



Papel del hemocultivo anaeróbico en la toma simultánea de hemocultivos para el diagnóstico de bacteriemia

Claudia Elena Guajardo-Lara,^a Martha Idalia Saldaña- Ramírez,^a
Juan Jacobo Ayala-Gaytan,^{b,d} Salvador Bruno Valdovinos-Chávez^{c,d}

Role of anaerobic blood culture in the simultaneous blood culture taking for the diagnosis of bacteremia

Background: Harboring a high mortality, the incidence of sepsis is increasing; thus detection, identification and susceptibility tests of the involved microorganisms become urgent.

Methods: We reviewed the records from January 2013 until July 2014 of a total of 4110 blood culture bottles taken from adult patients in a private tertiary hospital.

Results: Growth of microorganisms was observed in 559 bottles (12.6%). We emphasize that 2648 blood cultures (60 %) were taken in two paired aerobic and anaerobic bottles drawn at the same time (1324 pairs); from these, growth was observed in 182 inoculated bottles drawn from two different sites at the same time from 135 patients (13.7 %). In 86 pairs of bottles with samples from 54 patients (40 %), growth occurred only in the aerobic blood culture bottles. Also, growth of microorganisms was observed only in anaerobic bottles in 24 pairs (13.19 %), corresponding to 21 patients (15.5 %, $p < 0.05$ %). In blood cultures from 32 out of 60 patients with growth in both media (53 %), microbial growth was detected first in the anaerobic bottle.

Conclusions: The usefulness of blood cultures for anaerobes for the identification of obligate anaerobic bacteremia which rarely occur is low (2.2 % of patients with bacteremia); however, in 15.55 % of the patients the risk of completely overlook bacteremia was present, and in 53 % of patients with positive cultures, bacteremia was established earlier, and thus permitted earlier and accurate decision making.

Key words Palabras clave

Virus cultivation Cultivo de virus
Bacteremia Bacteriemia

Una de las entidades más graves que ocurren en las enfermedades infecciosas es la septicemia. Su frecuencia va en aumento y su mortalidad es alta; por ello, además de la rápida detección e identificación del microorganismo causal, es necesario conocer la susceptibilidad antimicrobiana para elegir el tratamiento adecuado y mejorar el pronóstico.

A lo largo de los años y a pesar de que se han desarrollado técnicas moleculares de laboratorio para el ensayo de ácidos nucleicos, como la reacción en cadena de la polimerasa y muchas otras técnicas para el diagnóstico microbiológico, el hemocultivo continúa considerándose el examen más útil para el diagnóstico de la bacteriemia. Aproximadamente en el 10 % de los hemocultivos tomados se aíslan microorganismos, en el 7 % de ellos se consideran gérmenes patógenos y en el 3 % restante, contaminantes.¹

En la década de los setenta, Finegold² reportó que los microorganismos anaerobios estrictos ocasionan hasta el 20 % de las bacteriemias, lo que apoya la conveniencia de agregar al frasco de hemocultivo para aerobios, uno para anaerobios. Sin embargo, con el paso del tiempo varios factores, como la mejor preparación del colon antes de la cirugía abdominal, el uso cada vez más frecuente de antibióticos efectivos contra anaerobios, mejores técnicas de aislamiento y otras acciones, han condicionado la disminución de estas bacteriemias en un 8, 10 e incluso en 15 %.^{3,4} Lombardi y Engelberg⁴ establecieron que aunque la mortalidad por bacteriemias por anaerobios es del 38 % los resultados de los cultivos rara vez influyen en el tratamiento.

Con lo anterior, Morris *et al.*⁵ sugirieron evitar el uso rutinario de los frascos de hemocultivos con medio anaeróbico, a pesar de que al utilizarlos aislaron más microorganismos, además de los anaerobios estrictos.

Mermel y Maki⁶ justificaron para el clínico, con un resultado positivo, la relación tan importante que existe entre el volumen de sangre que se inocular al frasco de hemocultivo; mencionaron que al menos un 20 % de las muestras no tienen un volumen adecuado y establecen

^aLaboratorio de Microbiología Clínica, Hospital San José

^bServicio de Infectología y Unidad de Vigilancia Epidemiológica, Hospital San José

^cJefatura de Educación e Investigación en Salud, Hospital Metropolitano "Dr Bernardo Sepúlveda", Secretaría de Salud

^dEscuela Nacional de Medicina y Ciencias de la Salud

^{a,b,d}Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey

Monterrey, Nuevo León, México

Comunicación con: Juan Jacobo Ayala-Gaytan

Teléfono: (81) 8347 1010, extensiones 2383 y 2378

Correo electrónico: jjag@hotmail.com

Recibido: 01/07/2015

Aceptado: 25/09/2015

Introducción: la frecuencia de la septicemia va en aumento y su mortalidad es alta; por lo tanto, su detección, la identificación del microorganismo causal y su susceptibilidad son perentorias.

Metodos: se revisaron los registros de 4110 botellas de cultivo de sangre obtenida de enero de 2013 a julio de 2014 de pacientes adultos en un hospital privado de tercer nivel.

Resultados: se observó crecimiento de microorganismos en 559 cultivos (12.6 %). En 2648 hemocultivos (60 %) inoculados en pares de frascos uno con medio aeróbico y el otro anaeróbico (1324 sets), se detectó crecimiento en 182 frascos a los que les fueron inoculadas las muestras tomadas al mismo tiempo a 135 pacientes (13.7 %). En 86 pares de frascos con las muestras de

54 pacientes (40 %), el crecimiento solamente se dio en el frasco aeróbico (47.5 %); en 24 pares de frascos (13.19 %) tomados a 21 pacientes (15.5 %, $p < 0.05$), solamente hubo crecimiento en el frasco anaeróbico. En los hemocultivos de 32 de 60 pacientes con crecimiento en ambos frascos (53 %), el crecimiento se detectó primero en el frasco anaeróbico.

Conclusiones: los hemocultivos anaeróbicos tienen una utilidad baja para la detección de bacteriemias por anaerobios estrictos; no obstante, en el 15.55 % de los pacientes estuvo presente el riesgo de pasar por alto la presencia de bacteriemia, y en 53 % de los pacientes con hemocultivos positivos, el diagnóstico de bacteriemia pudo establecerse de manera más temprana, lo que permitió anticipar con mejor precisión la toma de decisiones.

Resumen

que cada mililitro adicional de sangre aumenta la positividad en un 3.2 %, lo que puede explicar las diferentes tasas de aislamiento de microorganismos entre los diferentes estudios. Goldstein refirió en su estudio¹ que la sangre obtenida para el hemocultivo se inocula primero en el frasco para aerobios y la restante en el medio anaeróbico, por lo que en muchas ocasiones el volumen en este segundo frasco es menor y es posible que el número de pacientes con bacteriemia por anaerobios no haya disminuido; asimismo, señala que probablemente se sobreestimó la tasa hasta en un 20 % según fuera reportado en 1977.² El autor concluye que cualquier abordaje dogmático sobre el uso del frasco de hemocultivo anaeróbico debe rechazarse y recomienda que cada institución determine su uso de acuerdo con la prevalencia de bacteriemias anaeróbicas en los pacientes que atiende; también aclara que al emplearse de manera conjunta con el frasco aeróbico, las posibilidades de aislar microorganismos aerobios, anaerobios facultativos y anaerobios estrictos se incrementan.

En el presente reporte revisamos retrospectivamente los registros correspondientes a un periodo de 19 meses para caracterizar los atributos de la detección de microorganismos con el uso de sets de frascos de hemocultivo aeróbico y anaeróbico; asimismo, determinamos el tiempo transcurrido entre la inoculación y la detección del crecimiento, e hicimos la comparación de tiempos cuando el microorganismo creció en ambos frascos.

Métodos

Revisamos los resultados de los hemocultivos procesados del 1 de enero de 2013 al 31 de julio de 2014 en el Laboratorio de Microbiología del Hospital San José del Instituto Tecnológico de Estudios Superiores de Monterrey. Este es un hospital de enseñanza, de

corta estancia y de carácter privado, de tercer nivel de atención, con 220 camas, que cuenta con unidades de cuidados intensivos, de pacientes trasplantados y de pacientes con padecimientos oncológicos. Tiene un promedio de 1372 egresos por mes y una tasa de infecciones intrahospitalarias de 1.9 por 100 egresos.⁷

Solamente seleccionamos los hemocultivos efectuados a pacientes adultos de los diferentes servicios médicos, quirúrgicos y de las diferentes unidades (oncológica, trasplante, cuidados intensivos, etcétera).

Los hemocultivos fueron tomados por indicación médica. Se recomendó la toma simultánea (pares de frascos: aeróbico-anaeróbico) a los pacientes que se incluyeron en el estudio para comparar recuperación y rapidez de crecimiento.

De cada muestra se registraron la fecha y la hora de la toma del hemocultivo, tipo de frasco (aeróbico-anaeróbico), volumen de sangre, sexo, edad, servicio, número de cama, sitio de la toma, tiempo a la positividad del hemocultivo y resultado. El sitio de la toma se clasificó según si fue por medio de catéter venoso central o de venopunción periférica.

Se sugirió tomar en forma aséptica 20 mL de sangre y distribuir por igual primero en el frasco Bactec Plus Aerobic/F y luego en el Frasco Bactec Lytic/10 anaerobic/F (Becton Dickinson, Sparks, MD, USA). Los frascos se incubaron en el sistema automatizado Bactec FX (Becton Dickinson, Sparks, MD, USA), a 35 °C durante siete días. Se subcultivaron aquellos que el Bactec detectó positivos y se determinó el tiempo desde que inició la incubación hasta la detección de crecimiento. Si los microorganismos crecieron en ambos frascos, se comparó el tiempo y se consideró que crecieron al mismo tiempo si la diferencia entre ambos frascos fue menor de 12 minutos.

En los frascos cuyo contenido fue positivo se usó tinción de Gram y se hicieron siembras en agar Columbia-colistin-ácido nalidixico (CNA) con sangre de carnero al 5 %, agar MacConkey, agar chocolate y

agar anaeróbico de sangre de carnero; se incubaron a 35 °C por 48 horas.

Para la identificación y la susceptibilidad antimicrobiana se utilizó el sistema automatizado Phoenix® (Becton-Dickinson, Sparks, MD, USA); en el caso de las bacterias anaeróbicas se empleó el sistema Crystal® (Becton-Dickinson, Sparks, MD, USA).

Se incluyeron los datos de pacientes cuyos hemocultivos positivos desarrollaron microorganismos considerados patógenos. A menos que crecieran en varios frascos de hemocultivo en tomas diferentes, se consideraron contaminantes: *Corynebacterium* spp., *Bacillus*, *Propionibacterium* spp., difteroides aeróbicos, estreptococos grupo *viridans* y estafilococos coagulasa negativa.

Análisis estadístico

Se compararon los aislamientos con significado clínico desarrollados en los frascos para aerobios y anaerobios mediante la prueba exacta de Fisher según el tipo de microorganismo. Se aplicaron medidas descriptivas (número, media aritmética, desviación estándar y mediana). Se tabularon los tiempos hasta la positividad de crecimiento para las bacterias (Gram negativas, Gram positivas) cultivadas en los pares de frascos aeróbico-anaeróbico. Las medianas de tiempo hasta la positividad con intervalos de confianza del 95 % (IC) fueron estimadas por el método de Kaplan-Meier. Las comparaciones entre las medias aritméticas para el crecimiento de microorganismos tanto en el frasco aeróbico como en el anaeróbico se realizaron utilizando la

prueba de Wilcoxon. Las pruebas fueron de dos colas y se consideró significativa al nivel del 5 %.

Resultados

En los 19 meses del estudio se tomaron 4410 frascos de hemocultivo. Se reportó crecimiento de microorganismos en 559 frascos (12.6 %). El 60 % de los hemocultivos (2648) fue tomado en pares de frascos (1324 sets) y en 182 (13.7 %) se detectó crecimiento (figura 1), lo que correspondió a hemocultivos tomados a 135 pacientes.

En 86 de los sets positivos (47.5 %) el crecimiento solo se detectó en el frasco aeróbico, que correspondió a 54 pacientes (40 %); en 24 pares de frascos (13.19 %) el crecimiento ocurrió solo en el frasco anaeróbico, que correspondió a 21 pacientes (15.5 %, $p < 0.05$); asimismo, en los restantes 72 (39.6 %) el crecimiento se dio en ambos frascos tomados a 60 pacientes (44.4 %).

De los 21 pacientes con crecimiento de microorganismos únicamente en el frasco anaeróbico, en 3 (14.2 %) se aislaron anaerobios estrictos (*Bacteroides* spp. en dos y *Prevotella* spp. en uno), que representan el 2.2 % de los 135 pacientes detectados con bacteriemia al emplear los sets de dos frascos. En el resto crecieron organismos anaerobios facultativos, en especial *Escherichia coli*.

En los hemocultivos de 32 de los 60 pacientes (53 %) que presentaron crecimiento en ambos frascos, este se detectó primero en el frasco anaeróbico

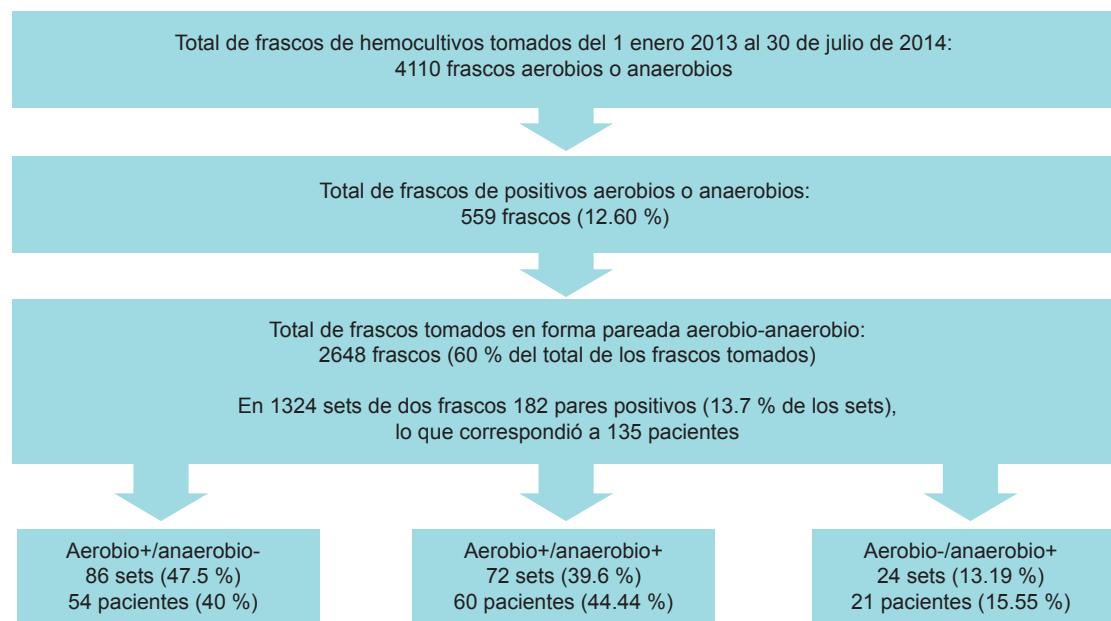


Figura 1 Frecuencia de hemocultivos positivos en 4110 frascos con medio para aerobios y en frascos con medio para anaerobios (enero 2013 a junio 2014) en un hospital de tercer nivel de Monterrey, México

($p < 0.05$); la diferencia de tiempo promedio de crecimiento fue de tres horas con 19 minutos (rango de 12 minutos a 71 horas).

En los hemocultivos que resultaron negativos, el volumen promedio de sangre inoculada fue de 5.7 mL, mientras que en los positivos fue de 8.3 mL.

Discusión

En diversos estudios se sugiere tomar simultáneamente un hemocultivo anaeróbico y uno aeróbico.⁸⁻¹¹ Sin embargo, dado el aumento en el número de aislamientos de aerobios estrictos, como *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, levaduras, etcétera, y la disminución en las tasas de bacteriemias anaeróbicas,^{1,4,12} en los últimos años se duda de la ventaja de la toma rutinaria del frasco anaeróbico, ya que se recomienda limitarlos a pacientes con enfermedades específicas, sobre todo ginecológicas o colorrectales; incluso, para no disminuir el volumen de sangre recolectada, se sugiere tomar dos frascos aeróbicos, cuando no esté indicado el anaeróbico. Este uso selectivo del frasco anaeróbico es difícil de llevar a cabo, ya que de 9 a 16 % de las bacteriemias por anaerobios estrictos ocurren en pacientes sin los factores de riesgo clásicos y además pueden ocurrir en diferentes servicios del hospital.^{5,12,13}

De los pacientes que detectamos con bacteriemia, en el 2.2 % de ellos esta infección se originaba por anaerobios estrictos, tasa que concuerda con el 0.5-5% que actualmente se reporta;^{13,15-17} el frasco anaeróbico representó solo el 14.2 % de los 21 pacientes positivos.

Si bien nuestros resultados, al igual que otros, muestran una tasa de bacteriemias por anaerobios estrictos muy baja, lo relevante es la detección de 18 aislamientos de patógenos facultativos que crecieron solo en el frasco anaeróbico (sin cuyo uso no se habrían detectado) y que representan el 13.3 % del total de pacientes. En estos casos predominó el aislamiento de enterobacterias principalmente *E. coli*, lo que concuerda con otros reportes.¹⁵⁻¹⁷

Es muy importante resaltar que cuando ambos frascos fueron positivos, el tiempo promedio para el crecimiento en el frasco anaeróbico se anticipó en un promedio de tres horas 19 minutos, partiendo del hecho de que más de la mitad de estos pacientes se beneficiaron con una identificación más rápida y oportuna del microorganismo, y una evaluación de su susceptibilidad a antimicrobianos más temprana.¹⁸⁻¹⁹

Con el sistema automatizado como con el que contamos se pueden inocular directamente de los frascos positivos los paneles Phoenix®, con lo que se obtiene una identificación confiable y un reporte del antibiograma hasta con 24 horas de anticipación.²⁰

Los sistemas de identificación más rápidos y precisos como el MALDI-TOF serán aún más útiles, al obtener un crecimiento más rápido de los microorganismos.^{21,22}

No hemos alcanzado la meta de inocular al menos 10 mL de sangre en cada frasco de hemocultivo y aunque los frascos con los que contamos son más efectivos que los previos,²³ la importancia del volumen de sangre queda de manifiesto, pues cuanto mayor es el volumen de sangre inoculada se obtienen más aislamientos.

Conclusión

La tasa de bacteriemias por microorganismos anaeróbicos estrictos en nuestro hospital es muy baja, lo que de primera intención sugiere una baja utilidad de la toma e inoculación rutinaria en pares de frascos para hemocultivo aeróbico y anaeróbico.

No obstante, consideramos que al menos en hospitales de tercer nivel es conveniente efectuar esta toma rutinariamente con base en los siguientes conceptos:

- El empleo simultáneo de pares de frascos para hemocultivo aerobio y anaerobio permite en un porcentaje apreciable (13.2 %) el diagnóstico de bacteriemia por patógenos aeróbicos y anaeróbicos, los cuales de otra manera no habrían sido detectados (pacientes con bacteriemia en los que el frasco de hemocultivo aeróbico fue negativo).
- Cuando ocurrió crecimiento de microorganismos en ambos frascos, el crecimiento en el frasco anaeróbico se anticipó en más de la mitad de los casos al aeróbico con una media aritmética de 3 horas 19 minutos, lo que permite la identificación más temprana del microorganismo, la aplicación de las pruebas de susceptibilidad y el diseño más preciso del tratamiento.

Declaración de conflicto de interés: los autores han completado y enviado la forma traducida al español de la declaración de conflictos potenciales de interés del Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas, y no fue reportado alguno en relación con este artículo.

Referencias

- Goldstein EJC. Anaerobic bacteremia. Clin Infect Dis. 1996;23 Suppl 1: S97-104.
- Finegold SM. Anaerobic bacteria in human disease. New York: Academic Press; 1977. pp. 201-17.
- Drosher CW, Roseblatt JE, Wilson WR, Ilstrup DM. Anaerobic bacteremia: decreasing rate over a 15-year period. Rev Infect Dis. 1991;13:633-6.
- Lombardi DP, Engleberg NC. Anaerobic bacteremia:

- incidence, patient characteristics, and clinical significance. *Am J Med.* 1992;92:53-60.
5. Morris AJ, Wilson MI, Mirrett S, Reller LB. Rationale for selective use of anaerobic blood cultures. *J Clin Microbiol.* 1993;31:2110-3.
6. Mermel LA, Maki DG. Detection of bacteremia in adults: consequences of culturing an inadequate volume of blood. *Ann Intern Med.* 1993;119:270-2.
7. Ayala-Gaytán JJ, Alemán-Bocanegra MC, Guajardo-Lara CE, Valdovinos-Chávez SB. Bacteriemia asociada a catéter central, revisión de cinco años en pacientes hospitalizados. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 2010;48:145-50.
8. Martin WJ. Routine anaerobic blood cultures: reasons for continued use. *Clin Microbiol News.* 1992;14:133-5.
9. Kellogg JA. Selection of a clinically satisfactory blood culture system: the utility of anaerobic media. *Clin Microbiol News.* 1995;17:121-8.
10. Cockerill FR, Hughes JG, Vetter EA, Mueller RA, Weaver AL, Ilstrup DM, et al. Analysis of 281,797 consecutive blood cultures performed over an eight-year period: trends in microorganisms isolated and the value of anaerobic culture of blood. *Clin Infect Dis.* 1997;24:403-18.
11. Salonen JH, Eorola E, Meurman O. Clinical significance and outcome of anaerobic bacteremia. *Clin Infect Dis.* 1998;26:1413-7.
12. Gransden WR, Eykyn SJ, Phillips I. Anaerobic bacteremia: declining rate over a 15-year period. *Rev Infect Dis.* 1991;13:1255-6.
13. Urban E. Five-years retrospective epidemiological survey of anaerobic bacteremia in a university hospital and review of the literature. *Eur J Microbiol Immunol.* 2012;2:140-7.
14. Lark RL, McNeil SA, VanderHyde K, Noorani A, Uberti J, Chenoweth C. Risk factors for anaerobic bloodstream infections in bone marrow transplant recipients. *Clin Infect Dis.* 2001;33:338-43.
15. Grohs P, Mainardi JL, Podglajen I, Hanras X, Eckert C, Buu-Hoi A, et al. Relevance of routine use of the anaerobic blood culture bottle. *J Clin Microbiol.* 2007;45:2711-5.
16. Chiueh TS, Lee SY, Tang SH, Lu JJ, Sun JR. Predominance of Enterobacteriaceae isolates in early positive anaerobic blood culture bottles in BacT/Alert system. *J Clin Lab Anal.* 2013;27:113-20.
17. Passerini R, Cassatella MC, Salvatici M, Bottari F, Mauro C, Radice D, et al. Recovery and time to growth of isolates in blood culture bottles: comparison of BD Bactec Plus Aerobic/F and BD Bactec plus Anaerobic /F bottles. *Scand J Infect Dis.* 2014;46:288-93.
18. Tumbarello M, Sanguinetti M, Montuori E, Trecarichi EM, Posteraro B, Fiori B, et al. Predictors of mortality in patients with bloodstream infections caused by extended- spectrum-beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: importance of inadequate initial antimicrobial treatment. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007;51:1987-94.
19. Kerremans JJ, Verboom P, Stijnen T, Hakkaart-van Roijen L, Goessens W, Verbrugh HA, et al. Rapid identification and antimicrobial susceptibility testing reduce antibiotic use and accelerate pathogen-directed antibiotic use. *J Antimicrob Chemother.* 2008;61:428-35.
20. Beuvign J, van der Donk CF, Linssen CF, Wolfs PF, Verbon A. Evaluation of direct inoculation of the BD PHOENIX system from positive BACTEC blood cultures for both Gram-positive cocci and Gram-negative rods. *BMC Microbiol.* 2011;11:155-62.
21. Wimmer JL, Long SW, Cernoch P, Land GA, Davis JR, Musser JM, et al. Strategy for rapid identification and antibiotic susceptibility testing of Gram-negative bacteria directly recovered from positive blood cultures using the Bruker MALDI Biotyper and the BD Phoenix system. *J Clin Microbiol.* 2012;50:2452-4.
22. Perez KK, Olsen RJ, Musick WL, Cernoch PL, Davis JR, Land GA, et al. Integrating rapid pathogen identification and antimicrobial stewardship significantly decreases hospital costs. *Arch Pathol Lab Med.* 2013;137:1247-54.
23. Zadroga R, Williams DN, Gottschall R, Hanson K, Nordberg V, Deike M, et al. Comparison of two blood culture media shows significant differences in bacterial recovery for patients on antimicrobial therapy. *Clin Infect Dis.* 2013;56:790-7.