

Solución salina como medio de cultivo desde el punto de vista de las bacteriemias nosocomiales

Verónica Vanesa Infante,* Ana María Cano,*
Humberto Medina Valdovinos,* Alejandro E. Macías,* José Antonio Álvarez*

* Universidad de Guanajuato y Hospital Regional de Alta Especialidad del Bajío.

Saline solution as culture media from a viewpoint of nosocomial bacteremia

ABSTRACT

Introduction. Nutrient-containing aqueous solutions for parenteral use are susceptible of microbial contamination, being an important cause of serious infectious complications. **Objective.** To determine the capacity of organisms for growing in saline as compared with dextrose solution and tri-distilled sterile water. **Material and methods.** Experimental controlled study. Different microbial strains were inoculated in aqueous solutions (5% dextrose and 0.9% saline) as well as tri-distilled sterile water. Results were analyzed using the ANOVA test for repeated measurements. **Results.** In 0.9% saline solution, all the Enterobacteriaceae strains tested had a significant increase in their bacterial quantification in the analyzed time period ($F = 8.35$, $p = 0.0145$). For most organisms, the growth was even better than the one observed in nutrient-containing solution. **Conclusions.** The 0.9% saline solution can support significative growing of potentially pathogenic bacteria. We recommend a strict compliance to the good nursing standards when handling this kind of solutions.

Key words. Microbiologic security. Saline solution. Glucose solution. Contamination.

RESUMEN

Introducción. Las soluciones acuosas de uso parenteral pueden ser susceptibles de contaminación microbiana durante su fabricación o durante su administración, causando serias complicaciones infecciosas. **Objetivo.** Determinar la capacidad de crecimiento de diferentes microorganismos en distintas soluciones acuosas parenterales y agua estéril tridestilada. **Material y métodos.** Estudio experimental controlado. Se cultivaron suspensiones de distintas cepas microbianas en soluciones acuosas para uso parenteral (dextrosa a 5%, salina a 0.9%) y agua tridestilada estéril. El análisis de los resultados se hizo mediante ANOVA de medidas repetidas. **Resultados.** En la solución salina a 0.9% se encontró que todas las enterobacterias probadas mostraron un incremento significativo en sus cuentas bacterianas a lo largo del periodo analizado ($F = 8.35$, $p = 0.0145$). Para la mayoría de los organismos el crecimiento fue mejor que en la solución de dextrosa a 5%. **Conclusiones.** La solución salina a 0.9% permite el desarrollo de bacterias con potencial patógeno. Se recomienda un apego estricto a las buenas prácticas de enfermería cuando se manipulen estas soluciones.

Palabras clave. Solución salina. Seguridad microbiológica. Contaminación.

INTRODUCCIÓN

Las soluciones parenterales tienen una utilidad amplia, ya sea como apoyo en la terapia de reposición hidroelectrolítica, como vehículo para administración de fármacos, en procedimientos de lavados quirúrgicos, lavados oftálmicos, conservación de lentes de contacto, etc., por lo que son ampliamente utilizadas en pacientes hospitalizados; sin embargo, dichas soluciones pueden ser susceptibles de conta-

minación microbiana durante su fabricación (contaminación intrínseca) o durante su administración (contaminación extrínseca), causando serias complicaciones infecciosas.¹⁻³

Existen reportes de Estados Unidos que muestran que durante el periodo entre 1965 y 1978 una parte sustancial de las bacteriemias nosocomiales se relacionaron con soluciones contaminadas de manera intrínseca;⁴⁻⁵ sin embargo, las buenas prácticas de manufactura en las institu-

ciones han reducido esta contaminación a niveles ínfimos.⁵⁻¹¹

La contaminación extrínseca de las soluciones parenterales se ha propuesto como una causa importante de morbilidad y mortalidad asociadas con bacteriemias en recién nacidos en hospitales de países en vías de desarrollo.¹²⁻¹⁵ Los grupos bacterianos reportados en la contaminación de estas soluciones son especies de la tribu *Klebsiellae*: *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp. o *Serratia* spp.,^{4-5,12-15} ya que poseen la habilidad de crecer en soluciones enriquecidas con dextrosa.^{1,13-15} Se ha informado que las soluciones glucosadas son eficientes para mantener viables bacterias patógenas a temperatura ambiente, por lo que actualmente se toman medidas de control en la manipulación de las soluciones en hospitales, así como evitar mezclas para disminuir su contaminación.¹⁶

Investigaciones previas han obtenido diferentes resultados sobre el crecimiento de las bacterias de la tribu *Klebsiellae* en distintas soluciones parenterales;¹⁷⁻²² esto se debe a la variabilidad en el inóculo inicial utilizado para los estudios.^{1,8,9,17,21} Las soluciones salinas, tales como la fisiológica a 0.9%, se consideran inocuas toda vez que carecen de aporte energético en forma de glucosa en solución, por lo que las medidas de control en ellas no son tan rígidas, a pesar de casos publicados de contaminación de soluciones salinas utilizadas para conservar lentes de contacto.²³ Aun así no existe evidencia suficiente respecto a la seguridad microbiológica de la solución salina parenteral, por lo que es necesario aportar nuevas evidencias al respecto.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se trata de un estudio experimental controlado para evaluar la capacidad de crecimiento de diferentes microorganismos en distintas soluciones acuosas parenterales a temperatura ambiente, además de agua tridestilada estéril.

Los microorganismos seleccionados fueron aislados de diversas muestras biológicas de pacientes ambulatorios provenientes del laboratorio de microbiología del Departamento de Medicina y Nutrición de la Universidad de Guanajuato. Las cepas microbianas que se aislaron fueron:

- *Klebsiella pneumoniae*.
- *Enterobacter aerogenes*.
- *Pseudomonas aeruginosa*.
- *Acinetobacter baumannii*.
- *Staphylococcus aureus*.

- *Enterococcus faecalis*, y
- *Candida albicans*.

Adicionalmente se utilizaron como controles las siguientes cepas:

- *Escherichia coli* ATCC 25922.
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, y
- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Las cepas microbianas se cultivaron durante 24 h a 35 ± 2 °C en medios de cultivo agar sangre de carnero (BBL®, Beckton-Dickinson®, México) para preparar un inóculo mediante la suspensión directa de colonias en solución salina y lograr una turbidez de 0.5 unidades de McFarland (1.5×10^8 unidades formadoras de colonias/mL [UFC/mL]). De esta suspensión inicial se inocularon las soluciones parenterales a probar, de tal manera que la concentración final estimada fuera de 300 UFC/mL al inicio del experimento (tiempo cero). Las soluciones inoculadas fueron incubadas a temperatura ambiente (23-26 °C) y se recolectaron muestras para la cuenta bacteriana a las cero, tres, seis y 24 h como se describe a continuación:

Se tomaron 10 µL de la suspensión y se distribuyeron mediante un dispersor microbiológico en L en cajas de agar soya tripticaseína (MCD Lab®, S.A. de C.V., México) para la cuenta de bacterias, seguido de una incubación a 35 ± 2 °C durante 24 h; el número de las colonias obtenidas se multiplicó por 100 para obtener el número de UFC/mL. Como solución de prueba se utilizó solución salina a 0.9% (Laboratorios Pisa S.A. de C. V., Guadalajara, México), como soluciones control para el desarrollo bacteriano, solución de dextrosa a 5% (Pisa®, México) y agua tridestilada estéril; todas ellas embotelladas en contenedores de plástico colapsables.

Todos los ensayos se realizaron por duplicado y cada paso de los experimentos fue evaluado, plenamente identificado y anotado en una bitácora especialmente diseñada. Para determinar la curva de crecimiento bacteriano se calcularon las UFC/mL para cada microorganismo inoculado en cada una de las soluciones probadas a los tiempos cero, tres, seis y 24 h, considerando conveniente no seguir los cultivos más allá de 24 h para reflejar así lo que ocurre con las botellas de solución parenteral utilizadas en los hospitales y centros de atención a pacientes, donde generalmente el tiempo de administración no es mayor de 24 h. Se hizo una transformación logarítmica en base 10 a los resultados obtenidos y, posteriormente, para todas las cuentas iniciales se

estandarizaron los valores a 1. A las 24 h de incubación se evidenció por la turbidez que el crecimiento bacteriano era considerable; se realizó una dilución 1:1,000 en solución salina para hacer la cuantificación de manera eficiente.

RESULTADOS

Al respecto de la solución salina a 0.9% se encontró que todas las enterobacterias probadas (un cepa de *K. pneumoniae*, una de *E. aerogenes* y otra de *E. coli* ATCC 25922) mostraron un incremento significativo en sus cuentas bacterianas a lo largo del periodo analizado ($F = 8.35$, $p = 0.0145$); *S. aureus* ATCC 25923 y *E. faecalis* mostraron una disminución significativa en las cuentas bacterianas durante el periodo estudiado ($F = 8.51$, $p = 0.0139$), mientras que en los bacilos gramnegativos no fermentadores y la cepa clínica de *S. aureus* las cuentas bacterianas mostraron una variación no significativa durante el lapso de estudio ($F = 0.03$, $p = 0.968$). En el cuadro 1 se muestra el seguimiento temporal

de las cuentas bacterianas para cada cepa inoculada en la solución fisiológica de NaCl a 0.9%.

En el caso de la solución de dextrosa a 5% las bacterias de la tribu *Klebsiellae* (*K. pneumoniae* y *E. aerogenes*) mostraron un incremento significativo en sus cuentas bacterianas en el lapso estudiado ($F = 7.53$, $p = 0.0013$). Se observó una disminución significativa en las cuentas bacterianas, tanto en los cocos grampositivos probados (una cepa clínica de *S. aureus*, una de *S. aureus* ATCC 25923 y otra de *E. faecalis*) como en las cepas de *E. coli* ATCC 25922 y *P. aeruginosa* ATCC 27853 ($F = 23.65$, $p = 0.0061$), mientras que las cepas clínicas de *P. aeruginosa* y *A. baumannii* se mantuvieron viables, pero las variaciones en sus cuentas bacterianas no fueron significativas ($F = 1.00$, $p = 0.405$). En el cuadro 2 se muestra el seguimiento temporal de las cuentas bacterianas para cada cepa inoculada en la solución de dextrosa a 5%.

Respecto al comportamiento de las cepas probadas en agua tridestilada las bacterias de la tribu *Klebsiellae* no mostraron variaciones significativas en

Cuadro 1. Crecimiento de los microorganismos (UFC/mL) en solución salina a 0.9% en agua durante diferentes tiempos.

Microorganismo inoculado	0 h	3 h	6 h	24 h
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	225	200	200	1725
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	325	325	325	7008
<i>Enterobacter aerogenes</i>	225	375	625	5458
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	250	250	175	75
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	250	250	125	75
<i>Acinetobacter baumannii</i>	275	250	200	75
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	250	250	125	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	325	300	250	50
<i>Enterococcus faecalis</i>	250	300	175	0
<i>Candida albicans</i>	250	125	50	0
Control sin inóculo	0	0	0	0

Cuadro 2. Crecimiento de los microorganismos (UFC/mL) en solución de dextrosa a 5% en agua durante diferentes tiempos.

Microorganismo inoculado	0 h	3 h	6 h	24 h
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	225	175	25	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	200	225	250	790
<i>Enterobacter aerogenes</i>	225	200	350	810
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	275	225	50	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	250	220	100	80
<i>Acinetobacter baumannii</i>	230	230	150	50
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	250	125	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	225	200	25	0
<i>Enterococcus faecalis</i>	230	180	50	0
<i>Candida albicans</i>	200	100	0	0
Control sin inóculo	0	0	0	0

Cuadro 3. Crecimiento de los microorganismos (UFC/mL) en agua tridestilada estéril durante diferentes tiempos.

Microorganismo inoculado	0 h	3 h	6 h	24 h
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	125	75	75	50
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	125	125	275	340
<i>Enterobacter aerogenes</i>	200	225	175	310
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	225	175	75	25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	250	150	150	75
<i>Acinetobacter baumannii</i>	250	200	100	25
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	350	300	250	150
<i>Staphylococcus aureus</i>	300	300	250	150
<i>Enterococcus faecalis</i>	250	200	175	100
<i>Candida albicans</i>	200	100	0	0
Control sin inóculo	0	0	0	0

sus cuentas bacterianas a lo largo del periodo estudiado ($F = 0.11$, $p = 0.741$), mientras que en las cepas restantes, excluyendo a *C. albicans*, las cuentas microbianas mostraron una disminución no significativa a lo largo del tiempo ($F = 1.99$, $p = 0.101$). En el cuadro 3 se muestra el seguimiento temporal de las cuentas bacterianas para cada cepa inoculada en agua tridestilada.

En el caso de la cepa clínica de *C. albicans* se observó una disminución significativa en sus cuentas microbianas, incluso cuentas iguales a cero en las dos soluciones acuosas probadas y el agua tridestilada estéril ($F = 99.57$, $p < 0.0001$).

Los controles de siembras de las tres soluciones sin inóculos no mostraron crecimiento alguno a lo largo del periodo de estudio.

En la figura 1 se observa el comportamiento a lo largo del periodo analizado de las cuentas microbianas de los gérmenes inoculados en la solución salina a 0.9%, solución de dextrosa a 5% y agua tridestilada, respectivamente.

DISCUSIÓN

Sobre la base de los resultados es posible considerar que las soluciones utilizadas a gran escala en la actividad clínica con bajo o casi nulo aporte energético pueden mantener la viabilidad bacteriana; tal es el caso de la solución salina a 0.9% y el agua tridestilada estéril, ya que en este reporte se permitieron el mantenimiento y desarrollo de cepas bacterianas de la tribu *Klebsiellae*, gérmenes ya reportados como agentes causantes de bacteriemias nosocomiales por contaminación de soluciones parenterales.^{4-5,12-15}

En el presente trabajo se considera que la solución de dextrosa a 5% mostraría un mayor creci-

miento bacteriano que el resto de las soluciones, debido al mayor aporte energético en solución, pero la viabilidad bacteriana fue considerablemente menor que la observada en la solución salina a 0.9%. Se sabe que existen diferencias en el pH de las distintas soluciones parenterales utilizadas en la terapia intravenosa, pero tendría que determinarse mediante estudios orientados al respecto cómo es posible que esta diferencia en el pH explicaría los resultados observados, y si esto afecta en la virulencia de los microorganismos contaminantes, toda vez que la información al respecto es escasa y se carece de estudios contundentes sobre la evidencia de estos fenómenos.²⁴

Cabe mencionar que los resultados presentados difieren respecto a los reportados por otros ensayos similares,¹⁷⁻²² principalmente en la observación de que bacterias con alto potencial patógeno pueden permanecer en óptimas condiciones en la solución salina a 0.9%; es posible que esta diferencia radique en la carga microbiana utilizada, además de que las especies microbianas utilizadas en este ensayo fueron de especies distintas, mostrando un comportamiento variado entre grupos bacterianos. Quizá los mecanismos de adaptación microbiana pueden variar entre las especies según las condiciones ambientales a las que son sometidas y pueden utilizar fuentes alternativas de energía.

Se sabe que las bacteriemias relacionadas con la contaminación de soluciones parenterales (sobre todo las que proporcionan un aporte energético a los microorganismos) se asocian principalmente a bacilos gramnegativos entéricos, y que este patrón epidemiológico se observa con mayor frecuencia en los países en desarrollo,^{25,26} toda vez que no se ha erradicado la práctica de realizar mezclas con las soluciones parenterales, particularmente en el área de

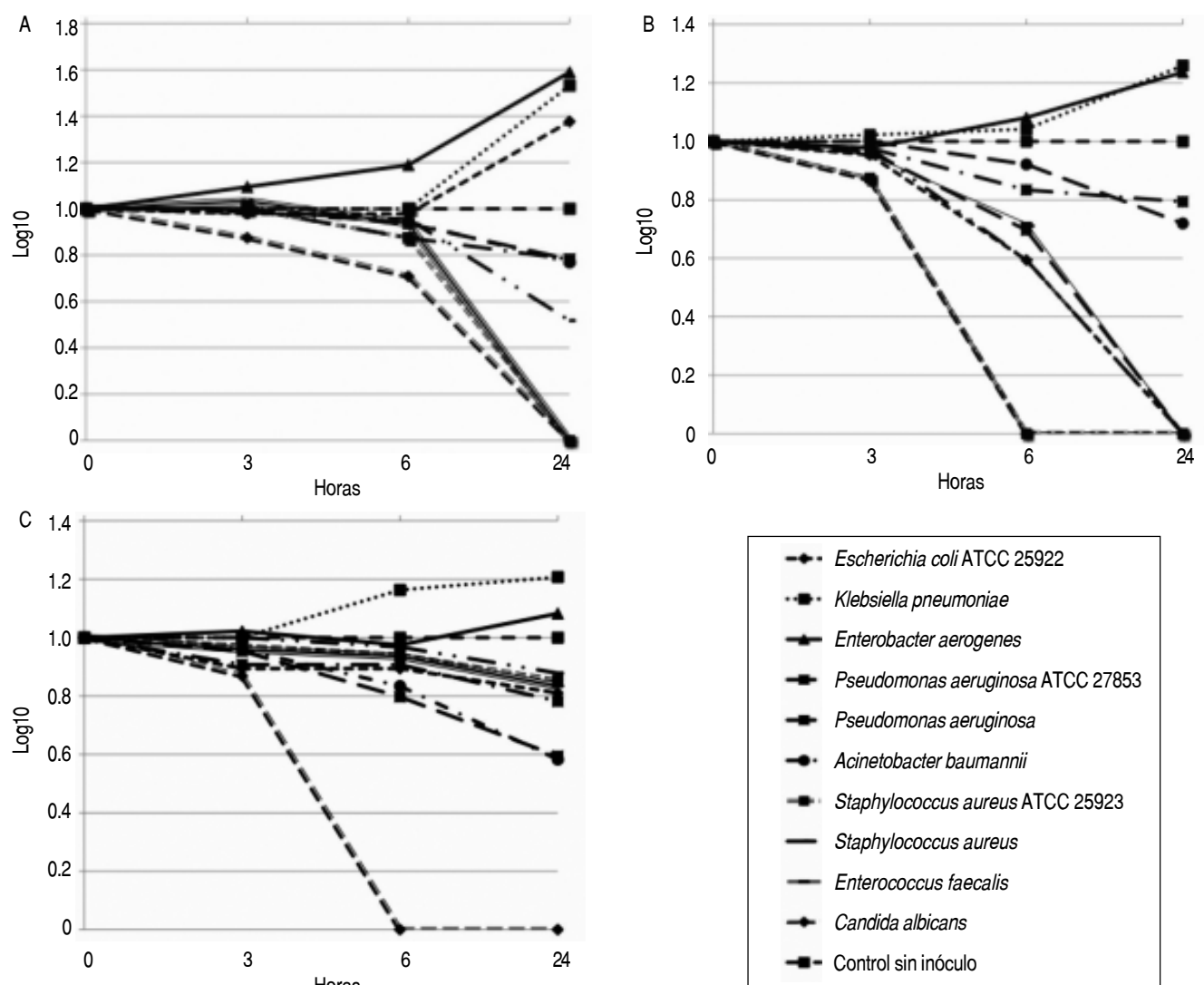


Figura 1. Se muestra la curva de crecimiento de las distintas cepas bacterianas inoculadas. A. Solución fisiológica de NaCl a 0.9%. B. Solución de dextrosa a 5%. C. Agua tridestilada.

pediatría; asimismo se considera que una proporción considerable de los microorganismos entéricos asociados con bacteriemias en países en desarrollo provienen de catéteres intravasculares contaminados por manipulación de personal no capacitado;²⁷ en el caso de las bacteriemias relacionadas con soluciones parenterales y catéteres de los países desarrollados los microorganismos principalmente aislados son cocos grampositivos que provienen de la piel del paciente en el sitio de inserción de las vías de administración, además de que la manipulación por parte del personal de las soluciones parenterales y de los catéteres es prácticamente inexistente en estos países.²⁸ Por lo anterior se considera de vital importancia vigilar el uso, almacenamiento y manipula-

ción de las soluciones parenterales, tanto de las que contienen aporte energético como aquellas con una concentración baja o nula de nutrientes, toda vez que su contaminación puede tener consecuencias graves en la salud de los pacientes.

CONCLUSIONES

Se concluye, con base en las observaciones hechas y en lo discutido, que es peligroso considerar a la solución salina a 0.9% y al agua estéril como inocuas y manejarlas con pobres estándares de seguridad, ya que estas soluciones se utilizan tanto para terapias de reposición hídrica como vehículos para medicamentos, ya sea por vía endovenosa o intra-

muscular, incluso se utilizan para lavados por arrastre mecánico o como medio para mantener lentes de contacto.

Los comités de infecciones nosocomiales deben vigilar continuamente a este tipo de soluciones en las áreas clínicas para evitar su contaminación y una posible fuente de infecciones nosocomiales asociadas a ello, así como evaluar el impacto de malas prácticas de higiene durante el uso de solución salina a 0.9%. Asimismo, se deben hacer más estudios que abonen la evidencia entre las malas prácticas de higiene en el uso de la solución salina a 0.9% y su relación con las infecciones nosocomiales.

REFERENCIAS

1. Maki DG, Martin WT. Nationwide epidemic of septicemia caused by contaminated infusion products. IV. Growth of microbial pathogens in fluids for intravenous infusion. *J Infect Dis* 1975; 131: 267-72.
2. Macías AE, Bruckner DA, Hindler JA, Muñoz JM, Medina H, Hernández I, et al. Parenteral infusions as culture media from a viewpoint of nosocomial bacteremia. *Rev Invest Clin* 2000; 52: 39-43.
3. Bennett SN, McNeil MM, Bland LA, Arduino MJ, Villarino ME, Perrotta DM, et al. Postoperative infections traced to contamination of an intravenous anesthetic, propofol. *N Engl J Med* 1995; 333: 147-54.
4. Maki DG, Rhame FS, Mackel JV. Nationwide epidemic of septicemia caused by contaminated intravenous products. I. Epidemiologic and clinical features. *Am J Med* 1976; 60: 471-85.
5. Maki DG. Infections due to infusion therapy. In: Bennet JV, Brachman PS, Sanford JP (eds.). *Hospital infections*. 3th Ed. Boston: Little, Brown and Company; 1992, p. 849-92.
6. Band JD, Maki DG. Safety of changing intravenous delivery systems at longer than 24-hours intervals. *Ann Intern Med* 1979; 91: 173-8.
7. Buxton AE, Highsmith AK, Garner JS, et al. Contamination of intravenous fluid: Effects of changing administration sets. *Ann Intern Med* 1979; 90: 764-8.
8. Gorbea HF, Snyderman DR, Delaney A, Stockman J, Martin WJ. Intravenous tubing with burettes can be safely changed at 48-hours intervals. *JAMA* 1984; 251: 2112-5.
9. Josephson A, Gombert ME, Sierra MF, et al. The relationship between intravenous fluid contamination and frequency of tubing replacement. *Infect Control* 1985; 6: 367-70.
10. Maki DG, Botticelli JT, LeRoy ML, Thielke TS. Prospective study of replacing administration sets for intravenous therapy at 48- vs. 72-hours intervals. *JAMA* 1987; 258: 1777-81.
11. Snyderman DR, Reidy MD, Perry LK, Martin WJ. Safety of changing intravenous (IV) administration sets containing burettes at longer than 48 hours intervals. *Infect Control* 1987; 8: 113-6.
12. Hernández Ramos MA, Gaytan Meza J, Romero D, Hernández M, Ávila C. Contaminación de soluciones parenterales en pediatría. *Enf Infecc Microbiol* 1998; 18: 100-01.
13. Macías AE, Muñoz JM, Bruckner DA, Galván A, Rodríguez AB, Guerrero FJ, et al. Parenteral infusions bacterial contamination in a multi-institutional survey in Mexico: Considerations for nosocomial mortality. *Am J Infect Control* 1999; 27: 285-90.
14. Macías-Hernández AE, Ortega-González P, Muñoz Barret JM, et al. Pediatric nosocomial bacteremia. Culturing infusion liquids may help in its control. *Rev Invest Clin* 1994; 46: 295-300.
15. Macías-Hernández AE, Hernández-Ramos I, Muñoz Barret JM, et al. Pediatric primary gram-negative bacteremia: A possible relationship with infusate contamination. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1996; 17: 276-80.
16. Weil DC, Arnow PM. Safety of refrigerated storage of admixed parenteral fluids. *J Clin microbiol* 1998; 26: 1787-90.
17. Crichton EP. Infusion fluids as culture media. *Am J Clin Pathol* 1973; 59: 199-202.
18. Felts SK, Schaffner W, Melly A, Koenig MG. Sepsis caused by contaminated intravenous fluids. Epidemiological, clinical and laboratory investigation of an outbreak in one hospital. *Ann Intern Med* 1972; 77: 881-90.
19. Gelbart SM, Reinhardt GF, Greenlee HB. Multiplication of nosocomial pathogens in intravenous feeding solutions. *Appl Microbiol* 1973; 26: 874-9.
20. Guynn JB, Poretz DM, Diuma RJ. Growth of various bacteria in a variety of intravenous fluids. *Am J Hosp Pharm* 1973; 30: 321-5.
21. Hugbo PG, Imhanlahimi WAA. Growth of bacteria in intravenous fluids under simulated actual-use conditions. *Am J Hosp Pharm* 1983; 40: 998-1001.
22. Michael L, Ruebner B. Growth of bacteria in intravenous infusion fluids. *Lancet* 1953; i: 772-4.
23. Sweeney DF, Willcox MD, Sansey N, Leitch C, Harmis N, Wong R, Holden BA. Incidence of contamination of preserved saline solutions during normal use. *CLAO J* 1999; 25: 167-75.
24. Klimpel D, Cohon MS. pH of intravenous solutions. *N Engl J Med* 1969; 280(16): 900-01.
25. Macías AE, Muñoz JM, Herrera LE, Medina H, Hernández I, Alcántar D, et al. Nosocomial pediatric bacteremia: The role of intravenous set contamination in developing countries. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2004; 25: 189-9.
26. Pegues DA, Arathoon EG, Samayoa B, Del Valle GT, Anderson RL, Riddle CF, et al. Epidemic gram-negative bacteremia in a neonatal unit in Guatemala. *Am J Infect Control* 1994; 22: 163-71.
27. Mosqueda JL, Álvarez JA, Muñoz JM, Alpuche C, Ponce-de-León S, Córdova JA. Análisis de las bacteriemias nosocomiales pediátricas en un hospital general entre 1990 y 2006. Impacto de la atención a la terapia intravascular. *Rev Invest Clin* 2010; 62: 503-08.
28. Pronovost P, Needham D, Berenholtz S, Sinopoli D, Chu H, Cosgrove S et al. An intervention to decrease catheter-related bloodstream infections in the ICU. *N Engl J Med* 2006; 355: 2725-32.

Reimpresos:

Dr. José Antonio Álvarez-Canales
Departamento de Medicina y Nutrición
Universidad de Guanajuato, Campus León
20 de enero, Núm. 929
37320, León, Gto.
Correo electrónico: micros_iesus@yahoo.com

Recibido el 6 de diciembre 2010.
Aceptado el 12 de diciembre 2011.