

HEMOCULTIVOS

REF B0720586

REF B0720581

REF B0720483

REF B0720489

REF B0720484

REF B0720490

IVD

→ USO

Medio utilizado para el cultivo de microorganismos a partir de muestras de sangre.

FUNDAMENTO

Los frascos Britania para hemocultivo permiten el desarrollo de microorganismos aeróbicos, CO₂ dependientes y anaeróbicos, y están especialmente indicados para el método de los cultivos líquidos. En esta técnica, la sangre es extraída asépticamente y se introduce en el frasco el cual contiene el medio que provee los requerimientos nutritivos y ambientales para aquellos gérmenes comúnmente hallados en bacteriemias.

Las bacteriemias están relacionadas a diferentes procesos infecciosos y probablemente se produzca una bacteriemia en alguna etapa de todas las infecciones. Bacteriemia no implica necesariamente enfermedad y puede producirse transitoriamente como resultado de tratamientos odontológicos u otros manipuleos. La bacteriemia puede ser transitoria, intermitente o continua.

La invasión de la sangre por microorganismos generalmente ocurre por drenaje del foco primario de infección vía linfática al sistema vascular, o directamente a través de agujas o material intravascular contaminado tales como catéteres o injertos.

El hallazgo de una bacteriemia debe constituir un llamado de atención y los hemocultivos son de importancia clínica ya que la presencia de microorganismos vivos en episodios de bacteriemias y/o septicemias está asociada con una considerable morbilidad y mortalidad.

Los principales factores de fracaso de la técnica de hemocultivos son las propiedades bactericidas del suero del enfermo y la coagulación de la sangre, ya que en el coágulo pueden quedar atrapadas las bacterias.

La acción bactericida se supera aumentando la relación de dilución sangre-medio. La coagulación de la sangre se previene bastante por la dilución pero además por el empleo del anticoagulante apropiado Polianetol Sulfonato de Sodio. Otros anticoagulantes tales como el clásico citrato de sodio mostraron acción tóxica sobre las bacterias.

Debido a que en algunos procesos infecciosos, el número de organismos por ml de sangre es muy escaso (menos de 1/ml), se requieren grandes volúmenes de muestra y por ende, más cantidad de medio y envases de mayor tamaño. Tal como se indica desde la revisión del Cumitech 1 sobre hemocultivos, para detectar una bacteriemia o funguemia debe existir por lo menos un microorganismo viable por ml presente en la muestra de sangre a cultivar.

Para una óptima recuperación microbiana debe existir una relación apropiada entre el volumen de sangre y el volumen de caldo

de hemocultivo, la cual es aproximadamente 1:10. El inóculo de muy bajos o muy altos volúmenes de sangre puede afectar adversamente el crecimiento microbiano y los tiempos de recuperación.

CONTENIDO Y COMPOSICIÓN

Código B0720586: HEMOCULTIVO NEONATAL (AERÓBICO): 12 frascos x 10 ml.

Código B0720581: HEMOCULTIVO NEONATAL (AERÓBICO): 100 frascos x 10 ml. Envase hospitalario.

Código B0720483: HEMOCULTIVO PEDIÁTRICO (MULTIPROPÓSITO): 6 frascos x 20 ml.

Código B0720489: HEMOCULTIVO PEDIÁTRICO (MULTIPROPÓSITO): 60 frascos x 20 ml. Envase hospitalario.

Código B0720484: HEMOCULTIVO ADULTO (MULTIPROPÓSITO): 6 frascos x 50 ml.

Código B0720490: HEMOCULTIVO ADULTO (MULTIPROPÓSITO): 60 frascos x 50 ml. Envase hospitalario.

Los frascos de hemocultivo contienen un medio de cultivo altamente nutritivo y una atmósfera apropiada y controlada en donde se promueve el desarrollo de diferentes microorganismos comúnmente hallados en bacteriemias. Permiten el crecimiento de bacterias aerobias, CO₂ dependientes y anaerobias, microorganismos de fácil desarrollo y exigentes en sus requerimientos nutricionales.

Existen hemocultivos útiles para usar en neonatos, en pacientes pediátricos y adultos (hemocultivo neonatal, hemocultivo pediátrico y hemocultivo adulto, respectivamente). Esta división según grupo etario es debido a que para permitir un óptimo crecimiento microbiano de los gérmenes presentes en la muestra es necesaria una relación apropiada entre el volumen de sangre que se inocula en el frasco y la cantidad de medio de cultivo presente en el mismo y además porque la atmósfera de los frascos está controlada y formulada de acuerdo a los agentes etiológicos de bacteriemias más frecuentes según la edad de los pacientes.

La fórmula del medio de cultivo incluye ingredientes altamente nutritivos como ser: infusión cerebro corazón, extracto de levadura, cistina, menadiona, hemina, cisteína y una mezcla de cofactores, vitaminas y minerales en agua purificada.

El anticoagulante utilizado es el polianetol sulfonato de sodio (PSS), el cual impide la coagulación de la sangre y presenta además actividad anticomplementaria que inhibe parcialmente la capacidad fagocitaria de los leucocitos y a ciertos antibióticos aminoglucósidos y polipeptídicos.

Los frascos de Hemocultivo Neonatal son aeróbicos y su atmósfera presenta una cantidad controlada de anhídrido carbónico (CO₂).

Los frascos de Hemocultivo Adulto Multipropósito y Hemocultivo Pediátrico Multipropósito contienen una atmósfera controlada de nitrógeno (N₂) y anhídrido carbónico (CO₂) que asegura el desarrollo de cepas anaerobias estrictas, CO₂ dependientes y facultativas.

CADA FRASCO DE HEMOCULTIVO BRITANIA CONTIENE LOS SIGUIENTES COMPONENTES:

- **Medio basal:** Preparado a partir de medio infusión cerebro corazón, extracto de levadura, cistina, y una mezcla de cofactores, vitaminas y minerales. Su composición permite el desarrollo de bacterias nutricionalmente exigentes que puedan ser causa de bacteriemias.

- **Polianetol sulfonato de sodio (PSS):** 0,03%. Anticoagulante con actividad anticplementaria que inhibe parcialmente la capacidad fagocitaria de los leucocitos y a ciertos antibióticos aminoglucósidos y polipeptídicos.

- **Menadiona:** 0,5 ug/ml y **Hemina:** 5 ug/ml
Requeridos para el desarrollo de ciertas especies de Bacteroides spp. y Prevotella spp.

- **Cisteína:** 0,05%: Ayuda a mantener un reducido Eh y permite el desarrollo de microorganismos que exigen tiol, como ciertos mutantes de Streptococcus spp.

- Agua purificada

Nota: La fórmula del medio de cultivo puede ser ajustada y/o suplementada para cumplir los criterios de desempeño y aceptación del producto, cumpliendo su uso previsto.

INSTRUCCIONES

Producto estéril, listo para usar.

CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO

Medio de cultivo color amarillo - ámbar, transparente, límpido.

Nota: la presencia de polianetol sulfonato de sodio y la atmósfera de CO₂ pueden otorgar al producto una ligera opalescencia o contener pequeños cristales en suspensión.

ALMACENAMIENTO

Los frascos de hemocultivo se conservan a 10-35 °C.

PROCEDIMIENTO

Información previa: Es necesario que junto con las muestras se reciba la necesaria información del paciente que incluya el diagnóstico presuntivo y severidad de la infección, su curva térmica y la antibioticoterapia recibida (antibiótico, dosis y esquema terapéutico). En este último caso es útil conocer la hora de administración del antibiótico ya que es preferible obtener las muestras antes de iniciar el tratamiento antibiótico o cuando el nivel circulante del mismo sea el mínimo (valle), es decir antes de la administración de la nueva dosis del mismo.

Preparación de la piel: Los desinfectantes de elección son la tintura de yodo al 2% o la solución de yodo-povidona al 10%. Cuando existe hipersensibilidad al yodo se puede utilizar alcohol

70%. El merthiolate no es adecuado. Una vez determinado el sitio de punción, desinfectar la piel de la zona elegida y el tapón de goma del frasco de Hemocultivo. Dejar actuar el desinfectante durante 1 minuto.

No efectuar una nueva palpación del sitio de punción luego de desinfectada la piel si no se usan guantes estériles o la piel del dedo del profesional de la salud haya sido descontaminada de la misma forma que el sitio de punción del paciente.

Extracción: La muestra puede obtenerse por punción arterial o venosa empleando jeringa y aguja estériles.

Si no se obtiene muestra en la primera punción, el nuevo intento debe efectuarse con otra aguja y jeringa estériles. A los efectos de descartar contaminaciones, las muestras sucesivas de un hemocultivo seriado tienen que obtenerse de distintas zonas de punción. Luego de efectuada la extracción de sangre, es conveniente remover la tintura de yodo con alcohol para evitar fenómenos tóxicos locales.

Volumen de sangre: Según ensayos sobre medios con polianetol sulfonato de sodio (PSS), las diluciones recomendadas de sangre en el medio de cultivo fluctúan aproximadamente 1:10 (esto permite tener actividad anticoagulante y además se diluyen las propiedades bactericidas normales de la sangre).

En el caso de lactantes o niños pequeños, pueden ser necesarias diluciones mayores. Por lo tanto, y respetando la concentración de PSS presente en el medio, los volúmenes de muestra recomendados son los siguientes:

- HEMOCULTIVO NEONATAL (contiene 10 ml de medio de cultivo): inocular 0,5-1 ml de sangre del paciente.
- HEMOCULTIVO PEDIATRICO (contiene 20 ml de medio de cultivo): inocular 1-2 ml de sangre del paciente.
- HEMOCULTIVO ADULTO (contiene 50 ml de medio de cultivo): inocular 5 ml de sangre del paciente.

Nota: debido a que algunas veces las muestras de sangre se obtienen durante la terapia antibiótica en pacientes que presentan manifestaciones clínicas de sepsis, la relación 1:10 entre volumen de sangre:volumen de medio de cultivo resulta apropiada y hace que algunos antimicrobianos sean diluidos a concentraciones no inhibitorias.

Inoculación de los frascos: Una vez retirada la parte central de la tapa metálica del frasco de Hemocultivo y efectuada la desinfección del tapón de goma, inyectar la sangre cuidando especialmente no introducir aire. Mezclar de inmediato por inversión para permitir la acción anticoagulante.

Importante: La cantidad y frecuencia de las muestras a extraer debe ser establecida por el médico y sobre la base del cuadro clínico presentado por el paciente.

Nunca una sola muestra puede servir para descartar una bacteriemia. Tampoco son útiles numerosos especímenes. Se considera que tres son suficientes en la mayoría de los casos. La extracción debe hacerse tan pronto como sea posible, al aparecer el cuadro febril.

Es aconsejable efectuar la recolección de la muestra de 30 a 60 minutos antes del pico febril, cuando éste pudo ser detectado y siempre previamente a la terapia antibiótica.

INCUBACIÓN DE LOS FRASCOS

A 33-37 °C.

El tiempo de incubación lo establece el laboratorio junto con la institución médica, según las características del paciente en estudio (por ejemplo: edad, estado inmunológico, presencia de tratamiento farmacológico) y los microorganismos que se intenten recuperar.

A nivel general se recomienda incubar los frascos durante 7 días.

Incubaciones prolongadas por más de 7 días son necesarias para gérmenes de difícil crecimiento como ser *Actinobacillus*, *Cardiobacterium*, *Eikenella*, *Haemophilus*, *Neisseria* spp., hongos y levaduras, así como también según el estado inmunológico del paciente o dependiendo de si ha recibido terapia antibiótica.

Importante: Si los frascos inoculados no pueden llevarse a la estufa de incubación de inmediato, tienen que conservarse a temperatura ambiente hasta el momento de remitir al laboratorio. En ningún caso se deben colocar en heladera.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Al menos una vez al día observar los frascos de los Hemocultivos inoculados con la muestra del paciente. La notable transparencia de los Hemocultivos Britania permite visualizar a través del frasco la turbidez, el cambio de color o burbujas de gas. Estos datos permiten sospechar la existencia de un desarrollo microbiano incipiente. Para que estas características puedan ser observadas fácilmente, debe evitarse la agitación del frasco cuando se retira de la estufa. Luego de la observación de los frascos, homogeneizarlos por inversión para favorecer el desarrollo microbiano y volver a incubarlos en estufa (en caso que no se haya observado algún signo de crecimiento microbiano) o si se detectó crecimiento microbiano realizar coloraciones y subcultivos como se detalla a continuación.

Nota: Es necesario hacer subcultivos y coloraciones tal como se detalla a continuación luego de 1 día de incubación de los frascos y al finalizar la incubación previo al descarte de los mismos, aún cuando no se observen signos de crecimiento microbiano. Esto se llama cultivo a ciegas y confirma o no los cultivos negativos.

Coloraciones y subcultivos: Desinfectar el tapón de goma del frasco con alcohol 70 %.

Extraer aproximadamente 0,25 ml de medio con jeringa y aguja estériles. Cuando se introduce la aguja debe sujetarse fuertemente el émbolo de la jeringa por si existiera presión de gas positiva debida a productos obtenidos por fermentación microbiana. Invertir el frasco con cuidado y retirar la muestra.

Subcultivar directamente en Sangre Agar (Britania), Chocolate Agar (Britania). Pueden usarse además medios selectivos y diferenciales según los resultados de la observación microscópica. Depositar una gota de la muestra en un portaobjetos y efectuar la coloración de Gram. Puede ser más útil la coloración con naranja de acridina para el examen rápido por microscopía de fluorescencia de extendidos de sangre o de hemocultivos, donde pueden estar presentes escasos microorganismos, o bien para facilitar su diferenciación respecto de la tinción de base del material proteico de la muestra.

Las placas inoculadas deben incubarse preferentemente en atmósfera con tensión de CO₂ aumentada (5-10%) y en anaerobiosis (jarras anaeróbicas).

Si no se dispone de sistema de anaerobiosis se podrá sospechar bacteriemias debidas a bacterias anaerobias cuando habiendo observado gérmenes en la coloración de Gram no se obtenga desarrollo en los subcultivos efectuados. Para identificar dichas bacterias debe recurrirse necesariamente a sistemas que permitan efectuar aislamientos en medio sólido con anaerobiosis estricta. Si se ha observado turbidez del medio y tanto la coloración de Gram como los subcultivos resultan negativos ello puede deberse a la lisis de los elementos celulares de la sangre o a la presencia de variantes bacterianas, las cuales requieren medios igualmente hipertónicos en los subcultivos. En este caso es aconsejable transferir unas gotas del cultivo, a medios de agar tripteína soya con sacarosa en concentraciones decrecientes. De esta forma puede lograrse la reversión de las variantes bacterianas a su forma original.

SIGNIFICADO CLÍNICO DE LOS RESULTADOS POSITIVOS

Desafortunadamente existe la posibilidad de contaminación de los frascos de hemocultivo con bacterias de la flora de la piel cuando se inoculan con la muestra de sangre del paciente. Sin embargo, cuando se aíslan de hemocultivos gérmenes que forman parte de la flora de la piel, no deben ser considerados en primera instancia como contaminantes ya que estos microorganismos han sido responsables de enfermedades en pacientes. También muchas especies consideradas no patógenas han causado enfermedad en pacientes inmunocomprometidos. La decisión del significado clínico de un determinado aislamiento en hemocultivos dependerá del paciente y de la situación en la que se encuentre. El hallazgo de un microorganismo en muestras de hemocultivos, aún en aquellos casos que se presume contaminación, debe ser motivo de evaluación por el equipo de profesionales para definir la situación.

Como regla general, un hemocultivo es positivo:

- Cuando el mismo germen se aísla en dos o más muestras.
- Cuando se lo encuentra en una sola muestra pero simultáneamente se lo recupera en otro material extraído al paciente (por ejemplo orina, L.C.R., entre otros).
- En aquellos casos en que el microorganismo sea recuperado de una sola muestra y el germen hallado no corresponde a la flora habitual de piel, siempre que el hallazgo esté relacionado con el cuadro clínico, estado y situación del paciente. Por ejemplo: Enterobacterias, *Pseudomonas*, *Brucella* spp.
- Se consideraría como "posible" contaminación el hallazgo de un germen habitual de la flora cutánea en una sola de las muestras obtenidas, pero es necesario la evaluación profesional teniendo en cuenta el estado y situación del paciente para el diagnóstico y emisión de resultados.

CONTROL DE CALIDAD

Color: Amarillo - ámbar

Aspecto: Transparente, límpido a ligeramente opalescente

Coagulación: Negativa

Ensayos de promoción de crecimiento: Inoculación de frascos de hemocultivo con recuentos microbianos entre 10-100 UFC por frasco.

Incubación de frascos: a 33° – 37°C hasta 72 horas.

HEMOCULTIVO NEONATAL:

Microorganismo	Crecimiento
Streptococcus pyogenes ATCC 19615	Satisfactorio
Streptococcus pneumoniae ATCC 6305	Satisfactorio
Streptococcus pneumoniae ATCC 49619	Satisfactorio
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	Satisfactorio
Candida albicans ATCC 10231	Satisfactorio
Escherichia coli ATCC 25922	Satisfactorio
Staphylococcus aureus ATCC 25923	Satisfactorio
Staphylococcus epidermidis ATCC 12228	Satisfactorio

HEMOCULTIVO PEDIÁTRICO Y ADULTO MULTIPROPÓSITO:

Microorganismo	Crecimiento
Streptococcus pyogenes ATCC 19615	Satisfactorio
Streptococcus pneumoniae ATCC 6305	Satisfactorio
Streptococcus pneumoniae ATCC 49619	Satisfactorio
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	Satisfactorio
Bacteroides fragilis ATCC 25285	Satisfactorio
Escherichia coli ATCC 25922	Satisfactorio
Staphylococcus aureus ATCC 25923	Satisfactorio
Staphylococcus epidermidis ATCC 12228	Satisfactorio

Control de esterilidad:

Incubación de frascos 7 días. Resultado satisfactorio.

LIMITACIONES

- Al procesar los hemocultivos puede detectarse la presencia de microorganismos en la coloración de Gram pero que no desarrollan en los medios de cultivo utilizados para su aislamiento. Esta situación puede deberse a bajas cantidades de microorganismos no viables derivados de los constituyentes del medio de cultivo, de los portaobjetos, de los reactivos reveladores e insumos utilizados o también puede ser debido a microorganismos del paciente que no desarrollan significativamente en los hemocultivos o no crecen en los medios de cultivo sólidos o las condiciones de incubación utilizadas. En ese caso se sugiere repetir la coloración al cabo de 2 o 3 horas de incubación adicional para constatar si hubo desarrollo microbiano.

De ser así, el significado de ese desarrollo debe ser evaluado por los microbiólogos, de acuerdo a su experiencia y a los caracteres culturales y morfológicos del microorganismo.

- Es bien conocida la dificultad que significa evitar alguna contaminación eventual en los cultivos de sangre. Esta complicación puede ser muy seria cuando la contaminación introducida se debe a gérmenes que pueden ser posibles agentes etiológicos

de sepsis o endocarditis. Tal es el ejemplo de Propionibacterium acnés o Staphylococcus epidermidis. Por eso, el hallazgo de un microorganismo en muestras de hemocultivos, aún en aquellos casos que se presume contaminación, debe ser motivo de evaluación por el equipo de profesionales de la salud teniendo en cuenta el estado y situación del paciente para el diagnóstico y emisión de resultados.

- Pueden existir bacteriemias ocasionadas por microorganismos que desarrollen muy lentamente o no desarrollen en las condiciones de cultivo rutinarias y que exigen procedimientos o medios suplementarios así como también mayor tiempo de incubación. Ejemplo: Francisella tularensis, Leptospira spp., Legionella spp., Brucella spp.

- Para el cultivo de sangre en los cuales se busque la presencia de hongos y levaduras se recomienda la siembra en caldo cerebro corazón o en medios bifásicos en una relación 10% sangre/medio, con ventilación previa de los frascos comerciales para hemocultivos incubando los frascos inoculados a 22°-30°C durante un mes.

- Los microorganismos con deficiencia en su pared celular se recuperan en medios adicionados con sacarosa o manitol al 10%.

- Existen muchas variables involucradas en esta técnica que pueden hacer que un espécimen de un paciente con bacteriemia no presente gérmenes viables. De allí que no es fácil encontrar mecanismos que conduzcan rápidamente a poder afirmar que un resultado negativo se deba a un procedimiento incorrecto. Lo más práctico y bastante confiable es analizar varias muestras (3 ó 4), espaciadas en varios días pero en momentos próximos al pico febril, si lo hubiese.

- El examen directo de la muestra mediante la coloración de Gram o naranja de acridina, puede también brindar una identificación presuntiva del agente causal. Pero ello sólo servirá como orientación diagnóstica, ya que microorganismos con morfología semejante pueden tener exigencias nutricionales o condiciones de incubación muy diferentes.

MATERIALES NECESARIOS NO PROVISTOS

Equipos y material de laboratorio, microorganismos para control de calidad, reactivos y medios de cultivo adicionales según requerimiento.

PRECAUCIONES

- Solamente para uso diagnóstico in vitro. Uso profesional exclusivo.

- No utilizar el producto si al recibirlo su envase está abierto o dañado.

- No utilizar el producto si existen signos de contaminación o deterioro, así como tampoco si ha expirado su fecha de vencimiento.

- Utilizar guantes y ropa protectora cuando se manipula el producto.

- Transportar los frascos y todos los materiales de manera segura para evitar daños, roturas, caídas de material.

- Considerar las muestras como potencialmente infecciosas y manipularlas apropiadamente siguiendo las normas de bioseguridad establecidas por el laboratorio.

- Manipular los frascos apropiadamente debido a la posible presión positiva producida por el metabolismo microbiano. Homogeneizar por inversión. No agitar los frascos (por posible producción de gas).
- Las características del producto pueden alterarse si no se conserva apropiadamente.
- Descartar el producto que no ha sido utilizado y los desechos del mismo según reglamentaciones vigentes.

REFERENCIAS

- Raymond C. Bartlett, Paul D. Elner, John A. Washington. 1974. Blood Cultures, Cumitech 1, American Society for Microbiology.
- L. Barth Reller, Patrick R. Murray, James D. MacLowry. 1982. Blood Cultures II, Cumitech 1B, American Society for Microbiology.
- W. Michael Dunne, JR., Frederick S. Nolte, and Michael I. Wilson. 1997. Blood Cultures III, Cumitech 1B, American Society for Microbiology.

INDICACIONES AL CONSUMIDOR

Utilizar el producto hasta su fecha de vencimiento.
 Conservar el producto según las indicaciones del rótulo.

PRODUCTOS AUTORIZADOS POR ANMAT

Códigos: B0720586; B0720484; B0720581; B0720490; B0720483; B0720489
 PM 1292 - 37
 Dir. Técnico: Bioq. Alejandro Rossi

SÍMBOLOS UTILIZADOS

 DIAGNÓSTICO IN VITRO	 CÓDIGO N°	 LOTE N°	 ESTÉRIL
 ELABORADOR	 N° DE DETERMINACIONES	 INSTRUCCIONES DE USO	 FECHA DE VENCIMIENTO
			 LÍMITE DE TEMPERATURA