5% de las bacteriemias verdaderas<sup>1,2,11,18</sup>. Sin embargo, sobre todo los estafilococos coagulasa negativos y los estreptococos del grupo *viridans*, en determinadas situaciones (bacteriemia asociada a catéter, bacteriemia en inmunodeprimidos), son la causa de auténticas bacteriemias y, por tanto, su identidad no es un dato suficiente para establecer el criterio de significación clínica<sup>20</sup>. Un factor valorable a la hora de decidir la significación clínica de estos microorganismos es el número de hemocultivos en que se repite el aislado y, en este sentido, sin que el dato sea definitivo, la repetición de la misma bacteria en más de una extracción (suponiendo que todas las extracciones no se han realizado desde una misma vía contaminada), aumenta la probabilidad de que se trate de una bacteriemia verdadera. Por el contrario, la presencia de un solo hemocultivo positivo de 2 extracciones seriadas o más en un corto período indica una contaminación<sup>1,2,8,9,11,20</sup>. Otro factor que también indica contaminación es el tiempo en que el hemocultivo se detecta como positivo. Los cultivos en los que crece un microorganismo de los considerados frecuentemente como contaminantes, después de 3 días de incubación, representan con mayor frecuencia una contaminación. En general, es de ayuda también para la interpretación la existencia de catéteres vasculares y otros cuerpos extraños o focos infecciosos de los que se haya aislado el mismo microorganismo que en la sangre<sup>20,21</sup>. Sin embargo, en la mayoría de las ocasiones, el laboratorio no dispone de información suficiente para establecer con seguridad la significación de la bacteriemia y la información clínica es esencial para valorar adecuadamente un resultado positivo de un hemocultivo. Todos los hemocultivos positivos deben ser informados inmediatamente y el resultado obtenido debe valorarse de forma conjunta por microbiólogos y clínicos.

## Conclusión

Las bacteriemias con muy bajo número de bacterias ( $1 \leq 10$  UFC/ml) son frecuentes en pacientes pediátricos, su detección puede mejorarse mediante el empleo de una técnica de extracción adecuada y, especialmente, con el cultivo de un volumen suficiente de sangre que se ha calculado entre el 4 y el 4,5% del volumen total de sangre del paciente. El volumen total de sangre debe dividirse en 2 extracciones, e inocular un frasco de cultivo aerobio con cada extracción.

## Bibliografía



● Importante ●● Muy importante

■ Epidemiología

1. Thomson RB, Miller M. Specimen collection, transport, and processing: bacteriology. En: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, editores. Manual of clinical microbiology. 8th ed. Washington DC: American Society for Microbiology; 2003. p. 286-331.
2. Loza E, Planes A, Rodríguez-Creixems M. Hemocultivos. Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica 2003. Disponible en: <http://www.seimc.org>
3. ● Goldstein B, Giroir B, Randolph A; International Consensus Conference on Pediatric Sepsis. International pediatric sepsis consensus conference: definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics. *Pediatr Crit Care Med.* 2005;6:2-8.
4. ●● Kellogg JA, Manzella JP, Bankert DA. Frequency of low-level bacteremia in children from birth to fifteen years of age. *J Clin Microbiol.* 2000;38:2181-5.
5. ●● Kellogg JA, Ferrentino FL, Goodstein MH, Liss J, Shapiro SL, Bankert DA. Frequency of low level bacteremia in infants from birth to two months of age. *Pediatr Infect Dis J.* 1997;16:381-5.
6. Paisley JW, Lauer BA. Pediatric blood cultures. *Clin Lab Med.* 1994;14:17-30.
7. Huang YC, Wang YH, Chou YH, Lien RL. Significance of coagulase negative staphylococci isolated from a single blood culture from neonates in intensive care. *Ann Trop Pediatr.* 2006;26:311-8.
8. Schelonka RL, Chai MK, Yoder BA, Hensley D, Brockett RM, Ascher DP. Volume of blood required to detect common neonatal pathogens. *J Pediatr.* 1996;129:275-8.
9. Gray J, Gossain S, Morris K. Three-year survey of bacteremia and fungemia in a pediatric intensive care unit. *Pediatr Infect Dis J.* 2001;20:416-21.
10. Pitetti RD, Choi S. Utility of blood cultures in febrile children with UTI. *Am J Emerg Med.* 2002;20:271-4.
11. ●● Hall KK, Lyman JA. Updated review of blood culture contamination. *Clin Microbiol Rev.* 2006;19:788-802.
12. Kennehan JK, Gregory WW, Powell KR, Hendley JO. The effect of dilution during culture on detection of low concentrations of bacteria in blood. *Pediatr Infect Dis.* 1984;3:317-8.
13. Freedman SB, Roosevelt GE. Utility of anaerobic blood cultures in a pediatric emergency department. *Pediatr Emerg Care.* 2004;20:433-6.

14. McGowan KL, Foster JA, Coffin SE. Outpatient pediatric blood cultures: time to positivity. *Pediatrics.* 2000;106(2 Pt 1):251-5.
15. Lawrence SL, Roth V, Slinger R, Toye B, Gaboury I, Lemyre B. Cloxacillin versus vancomycin for presumed late-onset sepsis in the neonatal intensive care unit and the impact upon outcome of coagulase negative staphylococcal bacteremia: a retrospective cohort study. *BMC Pediatr.* 2005;23:5-49.
16. Garcia-Prats JA, Cooper TR, Schneider VF, Stager CE, Hansen TN. Rapid detection of microorganisms in blood cultures of newborn infants utilizing an automated blood culture system. *Pediatrics.* 2000;105(3 Pt 1):523-7.
17. Pickett DA, Welch DF. Evaluation of the automated Bact-Alert system for pediatric blood culturing. *Am J Clin Pathol.* 1995;103:320-3.
18. ●● Kaufman D, Fairchild KD. Clinical microbiology of bacterial and fungal sepsis in very-low-birth-weight infants. *Clin Microbiol Rev.* 2004;17:638-80.
19. Brodie SB, Sands KE, Gray JE, Parker RA, Goldmann DA, Davis RB, et al. Occurrence of nosocomial bloodstream infections in six neonatal intensive care units. *Pediatr Infect Dis J.* 2000;19:56-65.
20. ●● Rubin LG, Sánchez PJ, Siegel J, Levine G, Saiman L, Jarvis R, and the pediatric prevention network. Evaluation and treatment of neonates with suspected late onset sepsis: a survey of neonatologists' practices. *Pediatrics.* 2002;110:e42.
21. Benjamin DK Jr, Miller W, Garges H, Benjamin DK, McKinney RE Jr, Cotton M, et al. Bacteremia, central catheters, and neonates: when to pull the line. *Pediatrics.* 2001;107:1272-6.

## Bibliografía recomendada

**Kellogg JA, Manzella JP, Bankert DA. Frequency of low-level bacteremia in children from birth to fifteen years of age. *J Clin Microbiol.* 2000;38:2181-5.**

*Los autores demuestran, cuantificando el número de bacterias presentes en sangre de 137 pacientes con hemocultivo positivo, entre 3.892 hemocultivos estudiados, un bajo número de bacterias en sangre ( $\leq 10$  UFC/ml) en el 60,3% de los casos y recomiendan por ello el cultivo del 4-4,5% del volumen de sangre para una detección fiable de patógenos y un cambio temprano del tratamiento empírico.*

**Rubin LG, Sánchez PJ, Siegel J, Levine G, Saiman L, Jarvis R, and the pediatric prevention network. Evaluation and treatment of neonates with suspected late onset sepsis: a survey of neonatologists practices. *Pediatrics.* 2002;110:e42.**

*Los autores realizan un estudio multicéntrico, en el año 2000, en 35 unidades de neonatología, con el objetivo de conocer el manejo de pacientes con sospecha de sepsis tardía. Se encontró una gran variabilidad entre las distintas unidades estudiadas, especialmente en la interpretación de hemocultivos en los que se aisló alguna especie de estafilococo coagulasa negativa. Los autores concluyen que hay una necesidad real de desarrollar una guía clínica que defina los principios de asepsia para la obtención de hemocultivos, la necesidad de realizar 2 extracciones por hemocultivo, indicaciones de pruebas complementarias y definición de criterios que ayuden a diferenciar contaminación de infección.*