

HEMOCULTIVOS

Britania

britanialab.com

REF B0720586

REF B0720581

REF B0720483

REF B0720484

REF B0720490

REF B0720489

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 y anaeróbicos y están especialmente indicados para el método de los cultivos líquidos. En esta técnica, la sangre es extraída asepticamente 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 en alguna etapa de todas las infecciones. Bacteriemia no implica necesariamente enfermedad. Puede producirse transitoriamente como resultado de tratamientos odontológicos u otros manipulaciones. Pero debido a que solamente se indican hemocultivos en pacientes bajo sospecha de infección o en aquellos altamente susceptibles como los sometidos a cirugía cardiovascular, el hallazgo de una bacteriemia debe constituir un llamado de atención. Los principales factores de fracaso en esta técnica 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 se previene bastante por la dilución, pero además por el empleo de anticoagulantes apropiados. Algunos tales como el clásico citrato de sodio mostraron acción tóxica sobre las bacterias. El empleo de polianetol-sulfonato de sodio es mucho más efectivo y su introducción ha mejorado esta técnica, dado que además de su capacidad anticoagulante, actúa también como inhibidor del poder bactericida del complemento y de la actividad fagocitaria de los leucocitos. Debido a que en algunos procesos infecciosos, el número de organismos por ml de sangre es muy escaso (menos de 1 por 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. Anteriormente se aconsejaba la extracción de 2 a 10 ml de sangre para efectuar cultivos, pero trabajos como los de J. A. Washington II, H. H. Tenney y M.M. Hall entre otros, han puesto énfasis sobre la existencia de una relación entre el volumen de sangre cultivado y la recuperación de microorganismos. Inclusive hay quienes sostienen que en la detección de una sepsis en el laboratorio, el volumen de la muestra tendría mayor importancia que el medio empleado o las condiciones de incubación. Muestras de muy bajo volumen, dificultarán el hallazgo de un importante número de bacteriemias en adultos, según los informes de P. Sandven y J. H. Tenney, lo cual conduce a considerar la cantidad de 10 ml en adultos como el volumen mínimo aconsejable para cada cultivo, volumen también considerado por la Clínica Mayo de Estados Unidos. Dado que mayor cantidad de muestra exigiría la inoculación de 2 o más frascos convencionales, a efectos de mantener la relación adecuada sangre/medio, Laboratorios Britania adhiere a la tendencia de emplear frascos con mayor volumen de medio de cultivo. Además, Britania mantiene la posibilidad de elección según las situaciones que se presenten en la práctica clínica. Pueden emplearse frascos con 100 ml de medio o los clásicos con 50 ml, pero teniendo en cuenta que los de mayor capacidad al permitir inóculos mayores, están especialmente indicados cuando se sospechan gérmenes en escaso número o con exigencias nutricionales tales como *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus* spp., todos ellos agentes etiológicos de cuadros sépticos severos. Existen ciertas variantes de estreptococos dependientes. Algunas de estas cepas necesitan tiol o piridoxal para desarrollarse. Se considera que en la sangre humana se hallan los nutrientes suficientes que permiten su recuperación, pero puede ser necesario suplementar los subcultivos con clorhidrato de piridoxal (0.001%), o L-cisteína (0.05-0.1%). Estas sustancias están incluidas, en todos los Hemocultivos Britania.

IMPORTANCIA CLÍNICA DE LOS HEMOCULTIVOS

- La presencia de microorganismos vivos en episodios de bacteriemias y/o septicemias está asociado con una considerable morbilidad y mortalidad.
- De acuerdo a la literatura, entre el 20-50% de los pacientes con episodios de bacteriemias o funguemias fallecen.
- La mayoría de los episodios de sepsis ocurren en hospitales y son debidos a microorganismos con alta resistencia a los antimicrobianos.
- 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. Por lo tanto la bacteriemia puede ser:
 - Transitoria:** por ejemplo abscesos, forúnculos, manipulación dental, celulitis, cistoscopias, endoscopia gastrointestinal, neumonías, meningitis, artritis séptica, osteomielitis hematogena aguda.
 - Intermitente:** abscesos que no drenan (intraabdominales, pélvicos, hepáticos, prostáticos). Infecciones focales que simulan neumonía u osteomielitis.
 - Continúa:** endocarditis, tromboflebitis infectadas, aneurismas, brucelosis, fiebre tifoidea.

Agentes etiológicos de bacteriemias:

El espectro de microorganismos que invade la sangre en adultos ha sido sistemáticamente evaluado en numerosos estudios en los últimos años. Los más frecuentes siguen siendo *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Existe un marcado incremento de *Staphylococcus coagulans* negativa. Otros cambios importantes son el incremento de funguemias, bacteriemias por *Enterococcus*, micobacteriemias asociadas al síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) y también la reducción de las bacteriemias por anaerobios. En los pacientes pediátricos los agentes causales son generalmente los mismos que para los adultos y son raramente debido a microorganismos anaerobios. La bacteriemia por *Haemophilus influenzae*, antiguamente común en pacientes pediátricos, ha disminuido pues se ha incrementado la inmunización contra *Haemophilus influenzae* tipo b. En los neonatos son frecuentes las bacteriemias por enterobacterias.

Microorganismos más frecuentes en orden porcentual de aparición:

- Staphylococcus aureus*.
- Escherichia coli*.
- Estafilococos* coagulans negativa.
- Klebsiella pneumoniae*.
- Enterococcus* spp.
- Pseudomonas aeruginosa*.
- Streptococcus pneumoniae*.
- Estreptococos* del grupo viridans.
- Streptococcus pyogenes*.
- Candida albicans*.
- Enterobacter cloacae*.
- Bacteroides fragilis*.

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.

Cada frasco de Hemocultivo 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 anticomplementaria que inhibe parcialmente la capacidad fagocitaria de los leucocitos y a ciertos antibióticos aminoglicósidos y polipeptídicos.
- Menadiona: 0,5 ug/ml. Hemina: 5 ug/ml:** Requeridos para el desarrollo de ciertas especies de *Bacteroides* y *Prevotella*.
- 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:**
pH FINAL: 7.3 ± 0.2.

Además los frascos de Hemocultivos contienen una cuidadosa y controlada atmósfera inerte en el espacio aéreo que está en contacto con el medio de cultivo del frasco. Esta atmósfera está desarrollada y formulada según los agentes etiológicos de bacteriemias según los grupos etarios, que se describe a continuación:

- 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 (Eh menor de -250 mV).

INSTRUCCIONES

Producto 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 cristales en suspensión.

ALMACENAMIENTO

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

PROCEDIMIENTO

Información previa:

Debe requerirse información acerca del diagnóstico presuntivo, curva térmica y antibiograma recibida. En este último caso interesa conocer la hora de administración del antibiótico ya que conviene obtener las muestras cuando el nivel de antibiótico circulante sea mínimo (valle), es decir antes de la administración de la nueva dosis del mismo.

Preparación de la piel:

El desinfectante de elección es tintura de yodo al 2% o solución de yodo-povidona al 10%. Cuando existe hipersensibilidad al yodo conviene emplear 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. En todos los casos el desinfectante debe actuar durante 1 minuto. No efectuar una nueva palpación luego de desinfectada la piel a menos que el dedo haya sido similarmente descontaminado o se utilicen guantes estériles (procedimiento ideal).

Extracción:

La muestra puede obtenerse por punción arterial o venosa empleando jeringa y aguja estériles. Si no da resultado la primera punción, el nuevo intento debe efectuarse con una aguja nueva. 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 de sangre en el medio recomendadas, fluctúan entre 1:5 a 1:10. 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 aconsejados son los siguientes:
HEMOCULTIVO NEONATAL (contiene 10 ml de medio de cultivo):
inocular 0,5-1 ml de sangre del paciente.
HEMOCULTIVO PEDIÁTRICO (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.

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 dispuesta 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, media a una hora antes del pico febril, cuando éste pudo ser detectado, y siempre previamente a la terapia antibiótica.

LABORATORIOS BRITANIA S.A.
Los Patos 2175 (C1283AB)
CABA - ARGENTINA
TEL/FAX 54 11 4306 0041

Autorización ANMAT: Disp. N°6013/83 Hemocultivo Adulto - Hemocultivo Pediátrico Disp. N° 6014/83 Hemocultivo Neonatal
Dir Técnico Bioq. Alejandro Rossi
Industria Argentina

info@
britanialab.com

www
britanialab.com

Incubación

A 35-37 °C.

El tiempo de incubación lo establece el laboratorio según las características del paciente en estudio y microorganismos que se intenten recuperar.

Como regla general recomendamos incubar los frascos durante 7 días. Incubaciones prolongadas por más de 7 días, son necesarias para gérmenes difíciles de detectar, como *Actinobacillus*, *Cardiobacterium*, *Eikenella*, *Haemophilus*, *Neisseria* spp. También en endocarditis causada por levaduras o cuando el paciente 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, la hemólisis 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.

Coloraciones y subcultivos:

Ante sospecha o evidencia de desarrollo microbiano en alguno de los frascos, se debe realizar la coloración de Gram y subcultivos. Cuando no existieran evidencias de desarrollo, este procedimiento debe efectuarse de igual forma a diferentes tiempos y previo al descarte de los hemocultivos. La técnica operatoria es la siguiente:

- Desinfectar el tapón de goma del frasco.
- 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 debida a productos de fermentación. Invertir el frasco y retirar la muestra.
- Transferir la muestra a un tubo estéril intermedio o subcultivar directamente en Sangre Agar (Britania), Chocolate Agar (Britania).
- Depositar una gota de la muestra en un portaobjetos y efectuar la coloración de Gram. Actualmente se considera 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. Permite la detección temprana de cantidades tan pequeñas como 10⁴ microorganismos por ml de caldo. Los subcultivos 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 tripteaína soya con sacarosa en concentraciones decrecientes. De esta forma puede lograrse la reversión de las variantes bacterianas a su forma original.

Un hemocultivo es positivo en los siguientes casos:

- 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).
 - Cuando se lo recupera de una o más muestras y el título de anticuerpos frente a la cepa aislada es significativo o asciende durante la evolución del proceso.
 - 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. Por ejemplo: *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Salmonella* spp., *Brucella* spp., etc.
 - Se considera como posible contaminación el hallazgo de un germen habitual de la flora cutánea en una sola de las muestras obtenidas, siendo el título de anticuerpos no significativo. Pero es necesario tener en cuenta el estado del paciente.
- Importante:** 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.

CONTROL DE CALIDAD

- Claridad del medio preparado: Transparente.
- pH Final: 7.3 ± 0.2.
- Coagulación: Negativa.
- Desempeño microbiológico: crecimiento de inóculos 10-100 UFC/frasco.

Hemocultivo Neonatal

MICROORGANISMOS	CRECIMIENTO
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Satisfactorio
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Satisfactorio
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619	Satisfactorio
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 49247	Satisfactorio
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Satisfactorio
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Satisfactorio

Hemocultivo Pediátrico y Adulto Multipropósito

MICROORGANISMOS	CRECIMIENTO
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Satisfactorio
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Satisfactorio
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619	Satisfactorio
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Satisfactorio
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	Satisfactorio
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 49247	Satisfactorio

CONTROL DE ESTERILIDAD	RESULTADO
Medio sin inocular	Sin Cambios

LIMITACIONES

- A pesar de todos los cuidados que se empleen, es posible que en los elementos utilizados en la extracción de la muestra existan microorganismos ambientales no viables que pueden teñirse al colorear el extendido. Por ello el hallazgo de un germen en la observación microscópica del control primario no debe necesariamente considerarse como procedente del cultivo. En ese caso se sugiere repetir la coloración al cabo de 2 o 3 horas de incubación adicional para constatar si hubo desarrollo. 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, para confirmar que ese hallazgo coincide con la etiología del proceso, se requieren varios cultivos positivos en los cuales se reitera el aislamiento del mismo germen.
- Pueden existir bacteriemias ocasionadas por microorganismos que no desarrollan en las condiciones de cultivo rutinarias y exigen procedimientos o medios suplementarios. Constituyen buenos ejemplos *Francisella tularensis*, *Leptospira* spp., *Legionella* spp., *Brucella* spp. En estos casos juega un papel fundamental la orientación clínica.
- 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 y los frascos inoculados se incuban 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 o 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.
- En caso que sea necesario conservar la cepa microbiana aislada para realizar estudios posteriores.

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.
- Considerar las muestras como potencialmente infecciosas y manipularlas apropiadamente siguiendo las normas de bioseguridad establecidas por el laboratorio.
- Cuando se efectúa el primer examen visual de los hemocultivos a las 18-24 horas de incubación, tener en cuenta que pudo haber producción de gas. Por lo tanto NO AGITAR los frascos.
- 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.
- Larry G. Reimer, Michael L. Wilson and Melvin P. Weinstein. 1997. Update on Detection of Bacteremia and Fungemia, Clinical Microbiology Reviews, vol 10 N° 3, p. 444-465.

INDICACIONES AL CONSUMIDOR

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

SÍMBOLOS UTILIZADOS

REF
NÚMERO DE CATÁLOGO

IVD
PRODUCTO PARA DIAGNÓSTICO DE USO IN VITRO

STERILE
ESTÉRIL

LOT
NÚMERO DE LOTE

Σ
CONTIENE SUFICIENTE PARA < N > UNIDADES DE ANÁLISIS


CONSULTAR LAS INSTRUCCIONES DE USO


FECHA DE VENCIMIENTO


CONDICIONES DE CONSERVACIÓN. RANGO DE TEMPERATURA


ESTABLECIMIENTO ELABORADOR

01/2015 - REV. 05 - 31607