

Curso de infecciones bacterianas asociadas a prótesis

marta vergara
(directora y docente)

marina quiroga
(co-directora y docente)

eduardo pegel - patricia oviedo
(coordinadores y docentes)

margarita laczeski
(docente)



CURSO DE INFECCIONES BACTERIANAS ASOCIADAS A PRÓTESIS

marta vergara
(directora y docente)

marina quiroga
(co-directora y docente)

eduardo pegel - patricia oviedo
(coordinadores y docentes)

margarita laczeski
(docente)

EDITORIAL UNIVERSITARIA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE MISIONES

San Luis 1870, Posadas, Misiones
Tel-Fax: 376-4428601

Correos electrónicos:

direccion@editorialunam.com.ar
produccion@editorialunam.com.ar
diagramacion@editorialunam.com.ar
administracion@editorialunam.com.ar
ventas@editorialunam.com.ar

Página WEB: www.editorial.unam.edu.ar

Coordinación de la edición: Claudio O. Zalazar
Armado de interiores y tapa: Francisco A. Sánchez

Vergara, Marta

Curso de infecciones bacterianas asociadas a prótesis. - 1a ed. - Posadas:
EDUNAM - Editorial Universitaria de la Universidad Nacional de
Misiones, 2012.

E-Book.

ISBN 978-950-579-229-0

1. Infecciones Bacteriana. 2. Prótesis. I. Título.
CDD 617.22

Fecha de catalogación: 22/12/2011

Hecho el depósito de la ley 11723
ISBN: 978-950-579-229-0

Editorial Universitaria
Universidad Nacional de Misiones, Posadas, 2011.
Todos los derechos reservados para la primera edición.

CURSO DE INFECCIONES BACTERIANAS ASOCIADAS A PRÓTESIS

marta vergara
(directora y docente)

marina quiroga
(co-directora y docente)

eduardo pegel - patricia oviedo
(coordinadores y docentes)

margarita laczeski
(docente)

EDITORIAL UNIVERSITARIA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE MISIONES

Índice general

Introducción	7
La patogenia	11
Infecciones asociadas a dispositivos intravasculares.....	27
Infecciones asociadas a hemodiálisis y diálisis peritoneal	69
Infecciones asociadas a lentes intraoculares implantados	87
Infecciones asociadas a prótesis óseas y articulares	99
Infecciones asociadas a prótesis valvulares y otros dispositivos cardiovasculares.....	119
Infecciones asociadas a sistemas de derivación de LCR	135
Comentarios finales	149
Anexo: procedimientos para diversos ensayos de laboratorio.....	169

Introducción

Si bien las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte en los países desarrollados, en muchos sitios del planeta, las enfermedades infecciosas ocupan el segundo lugar, causando el doble de mortalidad que el cáncer (14,9 millones- 7,1 millones de muertes respectivamente) (OMS 2002).

En el hombre, los microorganismos responsables de estas muertes, evolucionan constantemente debido a la presión que sobre ellos ejercen el mejoramiento en las técnicas de prevención, de diagnóstico y tratamiento. Infecciones crónicas sobre pacientes inmunodeprimidos como son las urinarias crónicas, endocarditis de válvulas nativas, infecciones de próstata, osteomielitis y todas las asociadas con implantes médicos, dan cuenta de ello.

La mayoría de estas infecciones son producidas por microorganismos de poca virulencia, muchos de ellos pertenecientes a la flora del paciente (que quedan retenidos en poblaciones bacterianas sobre tejidos vivos o dispositivos implantados) y no responden, o lo hacen pobremente, a los tratamientos antimicrobianos.

El progreso alcanzado en las ciencias médicas mediante el desarrollo de compleja tecnología tendiente a prolongar y mejorar la vida de los pacientes, hace que el uso de estos dispositivos médicos, construidos con diversos biomateriales (sustratos que reaccionan con el organismo en

forma no tóxica) sea cada vez más frecuente y se convierta en un procedimiento habitual en muchos Centros de Salud.

El uso de algunos de estos dispositivos, ya sean catéteres intravasculares, sondas urinarias, fistulas para hemodiálisis, catéteres de diálisis peritoneal, prótesis implantadas, tubos de drenaje, tubos de ventilación, válvulas artificiales, marcapasos, prótesis de diversos tipos y lentes intraoculares, entre otros, que funcionan como cuerpos extraños en el organismo, predispone a que se adquiera infecciones de dificultoso diagnóstico, tratamiento y erradicación.

Se deben diferenciar dos tipos de dispositivos médicos que se implantan.

- los que se comunican con el exterior como por ejemplo sonda vesical, catéter vascular o drenaje ventricular externo.
- los que son totalmente implantados, como los marcapasos o válvulas cardíacas, que son los intravasculares y las prótesis articulares, prótesis de mama o las derivaciones ventrículo-peritoneales que son extravasculares.

Es notorio el incremento del número de estos procedimientos y es de esperar un incremento también en el número de infecciones.

Es necesario realizar todos los esfuerzos posibles para mejorar los métodos de prevención, de diagnóstico y de tratamiento de estas complicaciones.

Estos esfuerzos deben estar dirigidos a:

- realizar un adecuado y oportuno diagnóstico microbiológico y médico
- realizar una adecuada y oportuna interpretación de la sensibilidad bacteriana.
- conocer la fisiopatogenia de los microorganismos involucrados

- conocer la acción de los antimicrobianos sobre ellos, a fin de una elección terapéutica adecuada.
- realizar un manejo médico-quirúrgico adecuado de la infección.
- mantener la vigilancia en el cumplimiento de las precauciones universales para la prevención de infecciones.

En la mayoría de los casos las infecciones ocurren en el momento de la implantación del dispositivo, y es la flora del propio paciente, o del personal que realiza el procedimiento o la flora del ambiente nosocomial, la involucrada.

No pocas infecciones ocurren por vía hematógena, durante una bacteriemia, por microorganismos que provienen de un foco a distancia.

Infecciones tardías aparecidas en otros sitios, originadas en procesos infecciosos ya sea en la piel, o por infecciones bucodentales o genitourinarias o gastrointestinales, dan cuenta de ello.

Los inmunosuprimidos o los adictos a drogas intravenosas, son los pacientes más vulnerables.

Entre una de las importantes causas de las infecciones asociadas a prótesis, debemos tener en cuenta a la tendencia que tienen algunos tipos de bacterias de adherirse a las superficies de los biomateriales con que están fabricados los dispositivos (generalmente construidos de siliconas, poliuretano, polivinilo, teflón, titanio y acero inoxidable) multiplicarse, formando microcolonias.

Estas microcolonias funcionan como una comunidad de microorganismos adheridos a una superficie y envueltos por una matriz compuesta por moléculas sintetizadas por los mismos microorganismos y también moléculas procedentes del huésped. Las células que forman estas comunidades se mantienen unidas por la matriz extracelular constituida por exopolisacáridos y proteínas, fundamentalmente, además de ácidos nucleicos en algunas oportunidades.

Las bacterias forman verdaderas redes de microorganismos organizados en numerosas capas.

La suma de estas numerosas biocapas constituye el llamado también biofilm.

Es decir, los biofilms consisten en microorganismos inmovilizados sobre la superficie de un sustrato, embebidos en aquella matriz extracelular.

En todo tipo de superficie inmersa en ambientes acuosos naturales, ya sean biológicos como plantas acuáticas o animales o en ambientes abióticos como los constituidos por metal, cemento, plástico o piedras (siempre que se provea a los microorganismos de nutrientes) se forman los biofilms.

Muchas veces estos biofilms son visibles sobre una superficie sólida, como una sustancia mucoide, si la excreción de los polímeros extracelulares (slime) es abundante y existe un importante crecimiento microbiano.

La patogenia

El mecanismo de adherencia bacteriana, primer paso en el camino al establecimiento de cualquier infección sobre un huésped, adherencia sobre tejidos naturales, es también el primer paso en el establecimiento de las infecciones asociadas a los dispositivos médicos, adherencia sobre superficies inertes.

Tanto la superficie bacteriana como la superficie del sustrato donde adherirá la bacteria y el medio ambiente en que se encuentran ambos elementos, son factores que, por la interacción de ellos, determinarán el tipo de adherencia y la reversibilidad o no de la misma.

La adherencia bacteriana, tal vez más estudiada, es la que se presenta en las enterobacterias, cuyas adhesinas proteicas, conocidas como fimbrias, adhieren a receptores constituidos por hidratos de carbono, glucoproteínas o glucolípidos del huésped (ejemplo de ello *Escherichia coli* uropatógena).

Otras bacterias presentan adhesinas afimbriadas, que unen a la fibronectina y a otros receptores proteicos del huésped, como lo hacen muchas bacterias grampositivas. En el caso de los *Staphylococcus aureus*, (SA), varias de estas adhesinas se agrupan bajo la denominación de MSCRAMM (componentes de la superficie bacteriana que reconocen moléculas de adhesión de la matriz).

▪ Como ocurren estos procesos asociados a las prótesis

Los implantes, inmediatamente después de su inserción, son recubiertos por diversas fracciones de la sangre como proteínas, glucoproteínas y otras macromoléculas del plasma, eritrocitos, trombocitos entre otros como forma de acondicionamiento del biofilm.

La adherencia puede ocurrir sobre estas sustancias o sobre el material inerte virgen.

Actualmente se postula que constituyentes bacterianos son capaces de adherir a prótesis, aun no recubiertas de aquellas sustancias, o a fragmentos de hueso muerto, si ocurren algunas interacciones físicas y químicas, por lo que la adherencia de la bacteria a superficies inertes, requiere de otra complejidad.

Fuerzas físico-químicas inespecíficas como las de Van der Waals, interacciones hidrofóbicas, adhesión de proteínas, intervienen en este tipo de adherencia.

Las características de la superficie de la prótesis, su hidrofobicidad y rugosidad influyen también en la adhesión bacteriana, la que pueden mejorarla.

Una vez que las bacterias han adherido a los dispositivos (ciertas proteínas que funcionan como receptores: fibronectina, fibrinógeno, laminina, facilitan esta adhesión) desarrollan formando las microcolonias.

Las bacterias adheridas entre sí y a la superficie donde se encuentran, (sea tejido vivo o inerte) comienzan a encerrarse en la matriz de sustancias poliméricas extracelulares (con elevado grado de hidratación), sintetizadas por el microorganismo y por el huésped (que vimos antes como slime), y constituirán el biofilm.

Al crecer los microorganismos en el biofilm, se genera una estructura de comunidad tan compleja, polimérica y multifuncional que asemeja a un organismo multicelular.

Dentro del biofilm, la bacteria que secreta los exopolisacáridos (slime), que constituirán su matriz, forma estructuras de microcolonias semejantes a “cono y setas” entre las cuales se observan canales.

La constitución de los exopolisacáridos del slime es también variable y algunas bacterias pueden liberarse del biofilm para colonizar nuevas superficies, con lo que diseminan la infección aun a sitios remotos.

Estas estructuras tienen diferentes orígenes según las bacterias que los forman, así encontramos alginato en *Pseudomonas aeruginosa*, N-acetilglucosamina en SA, y otros.

En el biofilm las bacterias colonizan, organizan y cambian su fisiología. Tienen una especial forma de vida, con crecimientos más lentos, con mayor resistencia a antibacterianos y a defensas del huésped que las bacterias planctónicas, de lo que se deduce que estas infecciones asociadas a estos procesos son de dificultoso control y erradicación, llevando frecuentemente a la remoción quirúrgica de la prótesis como única manera de enfrentarlas.

Esta especial supervivencia de las bacterias dentro de la matriz del biofilm, (recordemos que funciona como verdaderas poblaciones bacterianas), está asegurada por los canales que le posibilitan el flujo de agua, de nutrientes y oxígeno, que en concentración diferente proporcionan no pocas veces, ambientes diferentes.

En general la composición del biofilm es variable. Es el agua el componente mayoritario, (97% del contenido total) y células bacterianas y exopolisacáridos son sus componentes más significativos, además de proteínas, ADN y productos procedentes de la lisis bacteriana.

Ya mencionamos que los biofilm pueden estar compuestos por bacterias (muchas veces de diferentes especies) gramnegativas o grampositivas e incluso por levaduras. Pueden provenir de la piel del paciente, del personal médico o del medio ambiente.

La formación del biofilm dependerá de la adherencia que hayan logrado las bacterias al dispositivo, del tiempo de permanencia del mismo, a fin

de que esa adherencia sea irreversible y del número de bacterias que lo hayan logrado.

Además de estas condiciones, influyen otras: el tipo de dispositivo, es decir la naturaleza físico-química del implante y el flujo de líquidos a que está sometido el mismo.

Principalmente son cuatro los factores que interaccionan entre sí, en la producción de las infecciones asociadas a dispositivos médicos:

- los microorganismos que intervienen
- el tipo de biomaterial con que se construyó el dispositivo
- los mecanismos de defensa del huésped
- los antimicrobianos

Las infecciones asociadas a tejido dañado o cuerpo extraño, ocurren cuando se dan algunas condiciones que las favorecen como:

- que las bacterias se adhieran para sobrevivir
- que las bacterias sean colonizantes y sean formadoras de biofilm
- que haya tejido dañado previamente o un cuerpo extraño, con inflamación, necrosis en la interfase tejido-implante
- una respuesta celular y humoral del huésped, alterada
- que el biofilm resista a las defensas del huésped y a los tratamientos antibióticos

Podemos decir que el biofilm se desarrolla después de la inserción del dispositivo si:

- la superficie de la prótesis es recubierta por bacterias del ambiente, del huésped y del acto quirúrgico

- existe una adhesión no específica regida por las fuerzas que mencionamos
- existe una irreversible adhesión dependiente del dispositivo, el huésped y el microorganismo

Luego de que el microorganismo ha alcanzado la superficie del dispositivo, la formación de la biocapa dependerá de la interacción de los factores ya señalados.

En general, cualquier tipo de dispositivo médico se coloniza durante el acto de su colocación en el huésped, colonización que dependerá de la vigilancia en el cumplimiento de las precauciones universales para el control de infecciones implementadas por el personal de salud.

Como vimos, la dificultad en la erradicación de estas infecciones, en su tratamiento, radica en la resistencia a los antimicrobianos y a las defensas del huésped, que presentan los microorganismos dentro de la biopelícula (Figura 1).

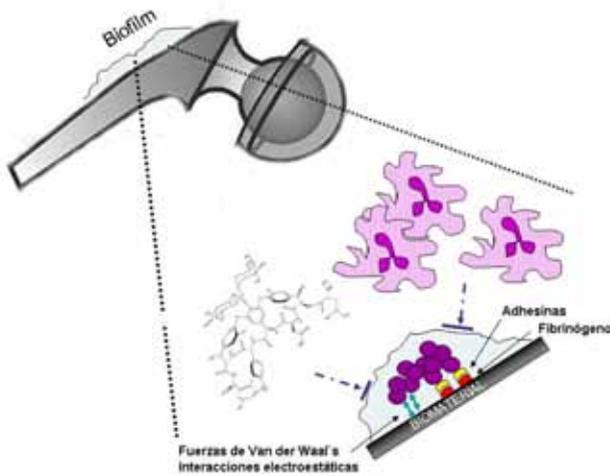


Figura 1

En los dos tipos de dispositivos médicos que se implantan, ya comentados, se destacan diferencias en el riesgo de colonización bacteriana, el que será mayor en el caso de dispositivos médicos comunicados con el exterior. En ellos el principal riesgo existe, como vimos anteriormente, por la flora de la piel del paciente a que se encuentra expuesto el dispositivo, la flora del personal de salud que lo manipula y los líquidos que se infunden en el caso de los catéteres vasculares.

Dicho riesgo es menor en el caso de materiales totalmente implantados como los intravasculares y los extravasculares, ya descriptos. El riesgo de colonización existe, luego de su colocación, por la diseminación hematológica de microorganismos o por extensión de una infección contigua.

Las manifestaciones clínicas dependerán de la interacción entre la virulencia del microorganismo involucrado y los mecanismos de defensa que el huésped pone en juego.

Los cocos grampositivos, especialmente los estafilococos coagulasa negativo (SCN) y SA son los microorganismos más frecuentemente aislados en estas infecciones asociadas a la formación de biocapas, (entre otros cocos grampositivos, bacilos gramnegativos aerobios y *Candida albicans*).

Algunas cepas de SA pueden producir proteínas extracelulares sumamente agresivas como son las proteínas del síndrome de shock tóxico.

Son variados los procesos en los que está implicada la formación de los biofilms, además de los más frecuentes como infecciones bucodentales y del tracto respiratorio.

La capacidad de formación del biofilm, no parece estar restringida a determinadas especies bacterianas (como los estafilococos, típicos formadores de biocapas), cualquiera de ellas pueden lograrlo.

Esta capacidad se encuentra por ejemplo, en algunas bacterias gramnegativas móviles, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, en las que la motilidad colabora para que la bacteria alcance la superficie a colonizar a fin de lograr la adherencia contrarrestando la repulsión hidrofóbica.

Las micobacterias y otras bacterias inmóviles, como los estafilococos ya mencionados, y los estreptococos, forman biofilms, ayudados, algunos de ellos, por proteínas de superficie para la adherencia primaria.

Basta con recordar la formación de la placa dental, por muchos estreptococos, como ejemplo de la formación de un biofilm natural.

Los biofilms, pueden aparecer también implicados en diversas situaciones:

Con impacto en la salud individual:

- infecciones asociadas a cuerpos extraños como son los dispositivos médicos.
- infecciones no asociadas a cuerpos extraños. Algunos microorganismos pueden formar biocapas sobre las superficies de mucosas con defectos en los mecanismos de aclaración mucociliar (necesarios para mantener la esterilidad de la mucosa bronquial) como ocurre en los pacientes con fibrosis quística (FQ) y EPOC.

Con impacto en la salud pública:

- la formación de biocapas en superficies húmedas, frecuentes en los bacilos gramnegativos (*Pseudomonas aeruginosa* y *Legionella pneumophila* por ejemplo), diseminándose con riesgos de brotes epidémicos en la comunidad o incluso en las unidades de internación de cuidados críticos.

Un ejemplo de la formación de biofilm sobre tejidos vivos es la endocarditis de válvulas nativas. La misma es consecuencia de la interacción de microorganismos (bacterias u hongos) con las válvulas mitral, aorta, tricúspide o pulmonar nativas.

Si bien las principales bacterias implicadas, (estreptococos y estafilococos) llegan a la sangre desde la orofaringe o el tracto gastrointestinal o el genitourinario, sólo se adhieren a las válvulas nativas si las mismas están previamente dañadas.

Las bacterias adheridas, formadoras de biofilm, incrementan ese daño y pueden llegar a producir severas embolias sépticas.

Además de la participación de los biofilm en diversas infecciones asociadas a dispositivos protésicos o tejidos vivos, también los biofilm cumplen papel protector para el organismo humano, como ocurre con los producidos por los lactobacilos presentes en la vagina. Estos microorganismos al actuar sobre el glucógeno, alteran el pH vaginal, disminuyéndolo y previniendo la colonización de microorganismos patógenos. La aparición de bacterias del complejo GAM, da cuenta de este mecanismo, al desaparecer el biofilm por elevación del pH.

Otro ejemplo de una función protectora del biofilm, es la placa dental mencionada antes, (siempre que se mantenga un equilibrio entre los microorganismos de la flora habitual) evitando el desarrollo de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* que con su producción de ácidos a partir del consumo de azúcares, dañan el esmalte protector de los dientes, conduciendo a las caries y la periodontitis.

Otro modelo de formación de biofilms naturales, formados por microorganismos de la flora indígena, muchas veces con función protectora frente a especies patógenas, se presenta en el tracto digestivo humano.

El slime y la acción de los antimicrobianos

En el caso de las infecciones de prótesis asociadas a la formación de biofilms son, además de dificultosa erradicación, de dificultoso diagnóstico al resultar engorrosa y complicada la extracción de las bacterias adheridas a fin de su cultivo y determinación de la sensibilidad bacteriana por métodos convencionales.

Además de, mediante la formación de estas biopelículas las bacterias logran escapar de las defensas del huésped y antibióticos, también lo logran de la acción de otros agentes químicos.

Las bacterias aumentan su CIM resultando una elevada resistencia, la que puede llegar a hacer a las bacterias hasta 500 veces más resistentes que las células libres o células del plancton.

En general la resistencia bacteriana en las bacterias planctónicas ocurre ya sea por:

- modificaciones en su punto diana
- por impedimento de la entrada del antibiótico por impermeabilidad bacteriana, por la expresión de bombas de expulsión activas
- o por la producción de enzimas que los inactivan.

En cualquiera de estos mecanismos existe un determinante genético que los codifica.

Ninguno de estos mecanismos ha sido identificado en las bacterias encerradas en el biofilm, las que se muestran con sensibilidad disminuida con respecto a sus homólogos libres.

Se sostiene que la escasa difusión química y física de los antibióticos figura entre las principales causas de la elevada resistencia a los mismos. Una barrera de exclusión o inactivación de ellos por los exopolisacáridos del biofilm al rodear a las células, sería la responsable.

Otra causa identificada es debida a la adaptación fenotípica que sufren las bacterias, dada la actividad metabólica disminuida dentro de la biopelícula donde se crea un microambiente porque los nutrientes se encuentran restringidos, lo que lleva a la aparición de las variantes metabólicas, como las de SA, incapaces de enfrentar la acción de los antimicrobianos como vancomicina y teicoplanina, fundamentalmente.

Las bacterias quedarían como “persistentes” dentro de las biocapas pudiendo constituirse en una subpoblación, cronificando la infección.

Proctor, en 1995, describió la asociación de estas variantes metabólicas de SA, las llamadas variantes puntiformes, o SCV (Small Colony Variants),

con infecciones persistentes y recaídas, en una serie de infecciones, óseas en especial.

El slime y la respuesta del huésped

Además de lo comentado antes, es de importancia destacar que tanto el procedimiento quirúrgico como la implantación de estos dispositivos médicos, altera las respuestas del huésped y sus mecanismos de defensa promoviendo la liberación de citocinas y otros mediadores inflamatorios que aumentan el daño tisular y conducen a la inflamación crónica.

Además estos exopolisacáridos (slime) poseen actividad antifagocítica, inhibiendo la quimiotaxis de neutrófilos y la fagocitosis. Ello posibilita a las bacterias escapar de la acción destructora de PMN mediada por el complemento y lograr diseminarse por los tejidos, o sea funciona este biofilm como un factor de virulencia más.

Enfatizamos que esta situación conduce, en muchas ocasiones, a que la única manera de abordar estas infecciones, sea mediante la extracción del dispositivo, con las consecuencias del incremento del gasto económico y de morbilidad por complicaciones que sufren algunos pacientes en el acto de remoción y colocación de uno nuevo.

Por todo ello, adquieren relevancia las nuevas estrategias en desarrollo, tendientes a posibilitar mejores y más certeros diagnósticos de las infecciones, mejores y más certeros tratamientos, las que están basadas en “la detección de material genético bacteriano en los dispositivos implantados, tanto en los retirados como en los no retirados” y en “el uso de sustancias no antibióticas capaces de bloquear a nivel genético la formación de biofilms por parte de las bacterias implicadas”

La importancia de alertar sobre este tema en este Curso, radica en el consenso entre expertos, de que estas infecciones asociadas a la formación de biopelículas, infecciones de dificultoso diagnóstico y tratamiento, son de aparición frecuente, llegando a representar hasta un 60% de las infecciones bacterianas.

Algunas bacterias de mayor incidencia

En algunos casos las bacterias se unen directamente al dispositivo, como por ejemplo las sondas urinarias en los sondados, sin requerir que proteínas del paciente actúen como receptores de las mismas, las que entran en el lumen del catéter a través del exudado en el punto de entrada del dispositivo.

En las infecciones asociadas a dispositivos insertados como ya vimos para SA y SCN, la patogenia es más intrincada y requiere de relaciones microorganismos-dispositivo-paciente, más complejas.

Los estafilococos, tienen especial capacidad de unirse por sus adhesinas (MSCRAMM) (la mayoría unidas covalentemente al peptidoglucano de la pared celular), a receptores proteicos, proteínas específicas de la matriz extracelular de mamíferos, romper barreras normales en los tejidos del huésped e iniciar la infección.

Se comentó antes que entre los receptores proteicos animales que proveen a los estafilococos de un mecanismo de adherencia y le permiten unirse a las membranas basales humanas, figuran la fibronectina, el fibrinógeno y también la laminina.

La expresión de factores de virulencia está regulada genéticamente por sistemas de regulación llamados reguladores globales. Por ello muchos de los factores de virulencia de estos microorganismos no actúan en forma simultánea.

Entre estos sistemas el llamado sistema de “quorum sensing” (control sensor de grupo, percepción de grupo) reacciona ante la densidad poblacional.

Se trata de un sistema de comunicación célula a célula, mediante el cual las bacterias controlan varias de sus funciones, determinando su propia densidad poblacional.

El sistema depende de la acumulación en el medio ambiente de una molécula señal, llamada autoinductor, que le posibilita a la bacteria captar la densidad poblacional.

El gen *agr* de SA, autoinductor, llamado también “el paradigma de la regulación genética de la virulencia de SA” funciona como un control sensor de quórum que reacciona ante la densidad de la población.

Cuando la densidad poblacional es baja, lo que ocurre durante la fase de crecimiento exponencial, sólo se expresan las adhesinas MSCRAMM. El sistema *agr* se encuentra apagado.

Este sistema de autoinducción se gatilla ante la densidad poblacional elevada, (en las fases de crecimiento post-exponencial y estacionaria) y habilita a las bacterias para “tomar decisiones colectivas” y entre ellas, la expresión de genes para la formación de las biopelículas, liberación de sus proteínas, enzimas y otros sustratos, además de la formación de la cápsula, evitando la dilución de dichas moléculas cuando la densidad poblacional es baja.

Se ha demostrado como afecta este sistema de autoinducción en la formación de cápsula en SA, la que se regula según diversas condiciones del medio (nutrientes, pH, tensión de oxígeno, densidad poblacional) en que se encuentra el microorganismo.

Durante la colonización de los catéteres, los estafilococos elaboran grandes cantidades de slime, que envuelven a las bacterias formando la biocapa. Esta formación se ve favorecida en algunos microorganismos que utilizan algún componente del catéter, como fuente de energía para lograrla. De allí que la adherencia también depende del microorganismo y del tipo del dispositivo.

En general los estafilococos han sido clasificados en productores y no productores de estos exopolisacáridos.

Con respecto a SCN muchas cepas son productoras de mucina, la cual facilita la adhesividad de la bacteria a la prótesis, donde se mantienen inactivas por largos períodos de tiempo, antes de dar síntomas de infección.

Además de ser uno de los contaminantes más frecuentes en los materiales clínicos del laboratorio, por ser comensales de la piel, los SCN son los principales agentes etiológicos de las bacteriemias asociadas a catéteres (en especial en neonatos prematuros y en neutropénicos), de las peritonitis en pacientes con diálisis peritoneal, de las infecciones en las derivaciones ventrículo-atriales o ventrículo-peritoneales, de las endocarditis nativas y protésicas, de infecciones asociadas a prótesis osteoarticulares, marcapasos, lentes intraoculares y otros dispositivos médicos.

Consecuencias de importancia para el diagnóstico microbiológico

Al inicio de una infección en tejidos blandos, la densidad poblacional es baja, la bacteria comienza a multiplicarse, y solo sintetiza adhesinas de superficie, del soma bacteriano (fase exponencial de densidad poblacional baja- sistema *agr* apagado).

Como vimos, cuando la bacteria se encuentra en la fase post-exponencial y estacionaria, donde la densidad poblacional es alta, el sistema se gatilla.

O sea que, cuando las condiciones del medio se vuelven adversas como disminución de nutrientes, oxígeno, pH, se produce al mismo tiempo acumulación del autoinductor, y la bacteria comienza a sintetizar las toxinas y sustancias que le servirán de evasión de las defensas del huésped, entre ellas la cápsula.

Se evade del absceso y puede así iniciar focos de infección a distancia, por vía hematógena.

La osteomielitis por vía hematógena da cuenta de ello.

En una infección crónica, por SA, de larga evolución, con probable formación de slime, como la osteomielitis, FQ, donde pueden existir distintos microambientes con diferente tensión de oxígeno, pH, llegada de nutrientes etcétera, la adaptación es diferente, la probabilidad de variantes metabólicas y de que se seleccionen distintos fenotipos es elevada.

También los antimicrobianos no tienen idéntica llegada y se pueden seleccionar bacterias con diferente perfil de sensibilidad.

Esto explica el hecho de que en una infección aguda es probable que se recupere una población uniforme de SA, no así en una crónica.

Por ello existe la posibilidad de encontrar cepas capsuladas en infecciones agudas y no capsuladas en las infecciones osteoarticulares crónicas.

En varias muestras de un mismo paciente, con infección asociada o no a material protésico, de PPB y huesos no siempre se recupera idéntico fenotipo de SA, incluso pueden recuperarse cepas de diferente perfil de sensibilidad.

Esto apoya la necesidad de que todas las muestras tomadas simultáneamente de un paciente deben ser estudiadas para identificación de cepas y determinación de su perfil de sensibilidad.

Destacamos de interés para el microbiólogo en su mesada

- *En varias muestras de PPB y huesos no siempre se recupera el mismo microorganismo.*
- Esto nos dice que en una infección aguda es probable que se tenga una población uniforme, con un antibiograma similar, pero en una infección crónica, de larga evolución, como osteomielitis, FQ, ya existen distintos microambientes (biocapas) y se pueden seleccionar distintos fenotipos asociados a diferentes perfiles de sensibilidad.
- *Por ello en una infección crónica como osteomielitis, deben ser procesadas todas las muestras que llegan al laboratorio, tomadas simultáneamente del paciente.*
- Y aquí es importante recordar que SA puede desarrollar en forma pobre, tardía, a partir de los 4-5 días, no en 24 hrs, en medios de cultivo habituales como agar sangre columbia y lo hace en forma de colonias pequeñas, puntiformes, llamadas variantes puntiformes, o

SCV, dado que al tener metabolismo disminuido o deficiente, aparecen fenotípicamente diferentes.

- *Estas SCV se deben investigar en infecciones persistentes de larga evolución y en especial en pacientes con dispositivos protésicos, las que aparecen a partir de las 96 hrs o más tardíamente.*
- *Por todo lo anteriormente señalado es de importancia mantener en estufa a 35°C los cultivos de estas muestras por un tiempo no inferior a 5-7 días.*
- SCV son colonias no pigmentadas, no hemolíticas, no fermentan el manitol (pueden crecer en él pero no lo fermentan), son catalasa débil. En la coloración de Gram pueden aparecer como cocos grampositivos más grandes semejantes a micrococos. La prueba de coagulasa en tubo puede demorar 18 a 24 hrs para dar un resultado positivo. Se vuelven resistentes a la gentamicina, antimicrobiano que aún se utiliza en algunas situaciones como perlas en cirugía ortopédica.
- Otros microorganismos asociados a infecciones relacionadas con dispositivos cardiovasculares, son los estreptococos y en especial los estreptococos del grupo viridans, principales responsables.
- Otros estreptococos deficientes nutricionales y los enterococos son también frecuentemente asociados a estas infecciones.
- Tanto los microorganismos del grupo HACEK (*Haemophilus* spp., *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Cardiobacterium hominis*, *Eikenella* spp. y *Kingella* spp.) otros bacilos gramnegativos como *Pseudomonas*, *Serratia*, *Acinetobacter* y *Stenotrophomonas* spp., están relacionados, con diferente grado de aparición, a estas infecciones.
- De los microorganismos fúngicos, *Candida albicans*, es de todas las especies de *Candida*, la de aparición más habitual.

Infecciones asociadas a dispositivos intravasculares

En las infecciones más frecuentes que comentaremos, el camino al daño que transitan los microorganismos asociados a ellas, son semejantes, comentados en **la patogenia y las bacterias**.

Una variada modalidad de dispositivos de acceso vascular, de uso según necesidad y caso individual, se insertan en las vías intravenosas centrales y periféricas, ya sean tunelizados o no tunelizados, (catéteres venosos centrales insertados por vía periférica, dispositivos intravasculares implantados totalmente, y catéteres insertados en arterias).

Los catéteres intravasculares son dispositivos plásticos que permiten acceder al compartimiento intravascular a nivel central.

Presentan variaciones en: - su diseño y estructura según se utilicen en forma temporal (días) o permanente (semanas, meses), - el material con que se fabrican, - el número de lúmenes y en la causa por la cual son instalados.

Un catéter venoso central (CVC) “es un tubo biocompatible o instrumento de acceso vascular de material flexible, insertado dentro de una gran vena del sistema vascular periférico y cuya punta es avanzada hasta la vena cava superior”.

Se deduce de ello que el material ideal para un catéter debe ser: biocompatible, con mínima posibilidad de formación de trombos, de fácil inserción y radio-opaco, a fin de vigilar su ubicación.

Los CVC se indican en pacientes críticos que requieren vigilancia en la administración de líquidos y vigilancia hemodinámica.

Se insertan a fin de tener un acceso directo al sistema vascular central.

Se pueden insertar en una extremidad superior, vena femoral, yugular o subclavia.

En el caso de los CVC no tunelizados, las infecciones se producen fundamentalmente por el pasaje de microorganismos desde la piel a la punta del catéter siguiendo la vía extraluminal.

En el caso de los CVC tunelizados la principal vía para el paso de las bacterias es la intraluminal.

Tipos de catéteres intravasculares más utilizados en clínica

Tipo	Comentarios
Catéter venoso central común (CVC)	Es el dispositivo intravascular más usado. Se inserta en forma percutánea, a través de un acceso venoso central (vena subclavia, yugular o femoral). Los CVCs son frecuentemente utilizados para: infusión de fármacos, monitoreo hemodinámico, plasmaféresis, nutrición parenteral total, etc. Las tasas de infección asociadas a su utilización han ido en aumento en las últimas décadas, debido probablemente a su mayor uso y a la mayor complejidad de los pacientes en quienes se utilizan.
Catéter central periféricamente instalado (CCPI)	Es un dispositivo cuya inserción es periférica, pero la ubicación de su extremo distal (“punta”) es central (vena cava superior o subclavia). Permite un acceso central rápido y seguro por vía periférica, administrar todo tipo de soluciones, mayor comodidad y confort al paciente y registra una baja incidencia de complicaciones. Se han desarrollado también CCPI para larga duración.
Catéter de hemodiálisis	Para este caso la infección del sitio de inserción y la infección del túnel tienen las mismas definiciones que las de los otros catéteres (ver más adelante). En la infección del torrente sanguíneo se debe tener en consideración que el cuadro febril, con escalofríos y eventual compromiso hemodinámico, puede presentarse en cualquier momento del período interdiálisis ó durante la diálisis.
Catéter tunelizado	La tunelización utiliza un trayecto subcutáneo de algunos centímetros antes de la inserción del CVC al torrente venoso. El objetivo es retardar la migración extraluminal de las bacterias hacia el extremo distal del catéter y disminuir la tasa o riesgo de bacteriemia. Su aplicación cobra sentido en catéteres destinados a un uso prolongado, ya sea para la administración de quimioterapia o apoyo nutricional parenteral de larga duración. Los de tipo Hickman-Broviac poseen un <i>cuff</i> o manguito y un trayecto subcutáneo que impide su desplazamiento, y su extremo proximal queda externalizado; mientras que los de tipo Port poseen un reservorio ubicado en un bolsillo subcutáneo y quedan totalmente implantados. Estos últimos tienen una menor tasa de infecciones -pero cuando se infecta el reservorio, las complicaciones son más graves- y ocurre una mayor tasa de complicaciones de tipo mecánico.

El uso de estos dispositivos permite un acceso rápido y seguro al torrente sanguíneo con fines diagnósticos y terapéuticos, en especial en pacientes críticos o con patologías graves.

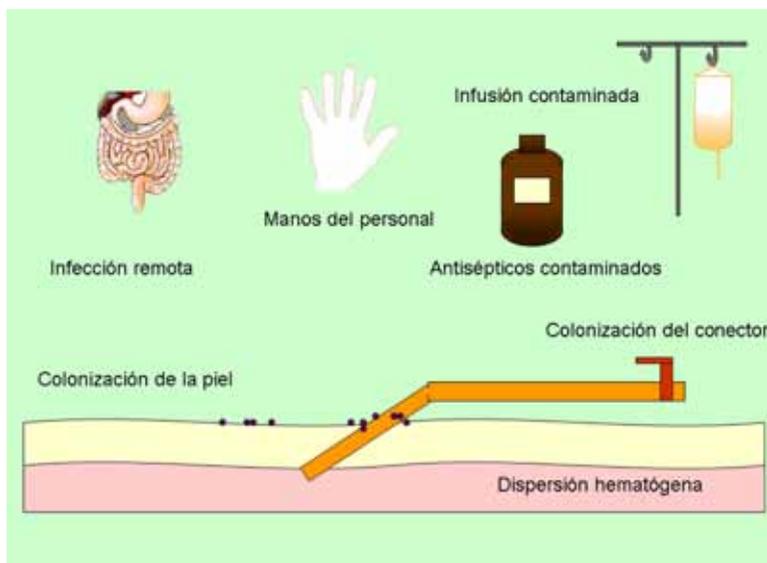
La adherencia y colonización de los microorganismos al catéter con formación de una matriz biológica representa uno de los eventos iniciales que conducen posteriormente a la septicemia relacionada al catéter.

En las infecciones producidas por ejemplo por los estafilococos, un pequeño número de bacterias que coloniza la piel, contamina el dispositivo, (en el punto de inserción del catéter) migran a lo largo de él, por acción capilar.

Desde la piel, los microorganismos alcanzan la superficie intravascular del catéter migrando a través de la fibrina extraluminal que se forma tras la inserción del mismo.

Muchos son los sitios de acceso a un dispositivo intravascular, que tienen los microorganismos (Figura 2).

Figura 2. Sitios de acceso a un dispositivo intravascular. (Adaptada de Lachener y col. Revista Hospital Materno Infantil Ramón Sardá. 2005).



Además de la contaminación del punto de inserción, la contaminación del conector, de los líquidos de infusión y la vía hematogena desde focos a distancia, son puntos de entradas muy frecuentes.

La vía endoluminal está involucrada en el 10-50% de las infecciones asociadas por catéteres, la vía hematogena en el 3-10% de los casos y el uso de fluidos contaminados en menos del 3%. (Figura 3).

De todos modos el tiempo que lleva colocado un dispositivo intravenoso, es un factor de importancia en la aparición de la infección asociada a él.

La vía de infección más frecuente es, como ya se comentó, la migración de los microorganismos desde la piel al sitio de inserción.

En catéteres de corta duración la colonización es fundamentalmente de la superficie externa, por microorganismos de la piel del sitio de inserción; en cambio, en los de larga duración predomina la colonización de la superficie interna.

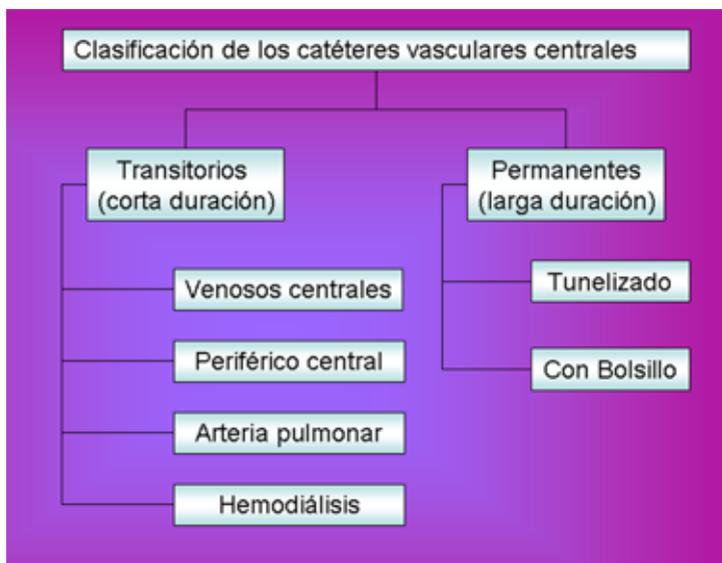


Figura 3. Clasificación de los catéteres vasculares centrales según tiempo de permanencia (Adaptado de Fica A. y Grupo de Consenso. Rev Chil Infect (2003); 20 (1): 39-40).

Los catéteres de corta duración (menos de 8 días) se colonizan con gérmenes de la piel en un 70-90% de los casos.

En los catéteres de duración superior a los 8 días, donde el grado de manipulación es mucho mayor, la vía de colonización endoluminal es la más frecuente (66%) seguida de la extraluminal (25%).

En general las soluciones de nutrición parenteral se pueden contaminar, por su composición, con hongos y levaduras.

Aun la composición del líquido, pH, puede resultar irritativa para la pared vascular, facilitando la formación de trombos los que pueden atrapar microorganismos llegados por vía hematógica o desde un sitio contiguo.

La aparición de la bacteriemia, en estos pacientes con dispositivos intravenosos, está sujeta a variaciones diversas que tienen que ver, entre las más frecuentes, con:

el paciente:

- gravedad de su enfermedad de base
- integridad de piel y tegumentos
- tratamientos recibidos
- equilibrio alterado de su flora cutánea
- enfermedades asociadas
- inmunidad disminuida

las características del catéter:

- composición y tamaño
- rigidez o flexibilidad

- trombogenicidad
- producción de biocapas
- funcionamiento

con el lugar de internación:

- manipulación del catéter
- vigilancia del cumplimiento de normas de control de infecciones por parte del personal de salud.

En general las infecciones asociadas a estos dispositivos son menores si se trata de catéteres periféricos que de catéteres centrales.

Los catéteres venosos centrales (CVCs) permanecen insertados por tiempos más prolongados y además inciden factores del propio catéter como el hecho de ser colocados en venas grandes, lo que trae complicaciones severas, como la endocarditis infecciosa o la tromboflebitis supurativa.

Los agentes etiológicos que predominan en las infecciones asociadas a catéteres son los SCN, SA, bacilos gramnegativos (BGN) con una frecuencia de alrededor de 60%- 20%- 30% respectivamente, y *Candida* spp., especialmente en pacientes con nutrición parenteral o neutropénicos tratados con antibióticos de amplio espectro.

Menos prevalentes son *Enterococcus* spp. (aunque están aumentando en los últimos años) y *Streptococcus* spp. (entre ambos, menos del 10%). Otros microorganismos involucrados son *Corynebacterium* spp. y *Bacillus* spp. Un 8-20% de estas infecciones son polimicrobianas.

La mayor importancia de los SCN está dada por su habilidad para adherirse y proliferar sobre superficies inertes formando biocapas, como ocurre sobre catéteres intravasculares, o del tracto urinario o en cualquier dispositivo que se comunica con el exterior, donde estos microorganismos son constituyentes de la flora de piel del paciente.

Según datos publicados por Raad et al. (J Infect Dis, 1993) se observó que todos los catéteres vasculares examinados (por microscopía electrónica), estaban cubiertos por la biocapa de bacterias (SCN), con un desarrollo en extensión de la misma proporcional al tiempo de permanencia del catéter.

Esta habilidad de SCN es probablemente determinante en su virulencia, al favorecer la adherencia y protegerse de antimicrobianos y las defensas del huésped mediante el slime.

Dos tipos de presentación clínica se pueden identificar en estas infecciones:

- una forma más benigna, ya sea como infección local, celulitis local, formación de abscesos, lo que posibilita enfrentarla con éxito mediante la vigencia de las precauciones universales por parte del personal de salud y mediante el uso antibióticos adecuados.
- una forma grave, con daño tisular y sistémico (tromboflebitis séptica, bacteriemia, endocarditis).

La mortalidad por bacteriemias asociadas a infecciones por CVC producidas por SA es mucho más elevada que aun la producida por SCN.

▪ El laboratorio

Algunos Conceptos:

Colonización del catéter: Crecimiento significativo de un microorganismo en un cultivo cuantitativo o semicuantitativo del extremo distal del dispositivo o de la conexión, sin que existan signos clínicos de infección en el punto de entrada del acceso vascular ni signos clínicos de sepsis.

Flebitis (vena periférica): Induración o eritema con aumento de la temperatura local y/o dolor alrededor del sitio de inserción y/o en el trayecto del catéter.

Infeción del punto de entrada:

- Clínicamente documentada: signos locales de infección en el punto de entrada del catéter; enrojecimiento, induración, calor y salida de material purulento.
- Microbiológicamente documentada: signos locales de infección en el punto de entrada del catéter más un cultivo positivo del punto de entrada del catéter, pero sin bacteriemia concomitante.

En el caso de catéteres de hemodiálisis algunos autores consideran entre éstas a las infecciones que comprometen el trayecto subcutáneo del catéter por fuera del *cuff* (mangito).

Infeción del túnel: Eritema, aumento de la sensibilidad y/o induración a más de 2 cm del sitio de salida, a lo largo del trayecto subcutáneo (por dentro del *cuff*) de un catéter tunelizado (Hickman, Broviac o de hemodiálisis), con o sin bacteriemia concomitante.

Infeción del bolsillo: Infección con salida de fluido en el bolsillo subcutáneo de un catéter totalmente implantable. A veces asociado con aumento de la sensibilidad, eritema y/o induración sobre el bolsillo.

Puede haber rotura espontánea y drenaje o necrosis de la piel que cubre el reservorio, con o sin bacteriemia concomitante.

Bacteriemia relacionada con el catéter (BRC):

- Bacteriemia (o funguemia) relacionada con el catéter (diagnóstico tras retirada del catéter venoso): aislamiento del mismo microorganismo (especie e idéntico perfil de susceptibilidad - idéntico antibiograma) en el hemocultivo extraído de una vena periférica y en un cultivo cuantitativo o semicuantitativo del catéter en un paciente con cuadro clínico de sepsis y sin otro foco aparente de infección.

En caso de SCN se exigirá el aislamiento del microorganismo, al menos en 2 frascos de hemocultivos periféricos.

- Bacteriemia (o funguemia) relacionada con el catéter (diagnóstico sin retirada del catéter venoso): cuadro clínico de sepsis, sin otro foco aparente de infección, en el que se aísla el mismo microorganismo en hemocultivos simultáneos cuantitativos en una proporción superior o igual a 4:1 en las muestras extraídas a través de catéter respecto a las obtenidas por venopunción.
- Bacteriemia (o funguemia) probablemente relacionada con catéter, en ausencia de cultivo de catéter: cuadro clínico de sepsis, sin otro foco aparente de infección, con hemocultivo positivo, en el que desaparece la sintomatología a las 48 h de la retirada de la línea venosa y sin tratamiento antimicrobiano eficaz frente al microorganismo aislado.
- Bacteriemia (o funguemia) relacionada con los líquidos de infusión: cuadro clínico de sepsis, sin otro foco aparente de infección, con aislamiento de idéntico microorganismo (especie e idéntico perfil de susceptibilidad en el antibiograma, (idéntico antibiotipo) en el líquido de infusión y en el hemocultivo extraído por vía percutánea. Actualmente es un fenómeno raro.

▪ Diagnóstico microbiológico de las infecciones relacionadas a catéteres (IRC)

Procedimientos de diagnóstico microbiológico no conservadores (realizados sobre catéteres removidos):

La principal desventaja de estos métodos es que requieren el retiro del catéter. Muchos estudios han demostrado que en más del 70% de los catéteres retirados por sospecha de infección, el cultivo fue negativo, por lo que fueron retirados innecesariamente representando un alto costo.

En general, la decisión de remoción del catéter se realiza en cualquier enfermo que cumple uno o más de los siguientes criterios:

1. Catéteres de los que se puede prescindir
2. Catéteres fáciles de sustituir

3. Catéteres en pacientes con bacteriemia que persiste a pesar del tratamiento antimicrobiano
4. Catéteres con infección en el túnel subcutáneo
5. Catéteres causantes de émbolos pulmonares o en la circulación mayor
6. Catéteres causantes de endocarditis
7. Catéteres infectados por microorganismos difíciles de erradicar sin retirada de los mismos

Métodos diagnósticos

Para todos ellos considerar que:

- No detectan las infecciones asociadas a catéteres por microorganismos de crecimiento lento.
- No detectan las infecciones asociadas a catéteres causadas por microorganismos que no crecen en las condiciones establecidas (*Malassezia furfur*, *Haemophilus* spp.).
- El tratamiento antimicrobiano previo a la obtención de la muestra puede alterar los resultados de los cultivos.

Cultivo cualitativo de la punta del catéter: **No debe realizarse** ya que no cuantifica el número de unidades formadoras de colonias (UFC) y por lo tanto no permite diferenciar una colonización significativa de la posible contaminación del catéter en el momento de su remoción. Consiste en la introducción del extremo distal del catéter en un caldo de cultivo. Su sensibilidad es cercana a 100%, pero su especificidad para colonización es menor de 50%.

Cultivo semicuantitativo de la punta del catéter: Método descrito por Maki y cols. en 1977.

Antes de retirar el catéter para ser cultivado, se deben extraer dos muestras de sangre para hemocultivo, obtenidas de sangre periférica, de venas diferentes a la que está colocado el catéter.

El método de Maki cultiva la superficie externa de la punta del catéter.

La muestra a procesar es el segmento distal del catéter intravascular (4-5 cm) en pacientes con sospecha de infección sistémica, el que debe enviarse al laboratorio de microbiología en un frasco estéril, preferentemente de boca ancha.

Si el segmento del catéter recibido fuese de una longitud superior, debe cortarse con un bisturí o tijeras estériles en el momento de proceder a su cultivo y procesar los 4-5 cm correspondientes a la punta.

Para la siembra, con la ayuda de pinzas estériles, se hace rodar el segmento del catéter hacia delante y atrás, 4 veces, sobre la superficie de una placa de agar sangre (Figura 4). Incubar la placa durante 48-72 horas a 35° C.

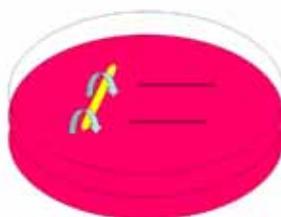


Figura 4.
Método de
Maki

- Rotar el catéter 4 veces sobre la placa de agar sangre
- Incubar 48-72 hs a 35°C
- Realizar el recuento de colonias

Interpretación de resultados:

- Un desarrollo menor de 15 colonias (15 UFC), se interpreta como contaminación del catéter.

- Un desarrollo igual o mayor de 15 colonias (≥ 15 UFC) se interpreta como una infección del catéter. La que puede ser la causa del cuadro clínico, si se ha aislado simultáneamente el mismo microorganismo en los hemocultivos periféricos.

En aquellos cultivos en los que se obtiene un crecimiento del número de colonias igual o superior a 15 por placa se efectuará la identificación de género y especie según los procedimientos de identificación del laboratorio. El estudio de sensibilidad a los antimicrobianos se realizará según corresponda.

Se acepta como criterio de colonización significativa la presencia de 15 o más UFC por placa. Con dicho criterio, el método tiene una especificidad del 75%, pero escaso valor predictivo positivo (16%).

Se considera que existe una BRC cuando se observa colonización significativa en la placa de agar sangre (15 o más UFC) y se aísla idéntico microorganismo (especie y antibiograma) en los hemocultivos.

Se debe tener en cuenta que, al recuperar solo los microorganismos de la superficie externa del catéter, la máxima utilidad del método de Maki es en catéteres de corta duración.

No hay que olvidar que existen alrededor de un 15% de bacteriemias de origen endoluminal, especialmente en catéteres de larga duración que podrían no ser diagnosticadas si solo se utiliza esta técnica de cultivo semicuantitativo.

Cultivos cuantitativos de la punta del catéter:

Antes de retirar el catéter para ser cultivado, se deben extraer dos muestras para hemocultivo, obtenidas de sangre periférica, de venas diferentes a la que está colocado el catéter.

También aquí, la muestra a procesar es el segmento distal del catéter intravascular (4-5 cm) en pacientes con sospecha de infección sistémica, la que debe ser enviada al laboratorio de microbiología en frasco estéril, preferentemente de boca ancha.

Si el segmento del catéter que llega al laboratorio fuese de una longitud superior, debe cortarse con un bisturí o tijeras estériles en el momento de proceder a su cultivo y procesar los 4-5 cm correspondientes a la punta.

1. Método de *flush*, barrido o irrigación descrito por Cleri y cols. en 1980: detecta microorganismos de las superficies externa e interna del catéter y compara los recuentos bacterianos de dos segmentos del catéter, la punta y el segmento intradérmico o subcutáneo.

Esta técnica tiene la ventaja sobre el cultivo semicuantitativo que permite conocer y cuantificar la colonización global del catéter en ambas superficies, externa e interna.

Consiste en introducir un segmento del catéter en 2 ml de caldo nutritivo y lavar tres veces la luz del catéter con la ayuda de una aguja y jeringa estériles (Figura 5).

Posteriormente se realizan diluciones seriadas al décimo (1/10 y 1/100) con siembra posterior (0,1 ml) de cada una de ellas en placas de agar sangre para recuento (cubriendo toda la placa).

Incubar las placas durante 48-72 horas a 35° C.

Luego del desarrollo bacteriano, se realiza el recuento de colonias según la fórmula:

$$\frac{N^{\circ} \text{ de colonias} \times \text{dilución} \times 10}{\text{Volumen de caldo original}} = \text{UFC / ml}$$

Se considera positivo el cultivo, si existe un desarrollo microbiano mayor o igual a 1.000 UFC/ml.

Con dicho punto de corte, los autores encontraron 100% de sensibilidad y 92% de especificidad en los casos de BRC.

Este umbral, avalado en estudios posteriores, se considera como el más adecuado para el diagnóstico de BRC.

Recuentos inferiores son considerados como posible contaminación o una fase temprana de colonización.



Figura 5.
Método de
Cleri.

- Sumergir cada segmento del catéter en 2 ml de caldo de cultivo.
- Realizar 3 lavados de la parte interna con aguja y jeringa estéril
- Realizar diluciones seriadas al décimo.
- Sembrar 0,1 ml de la suspensión sin diluir y de cada dilución en placas de agar sangre
- Incubar 48-72 hs a 35°C
- Realizar el recuento de colonias
- Cultivo positivo: ≥ 1000 UFC/ml

En aquellos cultivos en los que se obtiene un crecimiento de colonias mayor o igual a 1.000 UFC/ml, se efectuará la identificación de género y especie según los procedimientos del laboratorio.

El estudio de sensibilidad a los antimicrobianos se realizará según corresponda.

2. Método cuantitativo simplificado descrito por Brun-Buisson y cols. en 1990: es una simplificación del método de Cleri y también recupera microorganismos de la superficie interna y externa del dispositivo.

Consiste en introducir la punta del catéter, con la ayuda de pinzas estériles, en un tubo con 1 ml de agua destilada estéril y tras 1 minuto de agitación en un vórtex (Figura 6), sembrar 0,1 ml de la suspensión, sin diluir y diluida 1/10 en una placa de agar sangre para recuento (cubriendo toda la placa).

Incubar la placa durante 48-72 horas a 35° C y posteriormente, realizar el recuento de colonias.

Al igual que el método de Cleri, el cultivo se considera positivo si existe un desarrollo microbiano mayor o igual a 1.000 UFC/ml.

En aquellos cultivos en los que se obtiene un crecimiento de colonias mayor o igual a 1.000 UFC/ml, se efectuará la identificación de género y especie según los procedimientos del laboratorio. El estudio de sensibilidad a los antimicrobianos se realizará según corresponda.

Con este método, se obtiene una sensibilidad del 97,5% y una especificidad del 88% en los catéteres de pacientes con signos clínicos de IRC, parámetros que alcanzan el 100% cuando se asocia a BRC.

3. Sonicación descrito por Sherertz y cols. en 1990: consiste en depositar la punta del catéter en un tubo con 10 ml de caldo tripticasa soya y someterla a sonicación (55.000 hertz) durante un minuto.

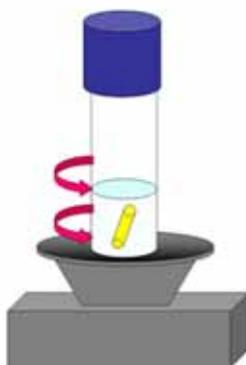


Figura 6.
Método de
Brun-Buisson.

- Sumergir el catéter en 1 ml de agua destilada estéril
- Agitar en vórtex 1 minuto
- Sembrar 0,1 ml de la suspensión sin diluir y diluida 1/10 en placa de agar sangre
- Incubar 48-72 hs a 35°C
- Realizar el recuento de colonias
- Cultivo positivo: ≥ 1000 UFC/ml

Posteriormente, se siembra 0,1 ml del caldo original así como 0,1 ml de sus diluciones (1/10 y 1/100) en placas de agar sangre para recuento (cubriendo toda la placa). Incubar la placa durante 48-72 horas a 35° C y posteriormente, realizar el recuento de colonias.

El cultivo se considera positivo si existe un desarrollo microbiano mayor o igual a 100 UFC/ml.

Este punto de corte permite cuantificar la IRC y distinguir infección de colonización con una sensibilidad del 93% y una especificidad del 94%

Los métodos mencionados hasta ahora, no distinguen la colonización de la superficie externa del catéter de la interna.

En 1985, Liñares y col. describen una modificación del método de Cleri que permite conocer la colonización de la luz del catéter.

4. Método cuantitativo descrito por Liñares y cols. en 1985: consiste en lavar, con aguja y jeringa estériles, la superficie interna del catéter con 2 ml de caldo de cultivo, sin sumergirlo en el caldo (Figura 7).

Posteriormente, se siembra 0,1 ml del caldo original así como 0,1 ml de sus diluciones (1/10 y 1/100) en placas de agar sangre para contabilizar los microorganismos en la superficie interna del catéter. Incubar la placa durante 48-72 horas a 35° C y posteriormente, realizar el recuento de colonias.

Al igual que el método de Cleri, el cultivo se considera positivo si existe un desarrollo microbiano mayor o igual a 1.000 UFC/ml.

A continuación, el catéter se siembra por el método semicuantitativo de Maki, para conocer la colonización externa del mismo.

La utilización simultánea de ambas técnicas tiene una sensibilidad del 100% en casos de IRC y BRC.



Figura 7.
Método de
Liñares.

- Lavar la superficie interna del catéter con 2 ml de caldo de cultivo, evitando que el caldo esté en contacto con la superficie externa.
- Realizar diluciones seriadas al décimo.
- Sembrar 0,1 ml del caldo original y de las diluciones en placas de agar sangre
- Incubar 48-72 hs a 35°C
- Realizar el recuento de colonias
- Positivo: ≥ 1000 UFC/ml

En catéteres removidos:

1. Tinción de Gram del extremo distal descrita por Cooper y cols.: consiste en la tinción de un segmento del catéter y observación con lente de inmersión. Requiere una observación mínima durante 3 a 10 minutos para visualizar los microorganismos de la superficie externa del catéter. Se considera positivo si se observa 1 microorganismo cada 20 campos.

2. Tinción con naranja de acridina del extremo distal descrita por Zufferey y cols.: es un método similar a la tinción de Gram pero por ser una tinción fluorescente, permite una observación con un aumento menor, lo que reduce el tiempo de observación. Si se observa fluorescencia, se utiliza inmersión. Se considera positivo la visualización de uno o más microorganismos fluorescentes.

La especificidad y sensibilidad de estas técnicas es superior al 80% y han demostrado ser útiles en el diagnóstico de las IRC, especialmente en las causadas por levaduras.

La limitación de estos métodos tintoriales es que sólo se han estudiado para el diagnóstico de colonización y que no permiten la identificación del microorganismo y su relación con los microorganismos aislados en los hemocultivos. Tampoco permiten la realización de estudios de susceptibilidad, por lo que su realización no sustituye al cultivo.

Por otra parte, solo pueden llevarse a cabo en catéteres transparentes cuyas paredes no sean excesivamente gruesas o utilizando microscopios especiales.

En catéteres sin remover:

La remoción de un catéter intravascular puede ser una decisión de cuidado en pacientes críticos, en neonatos, en pacientes con acceso difícil al espacio intravascular, entre otras circunstancias.

Los catéteres tunelizados y especialmente aquellos con bolsillo subcutáneo, por ejemplo, requieren de procedimientos quirúrgicos para su retiro.

Por ello, se utilizan métodos de diagnóstico “conservadores” basados en estrategias que no obliguen a disponer de la punta ni otros segmentos del catéter para su estudio.

El objetivo de estos métodos es evitar el retiro innecesario de catéteres, ya que más del 70% de los catéteres retirados por sospecha de infección son estériles.

Los métodos de diagnóstico conservadores más utilizados son: los cultivos de la piel en el punto de inserción y de la conexión, el cepillado endoluminal del catéter y aquellos que comparan los resultados obtenidos de los hemocultivos de sangre extraída de una vena periférica y los realizados a través del catéter.

Respecto a estos últimos se han descrito técnicas que comparan el tiempo de crecimiento de los hemocultivos extraídos de una vena periférica respecto a los extraídos a través del catéter.

Algunas técnicas:

Cultivos superficiales semicuantitativos:

La técnica consiste en la detección de microorganismos, en recuento significativo, en cualquiera de las dos vías de acceso a la punta del catéter, la piel que rodea el punto de entrada del catéter (vía extraluminal) y la conexión (vía de exceso endoluminal).

Esta técnica posee un elevado valor predictivo negativo y permite evaluar en forma conjunta la posible colonización extra y endoluminal.

La toma de muestra de piel en la zona que rodea el punto de inserción del catéter (diámetro: 1-2 cm) se realiza con hisopo.

Normalmente no se utiliza medio de transporte por lo que el procesamiento debe ser inmediato.

Si no se va a procesar inmediatamente, el hisopo debe ser colocado en medio de transporte.

Para la toma de la muestra de la conexión del catéter es preferible utilizar hisopos de alginato por su menor tamaño, ya que permite introducir el hisopo en el orificio de las conexiones.

En catéteres multiluminales se debe tomar muestra de cada conexión.

Para ello, se introduce el hisopo en la conexión y se gira 2 o 3 veces en el interior de la misma.

Con la metodología usada para los hisopos de piel, si no se van a procesar de inmediato deben colocarse los hisopos en medio de transporte.

Todos los hisopos recibidos, convenientemente identificados, se cultivan en placas de agar sangre para recuento semicuantitativo, o sea ocupando toda la placa para la siembra.

Incubar la placa durante 48-72 horas a 35° C y posteriormente, realizar el recuento de colonias.

Se considera que una piel o una conexión son positivas en este recuento semicuantitativo cuando el número de bacterias de una especie determinada por placa es igual o superior a 15 UFC.

SI en los cultivos no se observa desarrollo bacteriano o éste es inferior a 15 UFC por placa, prácticamente se descarta que el catéter sea el origen de la infección del paciente.

Es importante tener en cuenta que la negatividad de esta técnica descarta la infección relacionada con el catéter, pero su positividad **no** implica necesariamente una infección.

Por ello, generalmente, a los microorganismos aislados a partir de muestras de piel y de conexión, se les realiza antibiograma si se solicita específicamente.

La tinción de Gram de los frotis del punto de inserción del catéter en la piel y de la conexión, también posee un alto valor predictivo negativo pero escaso valor predictivo positivo. Los resultados de la tinción deben ser confirmados con los cultivos correspondientes.

Considerar que:

- Este procedimiento no detecta las infecciones asociadas a catéteres causadas por microorganismos de crecimiento lento.
- No detecta las infecciones asociadas a catéteres causadas por microorganismos que no crecen en las condiciones establecidas (*Malassezia furfur*, *Haemophilus* spp.).
- El tratamiento antimicrobiano previo a la obtención de la muestra puede alterar los resultados de los cultivos.
- Se recomienda esta técnica como un método de aproximación sencillo y económico al diagnóstico de infección de la punta de catéter.

Cultivos de sangre aspirada por el catéter:

Estos métodos están basados en la búsqueda de bacterias en la sangre aspirada por un catéter **no removible** supuestamente infectado (retrocultivo), realizando cultivos que son comparados con los obtenidos de sangre periférica.

Para la toma de muestra:

- se extraen 5 ml de sangre a través del catéter, colocarlo en un tubo estéril con anticoagulante, rotular **retrocultivo**.
- luego extraer 10 ml de sangre de vena periférica diferente, colocar 5 ml en un frasco de hemocultivo y los otros 5 ml en un tubo estéril con anticoagulante, rotular **sangre periférica**.

Del tubo rotulado **retrocultivo** se toma la sangre con pipeta estéril y se lo distribuye en 5 placas de Petri (1 ml en cada una). Luego se agrega a cada una, 9 ml de agar fundido y enfriado a 56°C y se mezcla. Idéntico procedimiento se realiza con la sangre del tubo rotulado como **sangre periférica**.

En catéteres multilúmen, algunos autores recomiendan que se aspire sangre de cada uno de los lúmenes.

Las placas se incuban paralelamente (35°C durante 24-72 hs) de modo de obtener un recuento de colonias expresado en UFC por ml de sangre.

Posteriormente, se calcula la razón UFC retrocultivo/ UFC sangre periférica.

Una relación catéter/sangre periférica superior a 4:1 en el recuento de colonias es considerada indicativa de BRC.

Para mejorar la sensibilidad y especificidad de esta técnica se recomienda utilizar el método de lisis- centrifugación, aunque debe contarse para ello con el equipamiento adecuado (tubos de lisis-centrifugación y perforador de tapones de tubos de lisis-centrifugación).

La sensibilidad con el método de lisis-centrifugación es de 79-80% y su especificidad de 94-100% cuando existe bacteriemia.

También, otros estudios han detectado que, un recuento >100 UFC/ml en sangre obtenida del catéter en presencia de un hemocultivo cualitativo positivo para idéntico germen en sangre periférica, es altamente sugerente de BRC.

La mayor ventaja de la técnica cuantitativa, realizada mediante lisis-centrifugación, es que permite el diagnóstico de certeza de la IRC, en hemocultivos positivos, y evita la retirada innecesaria del catéter.

Su desventaja es la complejidad técnica, debe existir bacteriemia y un adecuado reflujo de sangre, además de su relativamente elevado costo.

Tinciones de sangre aspirada por el catéter:

Descrita por Rusforth y cols. en 1933, esta técnica consiste en aspirar una muestra de 50 µl de sangre a través del catéter.

Los hematíes se lisan con suero salino hipotónico y los leucocitos se sedimentan por centrifugación.

Se preparan dos extendidos con una capa rica de leucocitos mediante cito-centrifugación. Uno de ellos se tiñe con naranja de acridina y se examina con microscopio de inmunofluorescencia. De observarse bacterias, el segundo extendido se colorea con la coloración de Gram para la identificación morfológica de los microorganismos.

Tanto en niños como en adultos, esta técnica tiene una alta sensibilidad (87-96%) y especificidad (92-94%), así como elevados valores predictivos positivo (91%) y negativo (97%).

Otra ventaja es su sencillez, además de económica y de insumir poco tiempo para su realización (menos de 30 minutos).

La desventaja es que requiere equipamiento de alto costo (cito-centrífuga y microscopio de fluorescencia).

Técnicas basadas en la velocidad de crecimiento de hemocultivos cualitativos:

Esta técnica, utiliza la ventaja de los nuevos sistemas automatizados para el procesamiento de hemocultivos.

Estos sistemas determinan el tiempo transcurrido desde el inicio de la incubación de los frascos hasta el momento en que se detecta crecimiento significativo.

Por lo tanto, las diferencias en tiempo de crecimiento, entre hemocultivos simultáneamente tomados por el catéter y de una vía periférica pueden orientar si la bacteriemia tiene como origen al catéter.

Este método se fundamenta en que a mayor carga bacteriana (mayor inóculo), menor es el tiempo necesario para que un hemocultivo sea positivo en un sistema automatizado con monitorización continua.

Los autores establecen en 120 minutos la diferencia significativa entre las muestras pareadas.

El método permite el uso de hemocultivos ordinarios cualitativos y no requiere métodos especiales para su procesamiento.

Presenta una sensibilidad y especificidad del 94% y 91%, respectivamente, para el diagnóstico de BRC de origen endoluminal, y ha sido propuesta para el uso rutinario en centros de salud que dispongan de sistemas automatizados.

Sin embargo, no se ha comprobado su validez para BRC de origen extraluminal.

Examen mediante cepillado intraluminal:

La introducción de un pequeño cepillo montado sobre una guía metálica, capaz de poder progresar hasta la punta del catéter y arrastrar la biocapa, fue propuesta en 1989.

Los cepillos se han utilizado de dos maneras: para movilizar las bacterias que se encuentran en la biocapa con posterior obtención de cultivos de sangre, o de forma directa, estudiando las bacterias incorporadas al cepillo tras ser retirado.

Este procedimiento de cultivo no ha proporcionado resultados satisfactorios, ya que:

- Es preciso disponer de cepillos con guías metálicas de varios tamaños para adaptarse a los distintos tipos de catéteres
- En catéteres cuyas luces tienen una salida lateral no es fácil alcanzar el extremo.
- El procedimiento es costoso y posee baja sensibilidad (30%), aunque alta especificidad (95%) al compararlo con el cultivo de la punta de catéter realizado inmediatamente después.
- Existe riesgo de embolización y de bacteriemia secundaria al procedimiento.

Bacteriemia (o fungemia) relacionada con los líquidos de infusión

La bacteremia relacionada con los líquidos de infusión es poco frecuente, menos del 3% de los casos.

Esta vía hematógena, adquiere mayor relevancia si nos referimos a pacientes ingresados en unidades de cuidados intensivos.

La contaminación del líquido de infusión está generalmente asociada a brotes.

Si el estudio microbiológico de los catéteres es negativo y en los hemocultivos periféricos desarrollan microorganismos inusuales, como *Enterobacter* spp. ó bacilos gramnegativos no fermentadores, es necesario considerar la posibilidad de la contaminación de los productos de infusión.

Para el cultivo del líquido de infusión se envía al laboratorio 10-20 ml (obtenidos con aguja y jeringa estéril).

De estos, se siembra 0,1 ml en superficie sobre un medio sólido a fin de estimar el grado de contaminación. El resto de la muestra se inocular en un frasco de hemocultivo.

La recuperación de idéntico microorganismo (biotipo y antibiotipo) que el recuperado de los hemocultivos periféricos, permite corroborar la bacteriemia relacionada a la utilización de líquidos de infusión contaminados.

Recomendaciones respecto de los métodos de diagnóstico

- No deben realizarse cultivos sistemáticos de vigilancia de los catéteres venosos centrales, independientemente de su tipo o localización, ya que es una práctica de alto costo, sobrecarga de trabajo al laboratorio y la demostración microbiológica de colonización no se correlaciona con el cuadro clínico de bacteriemia relacionada a catéteres.
- Sólo deben enviarse a microbiología para cultivo los catéteres procedentes de los pacientes con signos y síntomas de infección.
- Las muestras de los pacientes con sepsis grave relacionada con el catéter, en situación crítica, demandan una atención de urgencia por parte del microbiólogo.
- Se recomienda la identificación de los microorganismos relacionados con la infección asociada al catéter y la determinación de su género, especie, biotipo y antibiotipo. Las técnicas de identidad molecular quedan reservadas para estudios de investigación.

- No deben realizarse cultivos cualitativos de catéteres.
- Los métodos cuantitativos son de elección frente a los semicuantitativos en el diagnóstico de BRC, ya que presentan una sensibilidad global de 94% y una especificidad global de 92%, en comparación con 85% de sensibilidad y especificidad global para los métodos semicuantitativos.
- Los métodos cuantitativos, además, permiten recuperar microorganismos de la superficie interna y externa del catéter que se liberan desde la capa de biofilm.
- Los métodos cuantitativos tienen mejor rendimiento en catéteres de larga duración, debido a que a partir del séptimo día comienza a predominar la colonización intraluminal del catéter.
- En el caso que el catéter deba ser retirado y se disponga de su extremo distal, se recomienda realizar alguna técnica cuantitativa de este extremo, ya que permiten la recuperación de microorganismos intraluminales y de la superficie externa, técnica que puede ser utilizada en catéteres de corta y larga duración.
- El cultivo del extremo distal debe acompañarse de hemocultivos obtenidos por venopunción. La obtención de 2 hemocultivos periféricos a partir de diferente sitio de punción mejora la especificidad, ya que disminuye la probabilidad que el hemocultivo positivo en caso de SCN sea interpretado como una contaminación al momento de la obtención de la muestra.
- En el caso de catéteres con más de un lumen, se recomienda la obtención al menos, de las muestras por el lumen de la nutrición parenteral total o el lumen distal.
- Cuando no se pueden realizar cultivos cuantitativos, se recomienda la técnica semicuantitativa de la punta del catéter conjuntamente con la realización de la tinción de Gram y los cultivos de piel pericatóter (por hisopado de la piel que rodea al orificio donde penetra el catéter) y de la conexión.

- Si se utiliza el método semicuantitativo de Maki, recordar que sólo recupera microorganismos de la superficie externa, por lo que debe ser utilizado en catéteres de corta duración.
- El cultivo de la conexión, por hisopado de la parte interna del dispositivo que conecta el catéter con el sistema de perfusión, nos ofrece información sobre la colonización endoluminal y el método semicuantitativo, sobre la colonización de la superficie externa del catéter.
- Si el catéter no pueda ser retirado, se deben elegir métodos conservadores. La recomendación es efectuar hemocultivos cuantitativos pareados con las técnicas descritas y validadas en la literatura.
- Si se dispone de sistemas automatizados y no es posible realizar hemocultivos cuantitativos, se recomienda valorar el tiempo diferencial de la positividad de los hemocultivos.
- La técnica de tinción del catéter no es recomendada para el diagnóstico de BRC ya que puede conducir a sobrediagnóstico y sobretratamiento por colonización y no bacteriemia.
- En los pacientes críticos con sospecha de sepsis, la tinción de Gram y/o naranja de acridina de piel y conexión ofrecen, por su valor predictivo negativo, una rápida información para la toma de decisiones. Los resultados deben confirmarse con el cultivo.
- Una alternativa válida para el estudio de la infección relacionada con el catéter es la tinción de Gram y naranja de acridina de muestras de sangre aspiradas por el catéter y posteriormente lisadas.
- Todos los cultivos y recuentos deben ser evaluados según el cuadro clínico del paciente.
- En caso de *Candida* spp. sería prudente considerar los cultivos en forma independiente del recuento.

Procedimientos de diagnóstico microbiológico de los hemocultivos

Indicaciones de los hemocultivos

En general, los hemocultivos deben realizarse siempre que exista sospecha clínica de sepsis, meningitis, osteomielitis, pielonefritis, infección intra-abdominal, artritis, infecciones graves de la piel y tejidos blandos, neumonía, endocarditis y fiebre de origen desconocido.

Los signos que orientan esta sospecha incluyen fiebre, hipotermia o disminución súbita de la vitalidad (neonatos, ancianos), escalofríos, leucocitosis o granulocitopenia, deterioro uni o multiorgánico, shock, compromiso hemodinámico y sus combinaciones.

Obtención de la muestra de sangre

Ante la presencia de fiebre intermitente (bacteriemia intermitente o bacteriemia transitoria), la sangre para cultivo debiera obtenerse idealmente durante la hora previa al proceso febril y al pico de temperatura esperado, dado que existe habitualmente un retraso de aproximadamente una hora entre el paso de bacterias al torrente sanguíneo y el comienzo de la fiebre, por lo que la sangre puede estar estéril en el momento en que la fiebre comienza. En la práctica, los hemocultivos se obtienen habitualmente luego del inicio de la fiebre o escalofríos.

Si la bacteriemia (endocarditis, infecciones intravasculares, etc) es continua, el momento de extracción de la muestra de sangre es indiferente.

La muestra de sangre para hemocultivos se toma generalmente de una vena ya que la extracción a partir de una arteria no ha demostrado mayor ventaja.

La extracción no debe realizarse a través de catéteres intravenosos o intraarteriales, excepto en los casos de sospecha de bacteriemia asociada a catéter.

Cada muestra de sangre deberá ser tomada de lugares de venopunción distintos.

Asepsia de la piel:

El principal problema para la interpretación correcta de los hemocultivos es su contaminación con la flora cutánea durante la extracción.

Si se utiliza una técnica de asepsia correcta, el número de hemocultivos contaminados no debería exceder el 3%.

Generalmente, la presencia de SCN, *Bacillus* spp., *Propionibacterium acnes*, *Corynebacterium* spp. y otros microorganismos que forman parte de la microbiota de la piel se considera una contaminación, siempre que su aislamiento no se repita en más de una muestra por paciente.

Para la toma de la muestra es de importancia:

- Realizar la toma de muestra con guantes estériles.
- Se deben cerrar puertas y ventanas para evitar corrientes de aire.

La sangre puede extraerse con una jeringa y aguja estériles, o mediante un equipo de transferencia o una aguja con doble punta que desemboque en un tubo de recolección de sangre al vacío, conteniendo anticoagulante, polianetolsulfonato de sodio (PSS), o directamente en frascos con medio de cultivo, al vacío.

Después de la palpación, el sitio donde se realizará la punción debe frotarse en forma concéntrica, comenzando por el centro, con una solución de povidona-yodo al 10% (yodo disponible 1%) y posteriormente limpiar con alcohol isopropílico o etílico al 70%, cubriendo un área circular de 2-4 cm de diámetro.

En pacientes alérgicos a los compuestos yodados se deben realizar dos limpiezas con alcohol isopropílico.

Es preferible y a la vez conveniente emplear torundas o hisopos preparados individualmente.

Para una mayor eficacia, debe dejarse secar el desinfectante antes de extraer la sangre.

Extracción de la muestra de sangre:

Antes realizar la extracción de la sangre, los tapones de los frascos de hemocultivo se deben limpiar con un antiséptico que se dejará secar para evitar su entrada en el interior del frasco al inocular la sangre, ya que aún en pequeñas cantidades podría inhibir el crecimiento bacteriano.

A continuación se extraerá la sangre sin utilizar anticoagulante.

Los frascos de hemocultivo deben inocularse rápidamente para evitar la coagulación de la sangre en la jeringa, atravesando el tapón con la aguja en posición vertical, evitando la entrada de aire.

Una vez inoculados, los frascos se deben invertir varias veces, sin producir espuma, para mezclar la sangre y el medio de cultivo.

Número e intervalo de las extracciones

El número de extracciones considerado óptimo para la documentación de un episodio de bacteriemia es de 2 a 3, utilizando siempre lugares diferentes de venopunción a fin de evitar contaminaciones y molestias al paciente, ya que permite detectar más del 95% de las bacteriemias.

Si se siembran diferentes frascos con la sangre procedente de una sola punción venosa, el conjunto debe considerarse como un hemocultivo único.

Un mayor número de muestras, solo es aconsejable en pacientes con sospecha de endocarditis.

Como se comentó, la extracción se realiza lo antes posible después de la aparición de los síntomas (fiebre, escalofríos...) teniendo en cuenta que las bacterias son eliminadas rápidamente de la sangre por las células del sistema reticuloendotelial.

Los hemocultivos pueden efectuarse con intervalos de aproximadamente una hora, salvo en situaciones clínicamente urgentes, en las que sea necesario reducir los intervalos a minutos de modo de obtener sangre antes de iniciar la terapia antimicrobiana. En general se toman dos o tres muestras con intervalos de 15 a 30 minutos, ante urgencia, es posible tomar dos muestras simultáneamente de venas distintas.

Siempre que sea posible, las extracciones deben realizarse antes de la administración de antimicrobianos.

Volumen de sangre a cultivar:

De todas las variables que influyen en el aislamiento de un microorganismo 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.

El volumen de sangre cultivada varía según se trate de niños o adultos.

Extraer una cantidad que corresponda al 10% del medio de cultivo a usar. Es decir, a un frasco que contenga 50 ml de medio debe añadirse 5 ml de sangre.

Esta dilución de la sangre en el medio de cultivo es necesaria para neutralizar sus propiedades bactericidas. En los pacientes en tratamiento con antimicrobianos esta dilución permite, además, conseguir que la presencia de éstos se reduzca hasta alcanzar concentraciones subinhibitorias.

Transporte del hemocultivo al laboratorio

Cada hemocultivo con la sangre inoculada debe ser debidamente identificado con:

- Nombre y apellido del paciente
- Fecha y hora de extracción de cada muestra.
- Orden en que fueron extraídas las muestras
- Quien los solicita (servicio, planta, número de cama, nombre del médico)
- Temperatura axilar y/o rectal.
- Diagnóstico del paciente
- Tratamiento antimicrobiano que está recibiendo

Los frascos, con su debida identificación, deben transportarse al laboratorio inmediatamente. En caso de no poder colocar los frascos inmediatamente en estufa a 35°C, mantenerlos a temperatura ambiente hasta su posterior incubación.

Los frascos de hemocultivos sembrados con sangre, u otro liquido biológico, nunca deben ser refrigerados.

Procesamiento de los hemocultivos e Interpretación de los resultados

Existen métodos manuales y métodos automatizados para el procesamiento de los hemocultivos.

Métodos manuales

- Método convencional (Esquema 1):

Es un método técnicamente simple que se basa en la observación macroscópica de los signos de desarrollo bacteriano en los frascos con medio de cultivo líquido en los que se ha inoculado la sangre del paciente.

Se usan diversos medios de cultivo, desde caldo nutritivo glucosado hasta medios más complejos para permitir la recuperación de gérmenes más exigentes.

Existen medios comerciales que permiten la recuperación de gérmenes aerobios, anaerobios, CO₂ dependientes y variantes bacterianas.

La mayoría de los medios de cultivo preparados comercialmente están adicionados con polianetolsulfonato de sodio (PSS), un anticoagulante polianiónico que inhibe la actividad del complemento y la lisozima, interfiere en la fagocitosis e inactiva las concentraciones de aminoglucósidos clínicamente alcanzables.

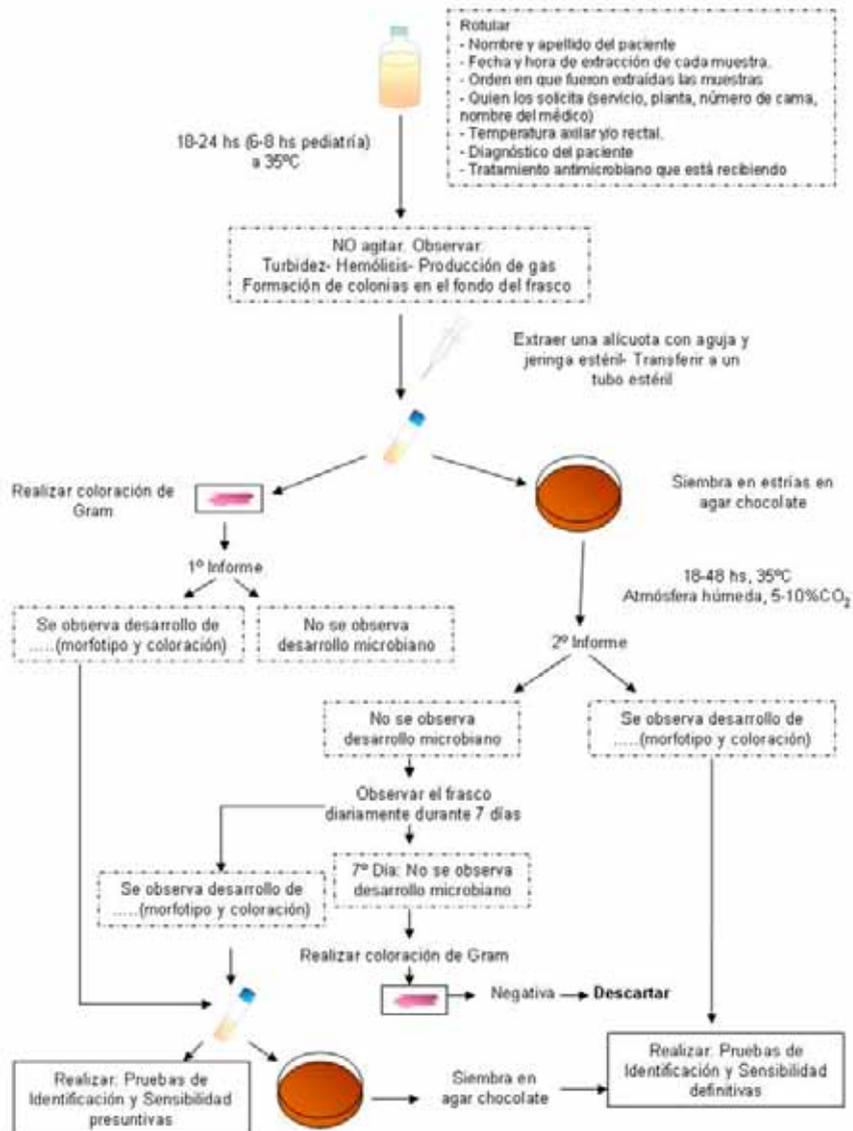
Sin embargo, el PSS inhibe el desarrollo de algunas cepas de *Neisseria meningitidis* y *N. gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis* y *Peptoestreptococcus anaerobius*. Este efecto inhibitorio puede neutralizarse adicionando al medio 1,2% de gelatina, no obstante ante la sospecha de gonococemia o meningococemia, debe inocularse la sangre del paciente en medios sin PSS.

El medio de cultivo se embotella al vacío con una atmósfera que contiene cantidades variables de CO₂.

El potencial de óxido-reducción del medio, si no se ventila, es lo suficientemente bajo como para permitir el crecimiento de bacterias anaerobias.

Siempre es conveniente ventilar uno de los frascos después de la inoculación, por medio de una aguja, a fin de permitir la entrada de oxígeno en su interior y crear una atmósfera aerobia. Los frascos se incuban entre 35-37°C.

Esquema 1: Método convencional de procesamiento de hemocultivos



La mayoría de los microorganismos responsables de bacteriemia se aíslan entre las 18 y 72 horas siguientes del inicio de la incubación de los hemocultivos. Dado que, más del 95% de los microorganismos se aíslan durante la primera semana, la incubación se debe mantener al menos durante 7 días.

Existen, no obstante, algunos patógenos y situaciones en los que se precisa más tiempo para su crecimiento (hongos, microorganismos del género *Brucella* y algunos microorganismos causantes de endocarditis (*Cardiobacterium*, *Eikenella*...) por lo que, ante la sospecha de cualquiera de estas circunstancias, se prolonga la incubación hasta 4 semanas.

Los frascos se observan diariamente para detectar signos visibles de crecimiento bacteriano como turbidez del medio, la hemólisis de los hematíes, la producción de gas o la formación de colonias en el fondo del frasco.

Dado que existen causas ajenas al crecimiento bacteriano que pueden enturbiar el medio o hemolizar los hematíes, así como microorganismos que pueden crecer sin producir ningún signo macroscópico de crecimiento, la visualización macroscópica se debe complementar con el examen microscópico.

En las primeras 18-24 horas de cultivo, existan o no signos de desarrollo bacteriano, se debe realizar un subcultivo ciego.

En niños, donde las bacteriemias son con alto inóculo bacteriano, este primer subcultivo debe realizarse luego de 6-8 horas de incubación.

No se recomienda el examen microscópico diario, con coloración de Gram, de los hemocultivos sin signos de crecimiento porque aumenta la posibilidad de contaminación de la muestra y porque ha demostrado ser de poco valor.

A los 7 días de incubación, antes de desechar los frascos como negativos, se debe realizar una última observación microscópica.

De observarse algún signo visible de desarrollo bacteriano, una alícuota del medio líquido se deben subcultivar en medio sólido apropiado (usual-

mente, agar chocolate) a fin de recuperar los gérmenes para su identificación y estudio de sensibilidad.

Si se observa en la coloración de Gram, un solo morfotipo, es posible realizar pruebas de identificación y el estudio de sensibilidad preliminares a partir de la alicuota obtenida.

Estos resultados tienen un gran valor en el manejo inicial del paciente con bacteriemia.

Cuando se trata de bacteriemias monomicrobianas (la mayoría de las veces), dichas pruebas de identificación suelen dar resultados comparables con los que aporta la identificación definitiva en más del 90% de los estudios.

El antibiograma preliminar permite disponer lo más rápido posible la sensibilidad del microorganismo.

Sin embargo, al no poder ajustar el inóculo según las normas establecidas, dicha sensibilidad se debe considerar presuntiva y debe ser confirmada con la realización del antibiograma a partir del germen aislado.

La correlación de este procedimiento con los resultados del antibiograma definitivo realizados a partir de colonias aisladas oscila entre 87 y 99,3% en diversos estudios.

El hallazgo de un hemocultivo positivo puede ser crítico por lo que el resultado obtenido de la tinción de Gram debe informarse inmediatamente por vía telefónica al médico responsable del enfermo y dejar registrado el día, la hora y el nombre de la persona que recibe el informe. En dicho informe se especificará la morfología y tinción de los microorganismos y el número de hemocultivos en los que se observan con referencia al total de los extraídos.

- Método Bifásico descrito por Castañeda:

La muestra de sangre se siembra en un frasco con un medio bifásico compuesto de una fase sólida y otra líquida.

Al inclinar el frasco, el medio líquido cubre totalmente el medio sólido, realizando un subcultivo sin necesidad de abrir la botella.

Con este procedimiento la detección de bacterias y hongos mejora y es más precoz que con el método convencional, pero tiene el inconveniente de no permitir un adecuado aislamiento de anaerobios, ya que deberá abrirse la botella para la recolección de los microorganismos que han desarrollado en la fase sólida.

Por ello, es necesario incluir un frasco de hemocultivo líquido que garantice el aislamiento de anaerobios.

- Método de Lisis-filtración:

En este método, se lisan las células sanguíneas y luego se procede a filtrar la sangre para retener las bacterias.

El filtro utilizado, o fragmentos del mismo, se siembra en distintos medios de cultivo.

Este método, de buen rendimiento, requiere un elevado tiempo de procesamiento en el laboratorio por lo que no se utiliza rutinariamente.

- Método de Lisis-centrifugación:

El método de lisis-centrifugación es la base del sistema Isolator.

Consiste en un tubo que contiene saponina como agente lisante, polipropilenglicol como agente antiespumante, PSS y EDTA como anticoagulantes y un líquido fluoroquímico inerte.

La muestra de sangre se mezcla con el contenido del tubo para lisar las células sanguíneas.

A continuación, para separar los microorganismos y los elementos sanguíneos, se centrifuga el tubo a 3.000 rpm durante 30 minutos.

El sobrenadante se desecha y se siembra el sedimento en distintos medios de cultivo.

Este método detecta con mayor rapidez la presencia de levaduras que cualquier otro sistema.

Sus mayores inconvenientes derivan de la necesidad de procesar cada muestra individualmente y dentro de los 30 minutos posteriores a su extracción, su laborioso manejo, la alta incidencia de contaminaciones que genera y su costo.

- Método Manométrico:

El método manométrico, empleado por el sistema Signal, consta de una botella con caldo de cultivo a la que, una vez que se inocula la sangre, se le acopla una pequeña cámara con una aguja que llega hasta el fondo del medio líquido.

La producción de gas durante el crecimiento bacteriano provoca un aumento de la presión dentro de la botella que desplaza el medio de cultivo líquido a través de la aguja introduciéndose dentro de la mencionada cámara.

La presencia de medio de cultivo en la cámara indica crecimiento bacteriano.

Su principal inconveniente son los falsos positivos que produce.

- Métodos automatizados

Existen diversos métodos: radiométricos y no radiométricos, y sistemas automáticos de monitorización continúa.

El Bactec 460, radiométrico, fue el primer sistema comercial de hemocultivos automático. Utiliza sustratos marcados con ^{14}C que al ser metabolizado por los microorganismos libera $^{14}\text{CO}_2$ al medio, que difunde a la atmósfera del frasco. En esta atmósfera se mide periódicamente.

camente el nivel de $^{14}\text{CO}_2$ y se expresa como un índice de crecimiento cuando se compara con los niveles de CO_2 en frascos de control.

Los sistemas Bactec NR-660y NR-730, no radiométricos, detectan el CO_2 por espectrometría de infrarrojos.

Los sistemas automáticos de monitorización continúa se basan en la detección de la producción de CO_2 por los microorganismos. Los datos obtenidos en cada lectura se transmiten a una computadora que analiza cuándo se produce crecimiento bacteriano, a la vez que minimiza el número de falsos positivos y falsos negativos.

El Bactec-9240 es un sistema totalmente automático, no invasor, donde el CO_2 producido por el metabolismo bacteriano reacciona con un material fluorescente situado en el fondo del frasco del hemocultivo, lo que modula la cantidad de luz que es absorbida por un sensor. Los fotosensores miden el nivel de fluorescencia, que se corresponde con la cantidad de CO_2 producida por el microorganismo.

El BacT/Alert detecta el aumento y/o nivel total de CO_2 producido por el crecimiento microbiano utilizando un sensor colorimétrico interno pegado al fondo de los frascos. A medida que cambia el color del sensor, la cantidad de luz reflejada se incrementa y es cuantificada como un aumento del voltaje.

El sistema Vital difiere de los anteriores en que incorpora un indicador fluorescente en el medio de cultivo. Como consecuencia del metabolismo microbiano se producen cambios en el pH, en el potencial redox o en el nivel de CO_2 que provocan una disminución de la fluorescencia del indicador.

Recomendaciones respecto de los métodos de diagnóstico de las bacteriemias

Tener en cuenta que:

- Un hemocultivo puede ser positivo sin que ello represente un episodio verdadero de bacteriemia, ya que puede haberse contaminado la muestra durante la extracción o su procesamiento.
- La distinción entre la verdadera bacteriemia y la falsa bacteriemia por contaminación es un aspecto trascendental para el paciente.
- Uno de los datos orientativos más importante lo constituye el tipo de microorganismos aislados.
- SA, *E. coli* y otras enterobacterias, *P. aeruginosa* y *S. pneumoniae* son responsables de bacteriemias verdaderas en más del 90% de los casos. Mientras que, los microorganismos que forman parte de la flora habitual como los SCN, *Streptococcus* del grupo *viridans*, *Corynebacterium* spp., *Propionibacterium acnes*, *Bacillus* spp. y algunas especies de *Clostridium*, en conjunto, suponen menos del 5% de las bacteriemias verdaderas.
- Es por ello que es preciso recurrir al número de hemocultivos en que se reitera el aislado y en este sentido, sin que el dato sea definitivo, es indudable que la reiteración de idéntica bacteria en más de una extracción, aumenta la probabilidad de que se trate de una bacteriemia verdadera.
- En el caso de la endocarditis, la bacteriemia es continua y si un cultivo es positivo todos deberían serlo también.
- También es de ayuda para la interpretación, la existencia de cuerpos extraños o focos infecciosos de los que se haya aislado idéntico microorganismo que en la sangre.

- Para establecer con seguridad el significado de los cultivos positivos, es necesario que el microbiólogo valore conjuntamente con el clínico los resultados obtenidos.

Infecciones asociadas a hemodiálisis y diálisis peritoneal

Las infecciones asociadas a la diálisis peritoneal y a la hemodiálisis, técnicas éstas de utilidad en pacientes con diversos grados de enfermedad renal, son la segunda causa de mortalidad en estos pacientes, después de la enfermedad cardiovascular.

La **hemodiálisis** es el método más común para tratar la insuficiencia renal avanzada y permanente (Figura 8).

En la hemodiálisis, la sangre de una arteria del brazo pasa a través de un catéter al dializador, también conocido como riñón artificial.

El dializador filtra la sangre retirando el exceso de agua y los productos de desecho.

Luego, la sangre filtrada sale del dializador por otro catéter colocado en una vena cercana del mismo brazo.

Si la hemodiálisis se realiza como medida temporal, el catéter se introduce en una vena del cuello o debajo de la clavícula, para uso transitorio.

La inserción de catéteres en pacientes que deben someterse a hemodiálisis tiene por finalidad lograr un rápido acceso a la circulación aportando un rápido flujo de sangre extracorpórea.

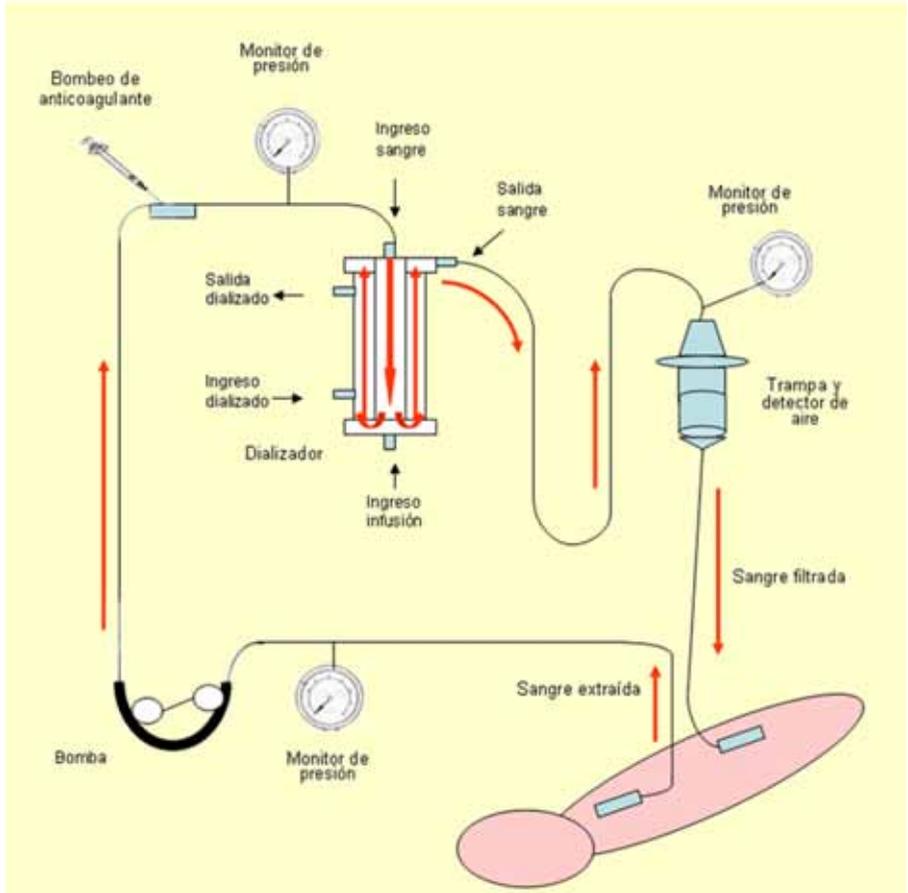


Figura 8

La hemodiálisis permite un cambio rápido en la composición de los solutos plasmáticos y una eliminación del exceso de agua corporal con mayor rapidez que la diálisis peritoneal y las terapias lentas continuas.

Entre las vías de infección más frecuentes se reconocen a:

- la migración de microorganismos habitantes de la piel hasta el lugar donde se insertó el catéter.
- la contaminación producida en el conector.

- la migración de microorganismos desde un sitio remoto, vía hematológica.
- contaminación de las soluciones a usarse, vía ésta ocasional.

La complicación más frecuente asociada a infecciones es la infección vascular, la que determinará la permanencia y vida útil del acceso vascular- es la primera causa de morbilidad y la segunda causa de mortalidad en estos pacientes sometidos a hemodiálisis.

Las infecciones del acceso vascular por lo comentado antes, pueden darse:

- como infección local: ya sea en el sitio de inserción del catéter o por colonización o infección del túnel.
- como bacteriemia/sepsis relacionada al acceso vascular

La vía de infección más frecuente es la colonización endoluminal que se produce a través de las conexiones externas por manipulación (26%).

La colonización extraluminal se produce por la migración de microorganismos desde la piel a través del trayecto cutáneo de fibrina alrededor del catéter.

Ocasionalmente, puede producirse la infección por vía hematológica desde un foco distal.

La infección del acceso vascular se complica frecuentemente con:

- endocarditis bacteriana, con elevada mortalidad, producida por bacterias grampositivas
- embolias sépticas pulmonares, cuadros de severidad
- osteomielitis
- artritis séptica

Otro tipo de infección que resulta en cuadros severos en estos pacientes, por el daño renal previo, es la infección urinaria.

Infecciones como la intraabdominal, la respiratoria (por los mecanismos de defensas alterados en las vías de conducción, entre otros mecanismos), la tuberculosis (en especial la extrapulmonar, con una incidencia 10 veces mayor que en la población en general) son infecciones de aparición predecible y que requieren atención y tratamiento adecuado en estos pacientes.

La mortalidad por infección es más frecuente en esta población que en la población general.

Los factores que aumentan el riesgo de esta mortalidad, entre otros:

- tiempo prolongado de tratamiento en diálisis.
- asociaciones mórbidas subyacentes como la diabetes
- anemia grave
- desnutrición
- edad avanzada de pacientes.

Los factores que aumentan el riesgo de morbilidad, entre otros:

- inmunidad humoral y celular disminuida,
- piel alterada por depósitos de urea y calcio
- mucosas alteradas en pH y composición química
- trastornos vías respiratorias
- trastornos vías urinarias (flujos y mucosas)

- trastornos derivados del acceso vascular (rotura de la integridad cutánea- catéteres temporales o permanentes) y de los injertos (cuerpos extraños).

Es de destacar que la fiebre no siempre traduce infección y la infección no todas las veces se manifiesta con fiebre.

En la **diálisis peritoneal**, se utiliza el peritoneo para eliminar los desechos que se encuentran en la sangre el que actúa como un filtro permeable (Figura 9).

El líquido se infunde a través de un catéter que penetra a través de la pared abdominal hasta el espacio peritoneal.

Dicho líquido debe permanecer en el abdomen durante un tiempo suficiente para permitir que las materias de desecho provenientes del flujo sanguíneo pasen lentamente hacia él. Luego se drena el fluido, se desecha y se reemplaza con otro nuevo.

La diálisis peritoneal puede ser suministrada de modo continuo, por lo que permite que los cambios en los solutos sanguíneos y en el agua corporal se realicen de un modo gradual.

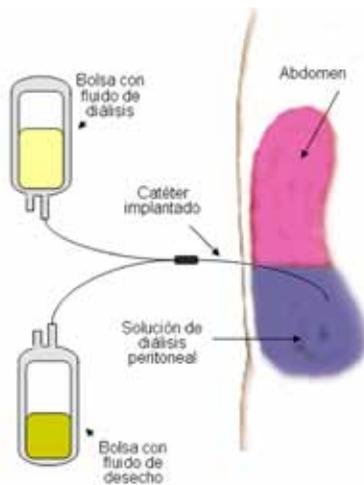


Figura 9

El éxito de cualquier técnica de diálisis, a largo plazo, reside fundamentalmente en disponer de un acceso permanente y seguro.

Actualmente, el catéter diseñado por Henry Tenckhoff en 1968 es el más ampliamente utilizado.

El catéter de Tenckhoff, es una prótesis similar a un tubo redondo, comúnmente de silicona.

La silicona, como el poliuretano, promueve el desarrollo del epitelio escamoso en el túnel subcutáneo próximo al catéter y en el orificio de salida y dentro de la pared abdominal, aumentando la resistencia a la penetración de microorganismos desde los tejidos vecinos hacia el orificio de salida cutánea y de entrada del catéter peritoneal.

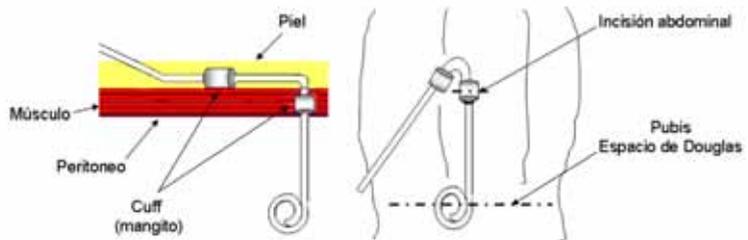
El catéter consta de 3 segmentos bien definidos.

Una porción **intraparietal** con perforaciones para facilitar el paso del líquido de diálisis del exterior a la cavidad peritoneal y viceversa.

La siguiente porción es **intraparietal**, tiene uno o dos manguitos ó cuff de Dacron, estos provocan una respuesta inflamatoria que progresa, permitiendo el crecimiento del tejido fibroso y de granulación favoreciendo la fijación del catéter.

La porción que se observa a partir del orificio de salida es la porción **externa**, donde se pone un conector para colocar el prolongador, apropiado al sistema que se va a utilizar.

Figura 10. Catéter de Tenckhoff. Ubicación del catéter en el abdomen. (Adaptado de Campos Stöwas J., y col. Rev. de Cir. Infantil (2002); 12 (3):181-184).



La diálisis peritoneal es una técnica que, a pesar de sus ventajas, tiene muchas complicaciones como la peritonitis o las infecciones relacionadas al catéter. Estas últimas (infección de la inserción, infección del túnel, infección de la esponjilla externa), mantienen marcada influencia en la morbilidad del paciente.

Menos frecuentes son la obstrucción, la filtración, la migración de uno de los cuff, las hernias, la malfunción y las rupturas.

De las infecciones asociadas a la diálisis peritoneal (DP), la peritonitis es el principal riesgo de morbilidad. El pronóstico en estos pacientes no es siempre desfavorable.

La peritonitis es una infección del peritoneo usualmente causada por bacterias que penetran a través del catéter. Es de fácil reconocimiento por la turbidez del líquido en la bolsa. Dolor y fiebre no siempre están presentes.

Las vías más importantes de contaminación peritoneal en DP son intraluminal y periluminal:

- contaminación del conector
- infección del sitio de salida o a lo largo del túnel subcutáneo
- migración transmural de microorganismos que colonizan el tracto gastrointestinal, los que pueden acceder a la cavidad peritoneal, migrando a través de la pared intestinal intacta luego de que soluciones hipertónicas rieguen el peritoneo.

Las bacterias en general provienen de la manipulación del conector de la bolsa y el catéter.

El origen de la infección, parece ser, la contaminación del catéter por la propia flora de la piel del paciente.

Esta contaminación puede deberse a:

- una técnica inadecuada por desconocimiento para realizar el procedimiento de diálisis (paciente y personal médico)
- fallas en la técnica de colocación y recolocación de catéter
- tiempo no oportuno de inicio de tratamiento
- estado nutricional deficiente del paciente que repercute en los mecanismos de defensa inmunológicos de la cavidad peritoneal
- estado de portador nasal de SA
- inoportuna o inadecuada selección del paciente para una terapia de DP

Cuando se presenta una peritonitis polimicrobiana con microorganismos fecales, seguramente estamos ante perforación del intestino, como una complicación de la manipulación del catéter al ser colocado, lo que requiere de abordaje quirúrgico.

También los portadores nasales de SA, sufren peritonitis por dicho microorganismo.

Dada la elevada tasa de portadores de SA en pacientes hemodializados (30-60%), se observa una proporción más elevada de infecciones por este microorganismo respecto a otros grupos de pacientes.

También, en pacientes con diálisis peritoneal, más del 50% de las infecciones producidas por SA se producen en los portadores nasales

Tanto en las infecciones asociadas a hemodiálisis y a DP los cocos gram-positivos: SCN (*S. epidermidis*, fundamentalmente), SA, EVR, *Streptococcus* spp.; y bacilos gramnegativos y difteroides, son los más frecuentes agentes bacterianos responsables.

En pacientes pediátricos, los enterococos son responsables del 37-38% de las infecciones.

Desde la emergencia del enterococo vancomicina resistente (EVR) se recomienda evitar el tratamiento empírico con vancomicina, en estos pacientes.

El aislamiento de bacilos gramnegativos u hongos es menos frecuente y en general está relacionado a contaminación extrínseca.

Bacterias gramnegativas como *P. aeruginosa*, *E. coli* y *K. pneumoniae*, son causales de peritonitis en el 5-7% de los casos.

La peritonitis fúngica es infrecuente, pero no rara, en pacientes que han recibido múltiples tratamientos antimicrobianos.

Es importante conocer la etiología de la peritonitis ya que las causadas por organismos gramnegativos y hongos se asocian a un pronóstico desfavorable.

Contrariamente a lo que ocurre en otras infecciones intraabdominales, los hemocultivos, no suelen ser positivos.

Las defensas peritoneales disminuidas, son aquí relevantes para el riesgo de la peritonitis en estos pacientes sometidos a DP.

Niveles disminuidos de IgG y C3 del líquido de diálisis peritoneal, su bajo pH y osmolaridad elevada (que altera función de PMN y llegada de antimicrobianos), contribuyen a la disminución de las defensas.

El mejor tratamiento es la prevención de la infección del catéter y por lo tanto de la peritonitis infecciosa.

▪ Diagnóstico microbiológico de las IRC en pacientes en diálisis

Recomendaciones para catéteres de hemodiálisis

Las guías clínicas más aceptadas en la actualidad, *Dialysis Outcome Quality Initiative* (DOQI), desarrolladas por la National Kidney Foundation establecen categorías diagnósticas y el tratamiento para diferentes tipos de infecciones relacionadas al catéter de hemodiálisis, pero no establecen un método diagnóstico preferido basado en la evidencia.

No es redundante resaltar la utilidad de la relación microbiólogo- nefrólogo, para un diagnóstico adecuado y oportuno en estas infecciones asociadas a estos dispositivos.

Para diagnosticar las infecciones relacionadas a catéteres de hemodiálisis, se utilizan las técnicas descritas, tanto si se remueve o no el catéter.

Es importante destacar que, si es necesaria la remoción del catéter, cualquier técnica que se utilice, aún la más sensible, solo da información retrospectiva.

Ante la sospecha de infección asociada a los accesos vasculares y lo que se desea es preservar el catéter (por costos y probables complicaciones derivadas de una nueva colocación) se debe trabajar con metodología adecuada sin removerlo.

Los métodos que se utilizan, sin remoción del catéter, se basan en que si la línea central es la causa de la bacteriemia, es predecible que una elevada concentración de microorganismos se encuentre en las muestras de sangre extraídas del catéter infectado.

Recordar que en este caso, los cultivos de sangre (hemocultivos de sangre periférica y retrocultivos) deben ser cuantitativos.

En infecciones relacionadas a catéteres de hemodiálisis, las muestras de retrocultivo se deben tomar tanto de la rama arterial como de la rama venosa de los accesos vasculares.

Para definir una bacteriemia relacionada al acceso vascular, los recuentos de colonias en los retrocultivos (arterial y/o venoso) deben ser ≥ 4 veces respecto de los recuentos obtenidos en los hemocultivos en sangre periférica. Sensibilidad 78-94%- Especificidad 99-100%(Cumitech 1C, Blood Cultures IV, 2005).

Si se utilizan métodos de cultivo automatizados para la sangre, el tiempo diferencial de positividad de los retrocultivos mencionados debe ser ≥ 2 horas respecto a los hemocultivos periféricos. Sensibilidad 81% - Especificidad 92% para catéteres de corto tiempo. Sensibilidad 93% - Especificidad 75% para catéteres de largo tiempo (Raad & col, Ann. Intern. Med. 2004)

Si no se obtienen hemocultivos periféricos, el diagnóstico de infección relacionada al catéter de hemodiálisis puede ser confirmado con el hallazgo de ≥ 100 UFC de bacterias/ml ó ≥ 25 UFC de hongos/ml (Cumitech 1C, Blood Cultures IV, 2005).

Un resultado positivo en los retrocultivos y negativo en los hemocultivos de sangre periférica, indica colonización del acceso vascular.

Cuando la infección del catéter sea por SA, deberá realizarse siempre el cultivo de las fosas nasales a fin de determinar si existe o no portación de dicho germen e iniciar el tratamiento de descolonización.

Diagnóstico microbiológico

Como se comentó, la peritonitis es la mayor causa de morbilidad, mortalidad y falla de la técnica en pacientes con diálisis peritoneal.

La definición de peritonitis incluye al menos dos de los siguientes criterios:

- dolor abdominal o sensibilidad anormal al tacto
- fluido de drenaje turbio, con un recuento de glóbulos blancos superior a $100/\text{mm}^3$ y al menos 50% de neutrófilos
- un cultivo positivo (y/o coloración de Gram) del líquido dializado.

Ante la sospecha de peritonitis se debe efectuar un examen citológico del líquido peritoneal, donde la presencia de 100 células/mm³ o más, con 50% o más de leucocitos PMN, apoya fuertemente el diagnóstico y amerita el inicio de tratamiento antimicrobiano empírico inmediato.

En caso de predominio de mononucleares, deberán considerarse otras causas.

La coloración de Gram del líquido dializado tiene muy baja sensibilidad (36%).

Por lo expuesto, es necesario un correcto estudio microbiológico para establecer el agente etiológico y para ajustar el tratamiento antibiótico empírico de acuerdo a la susceptibilidad del microorganismo recuperado.

Para ello se realiza el cultivo del fluido de drenaje, estudiando microbiológicamente la “bolsa” que contiene el dializado.

Estudio microbiológico de la “bolsa” de diálisis

La bolsa contiene el líquido filtrado en la cavidad abdominal. La presencia de alrededor de 2 litros del mismo disminuye el número de microorganismos por dilución por lo que los métodos convencionales no los detectan.

Por ello es necesario concentrar el líquido antes de cultivarlo.

Existen diversos métodos que utilizan membranas filtrantes, centrifugación, transvasado del volumen total del dializado a bolsas que contienen medios de cultivo concentrado.

Es deseable que el método elegido sea el que resulte más confiable para poder acceder a diagnósticos con mayor grado de certeza y celeridad.

Se debe tener en cuenta que:

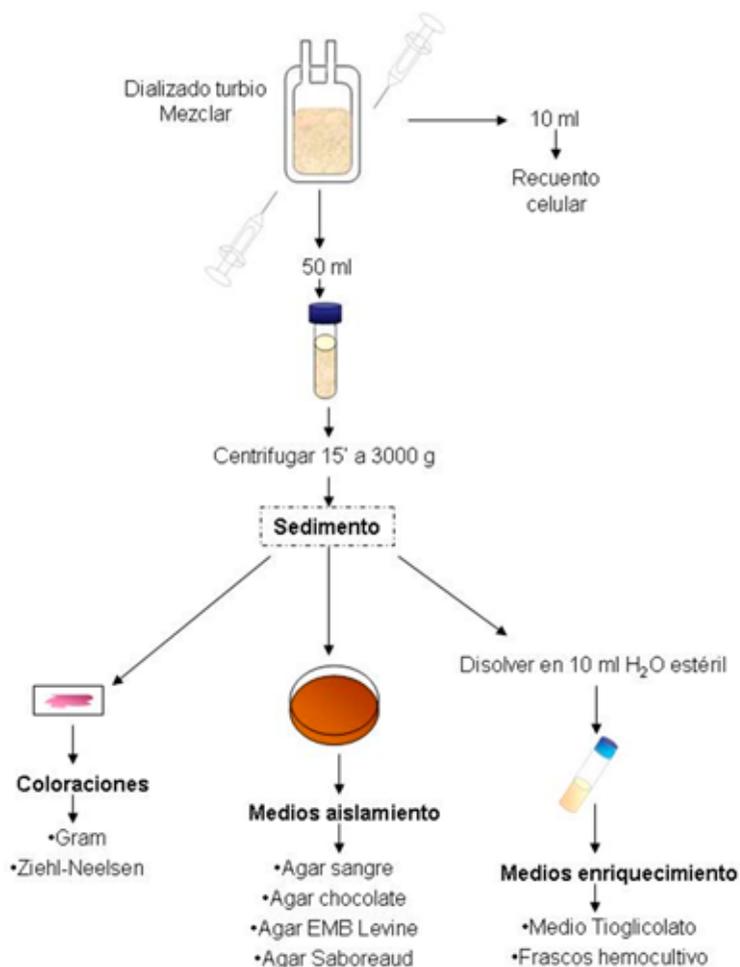
- la primera bolsa turbia es la mejor muestra y debe ser llevada al laboratorio cuanto antes, herméticamente cerrada.

- el líquido de la bolsa debe concentrarse a fin de maximizar la recuperación de microorganismos.
- la identificación y las pruebas de sensibilidad de los microorganismos recuperados deben realizarse lo antes posible a fin de lograr el diagnóstico etiológico y ajustar el tratamiento antimicrobiano.

Procedimiento (Esquema 2)

- Mezclar el contenido de la bolsa.
- Aspirar 10 ml de líquido peritoneal y realizar el recuento de células (valorar cantidad de leucocitos/mm³ y predominio) de igual manera que en un hemograma, en forma manual con cámara de Neuburger ó en forma automatizada
- Con técnica aséptica aspirar, de la bolsa, 50 ml del líquido peritoneal.
- Centrifugar toda la muestra a 3000 rpm. durante 15 minutos.
- Depositar una gota del sedimento en portaobjetos limpios para efectuar coloración de Gram y de Ziehl-Neelsen.
- Sembrar una gota del sedimento en placas de agar sangre, agar chocolate, agar Saboreaud y agar EMB Levine. La baja sensibilidad de la coloración de Gram hace necesario el uso de variados medios de cultivos.
- Con aguja y jeringa estéril aspirar parte del sedimento, disolverlo en 10 ml de agua destilada estéril e inocular dos frasco de hemocultivo y un tubo de tioglicolato pre-reducido.
- Incubar los medios líquidos y sólidos a 35°C. Esperar 15 días sin desarrollo para dar un informe negativo.
- Conservar el resto del sedimento en heladera a 4°C.

Esquema 2 Estudio Microbiológico de la Bolsa de Diálisis Peritoneal



Conservar el resto del dializado en heladera
Esperar 15 días para dar un informe negativo.

- En situaciones de que no se pueda procesar la muestra inmediatamente:
- Tomar 10 ml de líquido peritoneal y sembrar en frascos de hemocultivo
- Guardar la bolsa en heladera a 4°C

Ante la presencia de peritonitis clínicas con cultivos negativos, “peritonitis asépticas”, debe considerarse:

- baja sensibilidad del método de cultivo utilizado
- volumen cultivado muy pequeño
- microorganismos con requerimientos de cultivo especiales (micobacterias)
- tratamiento antibiótico previo
- los signos y síntomas no son debidos a agentes infecciosos.

Es importante determinar en cada laboratorio la sensibilidad de los métodos utilizados, ya que si ésta es menor al 85% la metodología debe ser revisada.

La sensibilidad de cultivos positivos en las peritonitis clínicas debería ser superior al 90%.

Para calcular la sensibilidad se utiliza la siguiente fórmula:

$$\frac{N^{\circ} \text{ de cultivos positivos} \times 100}{N^{\circ} \text{ de episodios de peritonitis clínicas}} = \text{Sensibilidad}$$

Como mencionamos, la infección del sitio de salida o a lo largo del túnel subcutáneo es una de las complicaciones asociadas a la DP.

La infección del catéter, tanto en la porción tunelizada como en el orificio de salida, casi siempre es de origen periluminal, relacionada con:

- la flora del paciente
- la manipulación del catéter por el personal
- el uso de desinfectantes contaminados
- la contaminación ambiental

La infección relacionada al orificio de salida se presenta con enrojecimiento o induración de la piel en el sitio de inserción del catéter, drenaje purulento desde el orificio de salida y dolor, edema o eritema, aunque estos últimos pueden estar ausentes.

En la infección relacionada al túnel subcutáneo se observa edema, eritema y dolor en el trayecto subcutáneo del catéter, secreción (intermitente o crónica) de aspecto purulento, sanguinolento o viscoso, pudiendo asociarse o no a infección del orificio.

El diagnóstico se realiza cultivando la secreción.

Es importante recordar que un cultivo positivo de un orificio normal, que no presenta signos de infección, indica colonización **no** infección.

Por lo que **no** deben tomarse muestras de orificios que no presenten secreción o que presenten secreción clara pero sin signos ni síntomas.

La recolección rutinaria de hemocultivos es innecesaria, dado que usualmente son negativos ya que la infección se limita a la cavidad abdominal.

Es importante obtener la **primera** bolsa turbia para realizar los cultivos.

No se recomienda repetirlos si el recuento de células desciende en forma adecuada y el paciente presenta una evolución favorable.

Si el recuento de células, luego de tres días de tratamiento antimicrobiano, se mantiene sin modificaciones o asciende, se debe solicitar una nueva muestra para cultivo y plantearse la modificación del tratamiento instituido.

La prevención de estas infecciones es extremadamente importante y es el mejor tratamiento de las mismas.

Los pacientes deben recibir entrenamiento en el inicio de la DP a fin de cuidar el sitio de salida del catéter fundamentalmente. Técnicas de higiene y protección del trazo del catéter bajo la piel disminuyen marcadamente la posibilidad de infección.

Infecciones asociadas a lentes intraoculares implantados

En la actualidad, entre los dispositivos protésicos cuyo uso ha aumentado considerablemente, se encuentran los implantes oculares utilizados para el tratamiento de las cataratas.

Las cataratas son consideradas una de las principales causas de la disminución de la agudeza visual entre los pacientes oftalmológicos y es la primera causa de ceguera en los países no industrializados.

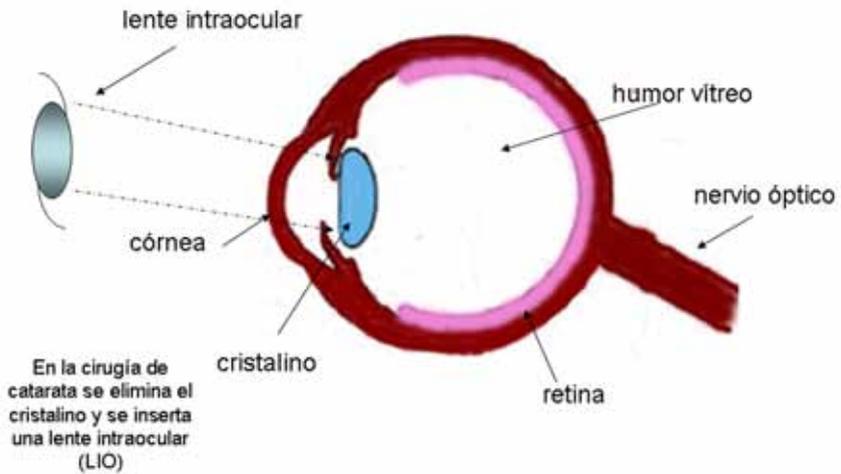
La cirugía de las cataratas consiste en la sustitución del cristalino opaco por una lente intraocular (LIO) artificial, tras romper y aspirar la catarata mediante un procedimiento de facoemulsificación por ultrasonidos (Figura 11).

A pesar de la simplificación y estandarización de la técnica con implante de una LIO para la corrección de la catarata, la cirugía puede presentar complicaciones a corto y largo plazo.

La implantación de una LIO incrementa la inflamación postquirúrgica, ya que actúa como un cuerpo extraño.

Las manipulaciones intraoculares, técnicas muchas veces con descuido en la esterilización, y la irritación crónica del iris y el cuerpo ciliar también contribuyen a esta inflamación.

Figura 11.
(Adaptado de
Dr. Federico
Nicola.
Infecciones
relacionadas
a lentes
intraoculares).



Por otra parte, las fuerzas electroestáticas sobre la LIO pueden atraer microorganismos desde los tejidos perioculares durante la inserción.

La endoftalmitis es la forma más severa de infección ocular, no sólo por su florida presentación clínica sino por sus devastadoras consecuencias.

La endoftalmitis es una respuesta inflamatoria de los tejidos oculares. Incluye a todos los procesos inflamatorios originados por una infección, que compromete las capas internas parietales endoesclerales del globo ocular y sus cavidades: cámaras anterior y posterior y el cuerpo vítreo. La etiología bacteriana es la más frecuente.

Según sea el acceso de los microorganismos se clasifican en:

- endógenas, aquellas producidas por diseminación hematógena desde un foco a distancia o por extensión de un foco infeccioso desde tejidos adyacentes, es decir sin puerta de entrada, ni solución de continuidad.
- exógenas, producidas por la llegada de microorganismos como consecuencia de un acto quirúrgico, traumatismo o absceso corneal, fundamentalmente

La endoftalmitis postoperatoria (EP) (70% de todas las endoftalmitis), aparecida después de una cirugía de cataratas es uno de los riesgos más grave de esta cirugía y es la endoftalmitis de aparición más frecuente, pudiendo llevar a la ceguera o a la pérdida del globo ocular, por lo que exige un rápido diagnóstico con tratamiento inmediato.

El ingreso de los agentes infecciosos en la cavidad vítrea es un pre-requisito para que se desarrolle la endoftalmitis, siendo la propia flora bacteriana conjuntival y periocular del paciente la principal fuente de dichos agentes infecciosos.

La inflamación intraocular, por microorganismos que colonizan el segmento anterior y posterior del globo ocular, es el comienzo del daño.

La aparición de pus en la cámara anterior del ojo (inflamación del humor vítreo y acuoso), edema de la córnea, una respuesta pupilar alterada, disminución de la agudeza visual y dolor, son las manifestaciones clínicas que la caracterizan.

No obstante tratarse de una patología de baja incidencia, (1 caso cada 700 cirugías), es una infección ocular severa, no solo por el curso de la enfermedad, sino por las devastadoras secuelas que puede dejar, consecuencias muchas veces, de la demora en el diagnóstico y en la instauración de un tratamiento adecuado.

En la EP, los factores de riesgo son variados.

Dependientes del huésped:

- blefaritis - conjuntivitis - ojo seco-, entre los más importantes

Dependientes del acto quirúrgico:

- cuidados pre-operatorios- cuidados intra-operatorios- cuidados post-operatorios
- pérdida de humor vítreo.

El uso de soluciones o instrumental contaminado y el personal del equipo quirúrgico, pueden ser fuentes de infección.

A su vez las EP se pueden clasificar en tempranas y tardías (agudas y crónicas) dependiendo del tiempo transcurrido desde el acto quirúrgico del implante.

Las EP agudas ocurren en las primeras seis semanas luego de la cirugía intraocular, en la mayor parte de los casos (88%), en especial entre el tercer y séptimo día postoperatorio.

En las infecciones agudas todas las estructuras internas del ojo sufren una intensa inflamación, con marcado dolor ocular.

En general, los microorganismos involucrados en las infecciones tempranas proceden de la flora conjuntival o palpebral del paciente, las que contaminan el humor acuoso durante el acto quirúrgico. Lentes o soluciones contaminadas pueden ser otra fuente de infección.

No obstante la alta probabilidad de contaminación, la endoftalmitis postcirugía de cataratas no es una infección frecuente.

Las bacterias más involucradas en las infecciones post-quirúrgicas agudas son SCN (en especial *Staphylococcus epidermidis*), SA, *Streptococcus* spp. y los enterococos (80% de los casos).

S. epidermidis es considerado, en la actualidad, el principal agente infeccioso de las EP agudas confirmadas bacteriológicamente.

Además de estas bacterias grampositivas, de elevada incidencia, los bacilos gramnegativos (4-14%) y levaduras y filamentos, se asocian, con menor significado.

P. aeruginosa es el microorganismo más comúnmente detectado, seguido de *Proteus* spp., *Haemophilus influenzae*, *K. pneumoniae*, *E. coli* y especies de *Enterobacter*.

A diferencia de las EP agudas, las EP crónicas aparecen tras un período más o menos prolongado de tiempo después del implante, en especial si los agentes etiológicos involucrados son de baja virulencia o de desarrollo lento. Son de aparición menos frecuente que las agudas.

Un signo clásico, que puede o no estar presente, es la constatación de microplacas blanquecinas sobre la cápsula posterior del cristalino o sobre la LIO implantada. Estas microplacas representan la formación de biofilms con microorganismos adheridos en su superficie.

Estos biofilms sobre los implantes oculares, según evidencias preliminares, parecen tener un papel coadyuvante de importancia en muchas de estas enfermedades oculares al favorecer la supervivencia de microorganismos como las clamidias, los estafilococos y otros que contaminan no solo las LIO sino también las soluciones limpiadoras

En general, las endoftalmitis post quirúrgicas, en especial las crónicas, se asocian a la formación de biofilms, secuestro de microorganismos en el saco capsular y escasa respuesta al tratamiento antimicrobiano y por lo tanto a su erradicación. Por ello, puede presentarse una respuesta inflamatoria persistente en el entorno del biofilm.

Recordemos que una lente intraocular es una superficie abiótica, colocada en una interfaz acuosa, lo que posibilita la colonización de bacterias, las que al anidar sobre ella, tienen la posibilidad de, al formar la biocapa o biofilm, “resistir al clareamiento intraocular de la cámara anterior”.

Esto ocurre, con diversa magnitud, con los diferentes biomateriales con que se construyen estas lentes, independientemente de la capacidad de las bacterias en formar biocapas, del inóculo infectante, de la virulencia de las mismas, de factores inherentes al huésped y al acto pre, intra y post quirúrgico, comentados más arriba.

En las EP crónicas, el diagnóstico microbiológico es negativo en la mayor parte de los casos de sospecha.

Además de los SCN, principales bacterias asociadas a la EP crónicas, los microorganismos de baja virulencia como *Propionibacterium acnes*, (ba-

cilos grampositivos anaerobios), de dificultosa recuperación en cultivos habituales, colaboran en la cronicidad. Estas bacterias pueden provenir de microabscesos formados en la herida operatoria, dehiscencia de la sutura o del acto quirúrgico.

Actinomyces israelii, *Corynebacterium* spp., hongos filamentosos (*Aspergillus* spp., *Fusarium* spp.) o levaduras (*Candida* spp.) son agentes infecciosos más raramente encontrados.

La endoftalmitis fúngica usualmente se presenta entre la 2º y 4º semanas, o más tarde, después de la cirugía, con muy escasos signos y síntomas.

▪ Diagnóstico microbiológico de las infecciones relacionadas a prótesis oculares

Toma y transporte de la muestra

La toma de muestra para estudios microbiológicos, antes del inicio del tratamiento antibiótico es una de las recomendaciones más importante a tener en cuenta.

La toma de muestra la realiza el oftalmólogo.

Es importante tener en cuenta el volumen de material que puede obtenerse el que suele ser muy pequeño (aproximadamente 0,1 ml de humor acuoso y hasta 0,5 ml de humor vítreo).

Por lo tanto es necesario evitar la dilución, deshidratación o pérdida de la muestra.

Es fundamental la comunicación entre el oftalmólogo y el microbiólogo, ya que los datos clínicos permitirán seleccionar los medios de cultivo más apropiados y el reparto del escaso volumen de muestra que se recibirá en el laboratorio.

Las posibles muestras que pueden llegar al laboratorio son:

- Punción de cámara anterior : Humor acuoso
- Punción vítrea: Humor vítreo
- Material de vitrectomía
- Cápsula y/o membrana
- Lente intraocular

Se recomienda, inicialmente, la obtención de muestras de humor acuoso y humor vítreo a fin de establecer el diagnóstico microbiológico mediante el cultivo y los estudios de sensibilidad.

Las muestras de un tamaño entre 100-300 μ l son suficientes para la realización de cultivos microbiológicos convencionales.

En pacientes que serán sometidos a vitrectomía, se puede obtener mayor cantidad de muestra (hasta 500 μ l) antes del procedimiento quirúrgico.

En el caso de LIO, una vez extraída la lente, se la coloca en 0,5 ml de solución salina estéril y se remite al laboratorio.

Las muestras obtenidas (en jeringa con aguja insertada en un tapón de goma o caucho) deben ser transportadas de inmediato al laboratorio y procesadas en un período no mayor de 2 horas desde su extracción.

Una alternativa para el transporte y posterior cultivo del aspirado vítreo es la inoculación, directa tras la obtención, en viales de hemocultivo pediátricos a fin de evitar una dilución excesiva, ya que se trata de muestras con un escaso volumen.

De sospecharse una infección por anaerobios, las muestras deben procesarse en un plazo no superior a 1 hora si no son colocadas en un medio de transporte adecuado.

Procesamiento de las muestras

Examen directo:

Para ello, una gota de la muestra se deposita en un portaobjetos para realizar la coloración de Gram.

La coloración y el correspondiente informe deben ser realizados de inmediato, ya que muchas veces el cirujano se encuentra a la espera del resultado en el quirófano.

Destacamos: procesamiento rápido-informe inmediato-lo ideal trabajar al lado quirófano.

En la coloración de Gram se observará la presencia de respuesta inflamatoria y eventualmente de microorganismos o filamentos miceliales.

En general en las infecciones producidas por bacterias, que tienden a causar necrosis, se observará la presencia de polimorfonucleares en diversos estados de degeneración y de bacterias en la vecindad de los restos necróticos.

Sin embargo, la presencia de polimorfonucleares y ausencia de microorganismos, no descarta una infección bacteriana, en especial en pacientes con tratamiento antimicrobiano previo. En esta situación el cultivo es imprescindible.

En contraste, en las infecciones fúngicas, que tienden a formar microabscesos multifocales, la respuesta inflamatoria es a predominio de células mononucleares

Es necesario considerar que la sensibilidad de la tinción de Gram en las muestras vítreas es baja.

Siembra de las muestras

Las muestras deberán sembrarse en:

1. agar chocolate, incubado en atmósfera de CO₂ a 37°C
2. caldo tioglicolato pre-reducido enriquecido con hemina y vitamina K, incubado aeróbicamente a 37°C
3. agar Saboreaud, incubado a 25°C.

Si es posible se incorporarán medios para el estudio de anaerobios.

Para inocular los medios sólidos, 2 a 4 gotas de la muestra se depositan sobre el agar y el material luego se disemina en toda la placa con ayuda de un ansa estéril.

La inoculación en caldo tioglicolato se realiza con la ayuda de una aguja estéril en el fondo del tubo.

Si la muestra es muy escasa, se puede absorber una pequeña cantidad del caldo dentro de la jeringa y luego inocular la mezcla en el tioglicolato.

Algunos autores sugieren cultivar la muestra directamente en un frasco de hemocultivo. Luego de una incubación de 24 hs a 37°C, obtener una alícuota y procesarla según se ha descrito.

Otros sugieren, concentrar la muestra de humor vítreo mediante filtración con filtros estériles (poros de 0,22 µm) y cultivar el filtro o mediante centrifugación, ya que permite aumentar la sensibilidad del cultivo hasta en un 30-40%.

En caso de que la muestra sea la LIO, se la deposita rotándola primero en las placas y luego se la coloca en el caldo.

Algunos autores proponen agitar la LIO vigorosamente en vórtex en la solución salina de transporte durante al menos 10 minutos para permitir el desprendimiento de células y luego cultivar el medio líquido.

Si se reciben la cápsula o membranas, primero hay que deshacerlas con ayuda de mortero o tijera estériles antes de proceder a la siembra.

Los cultivos deben observarse diariamente durante al menos 2 semanas a fin de permitir la detección de organismos fastidiosos o de desarrollo lento.

Notas de interés para el Laboratorio

- Los cultivos resultan positivos en baja proporción (30-60%) ya que no toda endoftalmitis se debe a una infección verdadera.
- El tratamiento antimicrobiano previo (inyección intraocular o colirios tópicos) puede resultar perjudicial para la recuperación de microorganismos así como el bajo número de microorganismos infectantes por el escaso volumen de muestra que llega al laboratorio.
- A diferencia de otras muestras oculares, en las muestras intraoculares y biopsias todos los microorganismos aislados son significativos.
- Dado la importancia en las infecciones oculares de un adecuado tratamiento precoz, ante la detección de microorganismos bacterianos o estructuras fúngicas mediante el examen microscópico debe emitirse un informe preliminar de forma urgente.
- No deben admitirse muestras si han transcurrido más de 2 horas de la toma de las mismas.
- No debe realizarse investigación de anaerobios si ha transcurrido más de una hora desde la toma de la muestra o si ésta no se ha conservado en el adecuado medio de transporte.
- Un aspecto importante a considerar es el tratamiento antibiótico en la endoftalmitis, el cual va a influir en los antimicrobianos que se deberán ensayar en los estudios de sensibilidad.

- Por ello, se debe conocer que:
- Debido a la barrera hemato-ocular, el tratamiento sistémico no ofrece un aporte significativo.
- La aplicación tópica tampoco logra niveles adecuados en humor acuoso o vítreo.
- Los antibióticos inyectados en cámara anterior se eliminan rápidamente, no difundiendo adecuadamente a humor vítreo.
- El tratamiento primario consiste en la inyección intravítrea de antibiótico/s, pudiendo utilizarse inyecciones sub-conjuntivales como tratamiento adicional
- La elección del antibiótico a utilizar debe tener en cuenta no solo la actividad antibacteriana, sino también el riesgo de toxicidad a la retina.
- Los antibióticos más utilizados son: vancomicina, ceftazidima, ampicacina, gentamicina y cefalotina.
- Cuanto más temprano se inicie un tratamiento médico efectivo contra el microorganismo causal, mayores son las posibilidades de éxito del mismo.
- Una evolución virulenta o una demora en el tratamiento conlleva mayor riesgo de disminución de la agudeza visual, pérdida de la visión o del globo ocular.

Infecciones asociadas a prótesis óseas y articulares

En la actualidad, la implantación de una prótesis en diversas articulaciones ha llegado a ser un hecho habitual.

El objetivo de la implantación de una prótesis es la recuperación funcional de la articulación y la desaparición del dolor.

Sin embargo, como toda introducción de un cuerpo extraño en el organismo, no está exenta de complicaciones como fractura del hueso, rotura del implante, aflojamiento y principalmente infección.

Si bien las infecciones de prótesis articulares son de aparición infrecuente, las consecuencias que ello acarrea son catastróficas dado que las conductas a seguir, además de los frecuentes aseos quirúrgicos, incluyen tratamientos con antimicrobianos por largos períodos de tiempo y muchas veces el retiro del material protésico.

Por lo menos dos tercios de estas infecciones protésicas (IP) ocurren en el curso del primer año de realizado el implante.

La presencia de bacterias en una articulación, asociadas a signos de infección en curso, datos de laboratorio y de daño tisular, nos define una infección asociada a estas prótesis.

Además, la sola evidencia de colonización de la superficie de la prótesis es clave para asumir una infección protésica.

Como se comentó, las infecciones asociadas a prótesis articulares ocurren principalmente en el momento de su implantación (inoculación intraquirúrgica) o por bacteriemias post-quirúrgicas.

La superficie de las prótesis puede actuar como sustrato microbiano.

Está demostrado que las superficies de polimetilmetacrilato incrementan la probabilidad de la infección, ya sea por las características de dicha superficie como así también por una influencia negativa sobre la quimiotaxis y la fagocitosis, necesarias para enfrentarla.

Se ha demostrado que *Staphylococcus epidermidis* tiene capacidad para metabolizar algunos ésteres del cemento óseo, lo que posibilita mayor penetración.

La presencia de polimetilmetacrilato parece ser mucho más atractivo para *Staphylococcus epidermidis* que para SA.

Las prótesis de metal son más apropiadas para SA. Parece ser que la corrosión de la superficie del metal, contribuye a estabilizar y fortalecer la superficie de la biopelícula.

La formación de esta biopelícula es decisiva en estas infecciones.

De allí que se cree que el cemento de las prótesis, favorece las infecciones más que otras sustancias extrañas inertes, dado que la mayoría de las prótesis son cementadas. La infección se origina en la interfase hueso-cemento.

Otros factores de riesgo son el uso de corticoides, cirugías prolongadas, cicatrización tardía y focos de infecciones a distancia.

La diabetes, la artritis reumatoidea, la inmunodepresión, la edad avanzada, la psoriasis, la obesidad y la desnutrición hacen vulnerables a los pacientes a las infecciones de sus prótesis articulares.

El cuerpo extraño (implante) al facilitar la infección, posibilita que se produzca la misma aun con un inóculo bacteriano muy bajo y con microorganismos poco virulentos.

La infección es parcheada, causada por bacterias incluidas mayoritariamente en biopelículas (biofilm), por lo que a menudo los cultivos detectan sólo una parte de la población bacteriana residente en las biocapas. Dado que los microorganismos responsables pueden ser contaminantes habituales, se dificulta más aún su interpretación.

El biofilm, al actuar como barrera entre los gérmenes y el huésped, permite un desarrollo microbiano de difícil eliminación por su lento crecimiento y la falta de acceso para mecanismos inmunitarios y antibióticos por ausencia de vascularización.

Es importante recordar que en los estafilococos (SA y SCN) se presenta, con frecuencia incrementada en numerosas regiones geográficas, la resistencia a la meticilina (resistencia a todos los β -lactámicos y derivados), lo que limita el espectro de antimicrobianos a usar.

Coinciden los datos acerca de que la tasa anual de las IP tempranas (aquellas que aparecen en el primer año de la colocación de la prótesis) es de alrededor del 2%, y sólo una cifra del 0,06% corresponde a dicha tasa anual de infecciones tardías, (de aparición posterior a los 12 meses del implante).

Las IP tienen, en la actualidad, una incidencia aproximada, del 1% en las de cadera y del 2,5% en las de rodilla.

Las IP son un problema sanitario importante por la dificultad diagnóstica y terapéutica, así como un elevado gasto económico.

Las características particulares de estas infecciones están dadas por la presencia del biomaterial protésico y su interrelación con los tejidos del huésped y los microorganismos infectantes.

En la patogenia participan fundamentalmente los siguientes mecanismos:

- introducción del agente etiológico localmente a partir de la infección de la herida quirúrgica
- contaminación durante el acto quirúrgico, por implantación directa en un procedimiento diagnóstico o terapéutico.
- por la vía hematógena a partir de una bacteriemia de cualquier origen
- más raramente por infecciones quiescentes del hueso previas al implante, las que se reactivan

La osteomielitis local, con foco en una herida adyacente o por contaminación en el acto de colocación del implante, es sumamente de riesgo para la infección de la prótesis debido a la falta de cicatrización de los planos profundos.

El diagnóstico intraoperatorio de estas infecciones, que se realiza durante la revisión de una prótesis en el quirófano, (infección diagnosticada en una revisión de prótesis), llamada también cultivos intraoperatorios positivos (CIOP), es de importancia en un paciente que presenta un síntoma relevante como es el aflojamiento de la prótesis. La demostración del microorganismo involucrado es diagnóstico de importancia, en dos o más muestras, como la presencia de PMN, 5 a 10/cm. En estos casos la prótesis debe ser extraída además de instaurar soporte antimicrobiano.

La mayor parte de las IP (60% de los casos) ocurren en el acto quirúrgico a partir de la flora cutánea del propio paciente, el personal que interviene en la cirugía y del medio ambiente del quirófano. El tiempo quirúrgico también influye en el aumento de colonias bacterianas por lo que debe minimizarse, en lo posible

Aun controlando todas las variables antes descritas, el riesgo de infección es elevado, ya que la ausencia de riego sanguíneo del implante dificulta la acción defensiva del huésped, y el inóculo preciso para la infección en presencia de un cuerpo extraño, como ya fuera mencionado, es muy bajo, tanto como 100.000 veces menor.

La precocidad en el diagnóstico y tratamiento de la infección es determinante a la hora de conseguir curar la infección sin tener que retirar el material protésico.

Cuando la infección es temprana, infección posquirúrgica precoz (IPP), se manifiesta en el primer mes de la cirugía del implante.

Se trata de la infección de la herida operatoria y se debe con frecuencia a la infección del hematoma. Hay predominio de signos inflamatorios locales, con celulitis y secreción purulenta.

Se realiza en estos casos un desbridamiento quirúrgico amplio, con soporte antimicrobiano, pero con retención de la prótesis.

En estos pacientes el principal problema diagnóstico es diferenciar una infección superficial de una infección de la prótesis. Opinan los expertos que cualquier infección de la herida quirúrgica, puede involucrar a la prótesis.

Se considera infección tardía-infección crónica tardía (ICT), a aquella diagnosticada a partir del segundo mes de la cirugía. Puede manifestarse meses o años después (a pesar de su adquisición quirúrgica), debido al pequeño inóculo bacteriano y la baja virulencia de los microorganismos causales (tema revisado en **Las bacterias**).

Predomina la clínica ortopédica sobre los síntomas de infección. El aflojamiento de la prótesis con dolor nocturno y en reposo y el deterioro de la función articular, son los signos más destellantes.

El diagnóstico del mismo microorganismo en dos o más cultivos de líquido sinovial o tejido periprotésico o datos histopatológicos del mismo, sumados a líquido articular purulento o pus alrededor de la prótesis,

son criterios diagnósticos de infección, tema que se amplía al tratar el diagnóstico de laboratorio.

El retiro de la prótesis y la instauración de antimicrobianos por vía parenteral y por tiempos prolongados, es la conducta a seguir.

La infección hematógena, de presentación precoz o tardía, está asociada a bacteriemia documentada o por sospecha clínica. En las primeras semanas del postoperatorio, cuando existe un particular riesgo de bacteriemia, el diagnóstico puede confundirse con el de infección protésica precoz.

La infección hematógena, tiene idénticos signos y síntomas que la artritis en articulación no protésica y puede aparecer en cualquier momento.

La positividad de los hemocultivos y/o de la cavidad articular y la existencia de otro foco, hacen sospechar esta infección.

Tratamiento antimicrobiano con retención de la prótesis, si no se ha aflojado, es lo que corresponde.

Es de fundamental importancia el evitar la bacteriemia luego de la inserción del implante. El retirar lo antes posible catéteres y sondas, contribuye a ello.

También la cicatrización y reabsorción de los hematomas ayuda a evitar la colonización del dispositivo implantado.

Cuando estas condiciones se cumplen, se ha demostrado en modelos animales, que el inóculo necesario de SA, para infectar una prótesis vía hematógena, es el mismo que produce una artritis séptica en una articulación nativa (no protésica).

También las infecciones pueden resultar de una osteomielitis latente que se activó por la alteración tisular que ocurre en el acto quirúrgico de colocación del implante.

El 75% de los casos de IP son causados por cocos grampositivos, con gran predominio de los estafilococos (60%): SA (25%) y SCN (35%).

Los BGN, enterobacterias y *Pseudomonas aeruginosa* causan el 10-15% de las IP.

En los últimos años se han descrito con mayor frecuencia las infecciones debidas a *Streptococcus* spp y *E. faecalis* (10-15%), y *Propionibacterium acnes* (más del 5%), muchas veces relacionados a previas manipulaciones odontogénicas. *Mycobacterium tuberculosis* está también involucrado, aunque con menor frecuencia.

Más del 10% de las IP son infecciones polimicrobianas y en el 10-15% de los casos los cultivos son negativos.

SA y los BGN tienen un especial protagonismo en las infecciones posquirúrgicas precoces, mientras que en las posquirúrgicas tardías predominan microorganismos poco virulentos, como SCN y *P. acnes*.

En las infecciones hematógenas son frecuentes SA, *S. agalactiae*, otros estreptococos y las enterobacterias.

Cuando las infecciones ocurren a punto de partida de cuadros piógenos de piel, SA, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus* grupos A B C y G son los microorganismos más frecuentemente involucrados.

BGN, enterococos y microorganismos anaerobios pueden causar infecciones protésicas desde focos genitourinarios o digestivos.

Comentario especial merece la situación (respecto a las infecciones protésicas) de las personas amputadas de una extremidad inferior, que usan prótesis.

Varios son los factores a tener en cuenta en estos pacientes, además de muchos de los comentados, y en especial los referidos a la piel de la extremidad amputada sobre la que se coloca una prótesis:

- la piel del muñón alberga una flora microbiana mucho más numerosa que la piel de la extremidad sana.

- la piel no está preparada para recibir presiones, las que acarrearán falta de circulación de aire por un encaje muy ajustado que tiene como consecuencia el aumento de humedad (por transpiración retenida). Esto posibilita que un mayor número de infecciones bacterianas y micóticas se produzcan en verano, a lo que contribuye una piel macerada.

Las bacterias invaden los folículos pilosos con la formación de foliculitis o forunculosis. Si este proceso empeora puede llegar a capas más profundas de la dermis y aparecer la celulitis, con exudado o una piodermia superficial costrosa.

El principal factor a tener en cuenta es que se puede imposibilitar, por estas infecciones, el uso de la extremidad artificial.

En general, en las infecciones asociadas a prótesis articulares, análisis de laboratorio clínico y microbiológico (por punción) y por imágenes de la articulación afectada, son los estudios mandatorios.

Muchas veces los cultivos obtenidos de diferentes sitios articulares pueden ser negativos a pesar de signos evidentes de infección.

Un incorrecto diagnóstico microbiológico puede conducir a procedimientos inapropiados con elevada probabilidad de fracasos.

La estrategia terapéutica a la que más frecuentemente se recurre en el caso de la infección de prótesis articulares, consiste en el retiro precoz del material infectado, la limpieza quirúrgica y el uso de antimicrobianos.

De todos modos la estrategia terapéutica será elegida teniendo en cuenta, entre otros, factores como:

- modalidad de la infección, si es aguda o crónica
- sensibilidad antimicrobiana del microorganismo involucrado.
- si el microorganismo es productor de slime

- si se trata de SA, considerar si es formador de colonias pequeñas o SCV (Small Colony Variants)
- estado general del paciente
- estado de la prótesis, si está fija o aflojada
- condiciones del hueso que la soporta

Factores psicológicos del equipo de salud (ante el fracaso con la aparición de una situación catastrófica), económicos, clínicos, inherentes al paciente, (internación prolongada, reemplazo protésico, riesgo de nuevas infecciones y nuevas complicaciones aun no infecciosas), determinarán la relación médico-paciente y la recuperación y aceptación del hecho por parte del último.

El tratamiento de estas infecciones asociadas a prótesis articulares debe involucrar a médicos clínicos, infectólogos, microbiólogos y cirujanos.

El objetivo siempre será de lograr una articulación funcionante, libre de dolor, sin infección.

Recordando lo que C. Bergallo dice *“el remedio no puede ser peor que la enfermedad”*.

▪ Diagnóstico microbiológico de las IP

Es necesario tener en cuenta que la colonización de un implante no indica necesariamente infección; de hecho, muchos implantes colonizados no resultan infectados.

El concepto de infección incluye manifestaciones clínicas, signos de infección adyacentes al implante y la presencia de gérmenes patógenos en tejido periprotésico.

Es por ello que, los cultivos de exudado sólo de fistula tienen una dudosa fiabilidad (valor predictivo positivo menor al 50%), ya que puede

corresponder a una infección superficial o a una colonización de la propia fístula.

Al igual que las fistulas, tampoco es recomendable el cultivo de heridas superficiales ni de escaras por la contaminación cutánea.

Los cultivos de las muestras quirúrgicas son el procedimiento diagnóstico de referencia, a pesar de que la detección frecuente de falsos negativos y positivos es inherente a la IP.

Los falsos negativos se relacionan con antibióticoterapia previa, por lo que se aconseja suspender el tratamiento con un intervalo mínimo de dos semanas antes de la intervención.

Dada la distribución irregular de la infección (infección parcheada) deben obtenerse entre 4 y 6 muestras intraoperatorias para cultivo, o sea siempre varias piezas de diferentes zonas del implante (Figura 12):

Figura 12.
(Adaptada de Hospital General Universitario Gregorio Marañón-España).



- punción de la articulación antes de abrirla,
- membrana sinovial y biopsia ósea periarticular,
- material periprotésico (2 a 3 muestras),
- tornillos pequeños con tejidos desvitalizados adheridos (si está libre de tejido no es de utilidad)
- y si se retira la prótesis, muestras de las cavidades endomedular y cotiloidea

esto es de importancia dado que el hallazgo de idéntico microorganismo en más del 50% de los cultivos, o al menos en tres o más muestras, ofrece los mejores resultados en cuanto a sensibilidad, especificidad y valores predictivos.

Cuando 3 ó más muestras son positivas al mismo microorganismo la posibilidad de que se trate de una infección es de 94,8%.

Cuando solo una muestra es positiva y cuando todos los cultivos son negativos dicha posibilidad es 13,3% y 3,4% respectivamente.

Sin embargo, la recuperación de un microorganismo de probada patogenicidad en una o más muestras es un índice de alta sospecha de IP.

Cada una de las muestras se toma con su propio instrumental estéril.

No se aconseja utilizar torundas.

Para el transporte es preferible inocular las muestras líquidas en un frasco de hemocultivo y las sólidas colocarlas en frascos estériles sin aditivos.

Las muestras se deben remitir al laboratorio inmediatamente luego de extraídas, a temperatura ambiente.

Los hemocultivos tienen un papel fundamental en el diagnóstico etiológico de estas infecciones. El procesamiento de los hemocultivos ya fue descrito.

Procesamiento de las muestras

Consideraciones Generales

El diagnóstico de laboratorio debe incluir:

- Examen en fresco, de gran ayuda en las colecciones líquidas. Permite evaluar la respuesta inflamatoria y detectar elementos micóticos.
- Coloraciones en orden de importancia de:
 - Giemsa para evaluar la respuesta inflamatoria, que es uno de los pasos importantes para hacer diagnóstico de infección, y es además útil para detectar elementos micóticos.
 - Gram y Ziehl-Neelsen (Z-N): son controversiales pero sugerimos realizarlos siempre porque una coloración de Gram positiva tiene una alta especificidad (cercana al 100%) aunque baja sensibilidad (menor al 6%). Ambas situaciones son semejantes en Z-N
 - Kinyou
- Cultivo:

Para bacterias aerobias la siembra se realizará siempre en placas de agar sangre y agar chocolate, y caldo tioglicolato.

Los dos primeros son mandatorios. El agar sangre posibilita el diagnóstico rápido de neumococo, agente emergente en infecciones de Piel y Partes Blandas.

El agregar un medio cromogénico si hay BGN acorta los tiempos de diagnóstico.

Incluir medios para anaerobios estrictos que no desarrollan en el tioglicolato, medios para hongos y para micobacterias.

Tener en cuenta que microorganismos (por ejemplo *Abiotrophia*, *Granulicatella* y otros gérmenes nutricionalmente deficientes) que pueden estar asociados a infección protésica como endocarditis, artroplastia total de rodilla entre otras, solo desarrollarán en medios que contengan piridoxal o L-cisteína. O bien, alrededor de una estría de *S. aureus* en forma de colonias pequeñas satélites. En estos casos el tratamiento recomendado es el de asociar un β -lactámico con un aminoglucósido (sinergia).

Tener en consideración que si al 6-7 día de cultivo nos encontramos ante un tioglicolato opalescente y los otros cultivos negativos y en la coloración de Gram se observan bacterias gram variable corineiformes y bacterias fantasmas, se debe realizar Z-N y Kinyou ya que se podría estar en presencia de micobacterias de crecimiento rápido (ZN positivo y Kinyou negativo) ó frente a nocardias.

Las micobacterias detectadas deben ser enviadas a laboratorios de referencia para estudio de sensibilidad y tipificación ya que no todas responden de la misma manera frente a los antibióticos utilizados. Este estudio requiere por lo menos de 10 días.

Cualquiera sea la muestra recibida, los cultivos deben ser incubados al menos 12 días a fin de recuperar microorganismos con requerimientos nutricionales o de crecimiento tardío (recordar las SCV).

Siempre que sea posible las muestras recibidas se conservarán refrigeradas durante 15 días por si son necesarios estudios complementarios.

Consideraciones Particulares

Líquido articular

El estudio de líquido articular es esencial en la sospecha de IP.

El líquido articular, obtenido por aspiración en tubo estéril con heparina, debe remitirse para tinción de Gram, cultivo y recuento celular con los recaudos necesarios en el transporte para muestras con probable participación de anaerobios y aerobios (aguja obturada y a temperatura ambiente).

A diferencia de lo que ocurre en las artritis sépticas donde los recuentos celulares pueden ser muy elevados, en IP recuentos de más de 1.700/ μ l o un predominio de polimorfonucleares mayor al 65% son suficientes para sospechar infección.

La rentabilidad de la coloración de Gram y del cultivo del líquido sinovial es relativamente baja: la sensibilidad de la tinción de Gram es inferior al 6% y al igual que la del cultivo.

Biopsias periprotésicas/ Tejidos ósteo-articulares

Los estudios más rentables se realizan en biopsia del tejido periprotésico. Incluir estas muestras para el diagnóstico, posibilita trabajar con mayor número de muestras lo que, como fuera ya comentado, eleva la sensibilidad del método a cifras cercanas al 90%.

Sin embargo, también se puede obtener cultivos negativos debido a múltiples causas: antibioticoterapia previa, gérmenes de lento crecimiento ó difíciles de cultivar.

Cuando la sospecha de infección es elevada y los cultivos son negativos, puede ser necesario retirar la prótesis para cultivarla. Como fuera mencionado y se reitera más adelante, dichas muestras deben tener tejido desvitalizado adherido.

Como es necesario disgregar o romper tejidos se debe disponer de: tijera, vórtex, mortero y bisturí, todos ellos estériles. Se puede utilizar también, arena tamizada estéril ó perlas de vidrio estériles.

Pequeños fragmentos de tejido se deben extraer con bisturí estéril, separándolos de la prótesis.

Homogeneizarlos con vórtex no más de 30 segundos en 1-2 ml de caldo de enriquecimiento. Inocular 0,1 ml del homogeneizado en los medios de cultivo (líquidos y sólidos) y en porta objetos para realizar las coloraciones que correspondan.

Para el examen directo disponer siempre de portaobjetos nuevos y nunca secarlos al mechero si se extendió en ellos tejidos.

Las muestras deben ser sembradas en los medios antes mencionados para aerobios, anaerobios y de enriquecimiento (caldo tioglicolato), siempre en placa entera y evitando tocar los bordes.

Las muestras muy pequeñas pueden inocularse directamente en el caldo de enriquecimiento. Si el material es escaso agregar medio de cultivo líquido al frasco. Luego de la siembra, el frasco con tejido y caldo también se incuba a 35°C.

Se debe realizar la identificación y determinación de la sensibilidad de todos los microorganismos recuperados.

Prótesis

Cuando lo que se envía es la prótesis (frecuentemente un hierro grande y largo) en una bolsa con solución fisiológica, el tiempo y los problemas que este envío ocasiona aumenta y dificulta el trabajo, por lo que no es una muestra útil para el diagnóstico de infección protésica.

Las prótesis útiles para diagnóstico bacteriológico son los tornillos pequeños con tejidos desvitalizados adheridos (si está libre de tejido no es de utilidad)

Tampoco son de utilidad los hisopados *in situ* ni de la superficie de la prótesis.

De recibir la prótesis, se la debe sumergir en medio líquido de enriquecimiento y agitar con vórtex (solo si son de pequeño tamaño y con tejido desvitalizado adherido).

También se ha informado, el aumento de rentabilidad del cultivo del implante mediante sonicación previa.

El líquido luego se procesa como fuera descrito para biopsias o tejidos ósteo-articulares.

Consideraciones respecto de los métodos de diagnóstico

Criterios de diagnóstico seguro de Infección Posquirúrgica Precoz (IPP):

- Visualización macroscópica de pus en el campo quirúrgico articular.
- Presencia de 1.700 ó más leucocitos por mm³ con 65% ó más PMNs en recuento del líquido articular.
- Presencia de infiltrado inflamatorio 10 ó más leucocitos en 5 ó más campos de gran aumento en la histología.
- 3 o más cultivos de biopsia de tejido periprotésico positivos (con el mismo microorganismo)
- 1 cultivo positivo de biopsia de tejido periprotésico con un microorganismo no habitual (micobacteria, *Salmonella*...)
- 1 cultivo positivo de biopsia de tejido con un microorganismo habitual + hemocultivos positivos.

Criterios de diagnóstico seguro de Infección Crónica Tardía (ICT):

- Presencia de una fistula cutánea.

- Iguales criterios mencionados en IPP.
- En ausencia de criterio histológico y sin aislamiento microbiológico, el diagnóstico será de probabilidad.

Recomendaciones para infecciones asociadas a prótesis óseas y articulares

- Recordar que en la infección protésica siempre el diagnóstico histopatológico complementa el microbiológico.
- Muchas de estas infecciones comunican con el exterior y tendrán un tracto sinusal que comunica con el espacio articular.
- Siempre es diagnóstico dos o más cultivos de aspirado articular o cultivos intraoperatorios positivos a idéntico microorganismo (antibiotipo).
- La purulencia observada en la inspección quirúrgica es un elemento de firme sospecha de infección.
- El tejido desvitalizado o la presencia de inflamación aguda diagnosticada por diagnóstico histopatológico es un elemento de firme sospecha de infección.
- Las muestras: obtenidas en quirófano: líquido articular, hueso, cemento, tejidos periarticulares (muestras de varios sitios) son recomendadas para aumentar la recuperación de patógenos.
- Siempre procesar todas las muestras que llegan al laboratorio.
- El N° de muestras es importante ya que los hallazgos clínicos no predicen una infección multifocal, la que es de bajo grado.
- Cada una de las piezas sólidas deben triturarse o cortarse en pequeños trozos (bisturí, pinza, vórtex) en una placa de Petri. Usar una placa para cada pieza

- Disponer del material necesario para disgregar o romper las muestras sólidas (tijera, mortero, bisturí, vórtex).
- Al trabajar con tejidos nunca secar al mechero el portaobjeto que será sometido a coloración.
- Para investigar infecciones ósteo-articulares protésicas no es conveniente estudiar: heridas superficiales, trayecto sinusal, escaras, hisopos.
- Es conveniente discontinuar el tratamiento antibiótico por lo menos 2 semanas antes de la toma de muestra.
- Solicitar el envío de la mayor cantidad de muestra posible, ya que la mayor parte del líquido articular, por ejemplo, se debe sembrar en medios líquidos (tioglicolato) y frascos de hemocultivo.
- En líquido articular, como en las otras muestras, es de suma importancia evaluar la respuesta inflamatoria.
- El diagnóstico de laboratorio debe incluir: examen en fresco; coloraciones (en orden de importancia) de: Giemsa, Gram, Ziehl-Neelsen y Kinyou; cultivo en agar sangre, agar chocolate (ambos mandatarios), tioglicolato, medios para anaerobios estrictos que no desarrollan en el tioglicolato, medios para hongos y para micobacterias.
- Agregar un medio cromogénico si hay BGN ya que acorta los tiempos de diagnóstico.
- Tener en cuenta que microorganismos nutricionalmente deficientes (*Abiotrophia*, *Granulicatella* y otros) solo desarrollarán en medios que contengan piridoxal o L-cisteína. O bien, alrededor de una estría de *S. aureus* en forma de colonias pequeñas satélites.
- Tener en consideración que si al 6-7 día de cultivo nos encontramos ante un tioglicolato opalescente se debe realizar Z-N y Kinyou. En la coloración de Gram se observan bacterias gram variable corineiformes y bacterias fantasmas.

- Cualquiera sea la muestra recibida, los cultivos deben ser incubados al menos 12 días a fin de recuperar microorganismos con requerimientos nutricionales o de crecimiento tardío.
- Un cultivo positivo es altamente específico 95% pero su sensibilidad es baja.
- Recordar que las mayorías de las artritis son monomicrobianas, hematógenas y de huesos largos. Solo alrededor de un 8% son mixtas.
- Si en un paciente se recuperan simultáneamente microorganismos como *Bacteroides fragilis*, *Enterococcus faecalis* y *E. coli* es sinónimo, generalmente, de contaminación con flora fecaloide por lo que se debe ser muy cuidadoso con esta recuperación microbiana.
- En las infecciones articulares y óseas asociadas a prótesis, *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus aureus* son los microorganismos más involucrados.
- Siempre que se recupera un SCN valorar según cuadro clínico para descartar colonización. NUNCA dejar de informarlo.
- Sospechar siempre micobacterias de crecimiento rápido en infecciones asociadas a implantes protésicos o sustancias que se inoculan en tratamientos para embellecimiento.
- Si se sospecha infección anaeróbica siempre solicitar hemocultivos seriados.
- Siempre buscar hongos y realizar coloración de Z-N y Kinyou aunque no haya sospecha.
- Si bien *S. pyogenes* no es de los microorganismos más frecuentes, cuando está presente devora en horas los injertos que se hayan realizado y los hemocultivos en estos casos son positivos a las 2 horas.

Infecciones asociadas a prótesis valvulares y otros dispositivos cardiovasculares

La implantación de válvulas cardíacas, sean biológicas o mecánicas, de marcapasos o desfibriladores y de prótesis vasculares, tienen como finalidad mejorar la calidad de vida y hasta salvar la vida de todos aquellos pacientes que padecen trastornos en la conducción o arritmias, cardiopatías valvulares, o enfermedades vasculares.

▪ Infecciones asociadas a las válvulas protésicas cardíacas

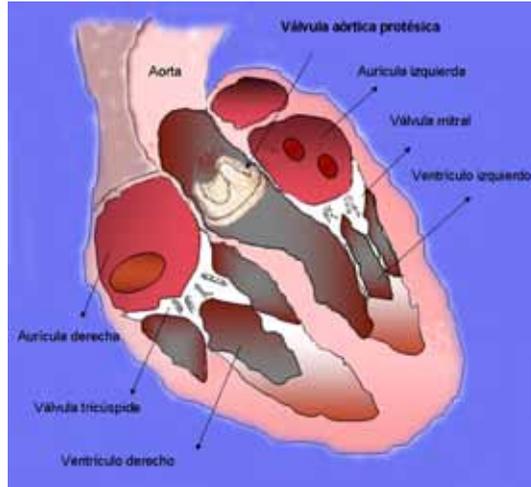
En pacientes con enfermedades valvulares, el uso de prótesis valvulares cardíacas ha cumplido un rol esencial para mantener la capacidad hemodinámica del corazón (Figura 13).

Sin embargo, dichos reemplazos valvulares no están exentos de riesgo, entre ellos la endocarditis infecciosa sobre válvula protésica.

La endocarditis bacteriana (EB) se define como la infección del revestimiento interno del corazón (endocardio) o bien de alguna de las válvulas del corazón, sean éstas protésicas o nativas.

Cuando las bacterias, procedentes desde la sangre (bacteriemia previa), se alojan en las válvulas cardíacas anormales u otro tejido cardíaco con daño previo, inician el camino a la endocarditis.

Figura 13.
(Adaptado de
JAMA, 28 de
marzo de 2007,
Vol. 297, No. 12).



No todas las bacterias que pueden producir bacteriemia pueden producir endocarditis. Si bien muchas que producen bacteriemia desde focos diversos del organismo, entre ellos los odontogénicos, tracto urinario o genitourinario, pueden producir la endocarditis, no necesariamente todas.

Cuando las válvulas cardíacas enferman ocurren dos tipos de lesiones, la estenosis (estrechamiento o fusión de la válvula) y la insuficiencia o cierre defectuoso por el que la sangre retrocede al corazón.

Ambas lesiones ocasionan diversos síntomas, agudos o tardíos.

Al crecimiento de tejido infeccioso en las válvulas cardíacas, se lo denomina vegetaciones, las que pueden causar embolias, por el desprendimiento del tejido (émbolos) obstruyendo los vasos sanguíneos.

Entre los factores que más frecuentemente colaboran para aumentar el riesgo de contraer endocarditis, se encuentran:

- enfermedades congénitas del corazón que producen deformidades de las válvulas desde la vida intrauterina
- antecedentes de endocarditis previa

- tener una válvula protésica en el corazón
- válvulas nativas dañadas por enfermedades como la fiebre reumática (generalmente infantil como consecuencia de anginas mal curadas)
- lesiones degenerativas que aparecen en ancianos
- anomalías post-transplante.

La reparación quirúrgica de una válvula o su sustitución por otra de tipo biológico o mecánico, se realiza a través de una intervención de corazón, a fin de reemplazar la válvula dañada.

Desde la década del 60, se inició el uso de prótesis valvulares y ha resultado ser un procedimiento esencial para mantener la capacidad hemodinámica del corazón en aquellos pacientes con enfermedades valvulares, cuya vida peligra a corto plazo por la naturaleza de la lesión.

Las hay biológicas, construidas de material humano o animal y las válvulas mecánicas construidas en plástico, metal o carbón pirolítico que es un grafito bombardeado con átomos de carbón a elevadas temperaturas, que al ser muy duro, es resistente a la trombogénesis y de prolongada vida útil.

La elección de una u otra de ellas depende de las características individuales de cada paciente, como edad, enfermedades subyacentes, propensión o no a formar trombos, etcétera.

Aun con el uso de nuevos materiales en la fabricación de estas prótesis, todas mantienen riesgos de coagulación, embolias, e infecciones de difícil diagnóstico, tratamiento y erradicación, por la formación de biopelículas sobre las mismas.

Si bien la endocarditis infecciosa sobre válvula protésica (EIVP) representa una severa complicación de la cirugía de recambio valvular, su frecuencia no es uniforme en todos los informes. Es siempre más elevada en los tres primeros meses de la colocación de la válvula, disminuyendo luego y manteniéndose el riesgo de contraerla, constante.

A pesar de ello, las prótesis se mantienen vulnerables a la infección, durante todo el tiempo de implantadas, ya que los cuerpos extraños intravasculares son intrínsecamente más susceptibles a la colonización bacteriana que las válvulas nativas. Ya vimos la dificultad en la erradicación de esta colonización una vez establecida.

Cuando las válvulas implantadas son mecánicas, la incidencia de EIVP es máxima a los tres meses. Cuando son biológicas se llega con máxima incidencia alrededor de los doce meses.

Estas infecciones de dispositivos cardiovasculares ocurren por alguno de los siguientes caminos:

- contaminación por microorganismos en el acto quirúrgico de implantación del dispositivo (se trata de una infección de herida quirúrgica agravada por la presencia de material extraño, lo que disminuye la dosis infecciosa necesaria de los microorganismos involucrados).
- contaminación por microorganismos provenientes de la sangre (diseminación hematógena).
- contaminación desde un foco a distancia (infección contigua)

Estas endocarditis constituyen el 15% de los casos de endocarditis infecciosa en países desarrollados, presentando una mortalidad superior al 30%.

Es más frecuente en adultos y ancianos, ya que la cirugía de recambio valvular es cada vez más prevalente en estos pacientes con valvulopatías adquiridas.

SA y los SCN son los microorganismos más asociados a infecciones relacionadas con dispositivos cardiovasculares.

La aparición de endocarditis infecciosa sobre válvula protésica es más frecuente durante los 3 primeros meses post-cirugía, va disminuyendo durante los 6-12 meses siguientes y, luego, se mantiene constante en el tiempo con una ocurrencia de entre 0,3-0,6%.

Se la clasifica en endocarditis protésica precoz, cuando ocurre durante los 12 meses siguientes a la implantación de la prótesis y endocarditis protésica tardía, que ocurre a partir de los 12 meses.

En la manifestación precoz de la EIVP, la colonización de la prótesis valvular ocurre durante el acto quirúrgico o en el período perioperatorio y post operatorio inmediato: catéteres venosos, arteriales, sondas vesicales, alambres de marcapasos.

En la endocarditis protésica precoz, si ocurre dentro de los 60 días posteriores a la cirugía, el origen de la infección es generalmente nosocomial.

Si bien la patogenia de la EIVP, es compleja, la formación de trombos fibrinoplaquetarios sobre la superficie endotelial, debida a alteraciones anatómicas y hemodinámicas que lesionan dicha superficie, facilita la adhesión de microorganismos circulantes, como los estafilococos.

Las vegetaciones cardíacas se forman a partir de los trombos colonizados por los microorganismos, los que se multiplican y sobreviven dentro de los mismos. La presencia de cuerpos extraños intravasculares, como lo son las prótesis cardíacas, favorece aún más el desarrollo de la infección dado que estos microorganismos (los estafilococos) son los más asociados a la formación de biocapas.

SA y SCN (*S. epidermidis*) fundamentalmente, representan el paradigma de estos mecanismos a través de sus adhesinas, (MSCRAMM), que encuentran su receptor en dichos trombos fibrinoplaquetarios y también en el endotelio normal o con mínimo traumatismo.

La EIVP precoz está asociada a los microorganismos provenientes de la flora de la piel del paciente, de la flora nosocomial o por contaminación del sistema de circulación extracorpórea (*S. epidermidis*, corinebacterias) y, excepcionalmente, del medio ambiental (*Aspergillus* spp.).

Otros microorganismos menos frecuentes incluyen enterococos (tanto *E. faecalis* como *E. faecium*), *Corynebacterium* spp., bacilos gramnegativos y hongos (*C. albicans*, *Aspergillus* spp.)

Los microorganismos asociados a la infección en el período post operatorio más tardío, alcanzan la prótesis a través de una bacteriemia o fungemia, a punto de partida de una infección respiratoria, urinaria, o de una infección vía catéter.

En el caso de las EIVP tardía, siguen siendo frecuentes los estafilococos, pero la distribución de microorganismos es más semejante a la infección de válvula nativa, donde los estreptococos del grupo viridans son los que predominan seguidos de SA y SCN.

Una bacteriemia transitoria, originada a partir de una manipulación dental, genitourinaria o gastrointestinal puede ser una fuente de infección y explica esta semejanza con los microorganismos asociados a la infección de la válvula nativa.

Aparecen como microorganismos frecuentemente asociados a la infección, otros cocos grampositivos y los microorganismos del grupo HACEK (*Haemophilus* spp., *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Cardiobacterium hominis*, *Eikenella* spp. y *Kingella* spp.).

Se postula que estas infecciones tardías se producen también durante la cirugía, pero ya sea por una virulencia menor de los microorganismos involucrados o por un inóculo pequeño, se manifiestan más tardíamente. Su aparición ocurre cuando las válvulas se han endotelizado.

La presentación clínica de estas infecciones, varía según la localización de la misma y la virulencia del patógeno involucrado.

Manifestaciones clínicas de poca o mediana intensidad, aparecen ante patógenos como SCN, los estreptococos del grupo viridans, y otras variantes nutricionales como *Abiotrophia defectiva* y especies de *Granulicatella* y bacterias del grupo HACEK, *Corynebacterium* spp. y *P. acnes*.

La infección no provoca dolor y tiene una duración de hasta meses y se caracteriza por pérdida de peso, malestar general, mialgas y otros síntomas leves de malestar.

Por lo menos la presencia de dos de las siguientes premisas debe ser demostrada para diagnosticar una EIVP, definida como la infección del tejido periprotésico:

- hemocultivos positivos por lo menos en dos muestras con idéntico microorganismo
- evidencia anatomopatológica de endocarditis en la cirugía
- cultivo positivo del material extraído
- evidencia clínica de endocarditis.

El descenso de la EIVP se debe fundamentalmente al uso de la profilaxis antibiótica quirúrgica y el mejor manejo periodontológico.

▪ **Diagnóstico microbiológico de las infecciones asociadas a válvulas protésicas cardíacas**

El diagnóstico definitivo de la endocarditis de válvula protésica sólo puede establecerse con absoluta certeza por medio del examen histológico y microbiológico de las vegetaciones obtenidas en el acto quirúrgico o en la necropsia.

Sin embargo, desde el punto de vista clínico, el diagnóstico se realiza sobre la base de la presencia de determinadas características clínicas, el resultado de los hemocultivos y los hallazgos del ecocardiograma.

Por lo tanto, el diagnóstico microbiológico se realiza a través del procesamiento de las muestras de hemocultivo.

A través de los hemocultivos se establece la etiología de la endocarditis, siendo positivos en casi 90% de los pacientes que no recibieron antibióticos previamente; debido a que la bacteriemia de la endocarditis de válvulas protésicas es continua.

Sin embargo, es importante considerar que entre el 10 y el 20% de los casos, la endocarditis protésica precoz cursa con hemocultivos negativos. Mientras que, en la endocarditis protésica tardía este porcentaje alcanza a el 5-15% de los casos.

Un aspecto importante es que las muestras de sangre no deben ser obtenidas de catéteres intra-vasculares por la posibilidad de confusión con colonización de los mismos en caso que las muestras sean positivas.

Si el resultado de los hemocultivos es negativo debe plantearse la presencia de gérmenes fastidiosos como *Legionella*, *Coxiella*, *Bartonella*, micoplasmas, grupo HACEK y hongos.

Las muestras de prótesis valvulares y tejido desbridado (si lo hubiera) extraídas quirúrgicamente, deben colocarse por separado en recipientes estériles de boca ancha, y transportadas a temperatura ambiente, rápidamente, al laboratorio de microbiología.

Cada muestra se homogenizan y se siembra en agar sangre, agar chocolate, medios suplementados para variantes nutricionales, medios para anaerobios y caldo tioglicolato.

Los cultivos sólidos se incuban a 35°C durante 3-10 días y los líquidos no menos de 10 días.

Cualquier desarrollo microbiano debe ser evaluado con el médico a fin de jerarquizarlo.

▪ Infecciones asociadas a las prótesis vasculares

De todas las complicaciones que pueden surgir en estos pacientes con prótesis vasculares, la infección del material protésico implantado en territorio vascular arterial, es la más grave.

La infección de una prótesis vascular como sustituto de una arteria es la más seria de todas las complicaciones.

Los riesgos de muerte, amputación y complicaciones médicas asociadas a este tipo de infecciones son muy elevados ya que ocurren en un paciente con enfermedad cardiovascular generalizada, complicaciones metabólicas avanzadas, y una infección activa.

Estas infecciones presentan una tasa de mortalidad que oscila entre 13 y 48% y una tasa de amputación del 23 al 36%.

La infección de una prótesis vascular no es un evento frecuente. Su incidencia varía según donde se haya colocado el implante, así es inferior al 1% en los implantes colocados para la reconstrucción de la aorta y de las arterias ilíacas y del 2 al 5% en las prótesis que atraviesan el área inguinal, como las aorto-femorales o las femoro-poplíteas, sitios más expuestos a la infección por su ubicación más superficial.

La incidencia también varía según el tipo de injerto. Los de menor incidencia son los injertos autólogos como segmento de arterias o vena safena. Y de los injertos protésicos los de menor incidencia de infección son las prótesis de politetrafluoroetileno, por resistir más a la infección.

La infección dependerá además de: el tiempo de colocación de la prótesis y de los microorganismos involucrados en la sepsis. Ocurre ya sea por contaminación en el acto quirúrgico, por diseminación bacteriémica, por la formación de un absceso o erosión de la prótesis, por la infección de la herida quirúrgica inguinal, o también puede ocurrir por extensión desde un foco adyacente, como el tubo digestivo en la aorta abdominal

Aquí también la infección que ocurre en el momento de la colocación de la prótesis, es la más frecuente.

La prótesis no sólo se contamina con la superficie cutánea, sino además con la zona de sección de la piel, ya que quedan muchos microorganismos expuestos ya sea de los folículos pilosos, glándulas sebáceas, pliegues o surcos y todas las zonas que no pudieron ser cubiertas con los antisépticos locales colocados.

Hasta la zona de unión de la prótesis con la arteria llegan las bacterias que permanecen en la pared arterial y se diseminan sobre la superficie

exterior del vaso produciendo pus que rodea a la prótesis y avanza por los tejidos adyacentes.

Cuando la infección ocurre por diseminación de un foco adyacente, la prótesis queda envuelta por el tejido infectado afectando su superficie y la sutura arterial.

Las reintervenciones quirúrgicas aumentan el riesgo de infección, ya sea por hemorragias o prótesis ocluidas o en especial cuando se trata de complicaciones sépticas que llevaron a la nueva cirugía.

En diabéticos, en especial cuando se abordan vasos y ganglios linfáticos, a nivel inguinal, la contaminación de la prótesis puede darse por microorganismos provenientes de las extremidades (pierna-pie) con isquemia, gangrena u otras situaciones complicadas dado que estas intervenciones se realizan para una cirugía de revascularización.

Otras complicaciones infecciosas pueden darse por acumulación de linfa, líquido seroso o sangre que constituyen un excelente medio de cultivo para los microorganismos.

Muchos consideran a las instrumentaciones a nivel inguinal, previo a la cirugía del implante protésico, como un importante riesgo para posteriores infecciones a nivel inguinal.

Los microorganismos asociados a injertos infrainguinales, son principalmente SA (25-35% de los casos), SCN, enterobacterias y *Pseudomonas aeruginosa*. Micobacterias y hongos, en especial *Aspergillus fumigatus* están también reconocidos.

Las enterobacterias, enterococos y bacterias anaerobias se asocian a infecciones producidas por una comunicación entre la prótesis vascular y el intestino (prótesis intra-abdominales). En estos casos, un 15-35% de los pacientes presentan infecciones polimicrobianas.

Los microorganismos gramnegativos predominan especialmente en prótesis retroperitoneales colocadas desde la aorta a vasos ilíacos.

Staphylococcus epidermidis también está asociado a infecciones de aparición tardía, las que tienen manifestaciones larvadas, con escasa fiebre y muy leve compromiso del estado general.

Uno de los microorganismos más frecuentes de la flora cutánea y es el que más frecuentemente se detecta en las infecciones protésicas es *Staphylococcus epidermidis*.

El predominio de microorganismos grampositivos indica que el contacto de la prótesis con la piel durante su implante es el mecanismo patogénico más importante; éste mecanismo se relaciona también con la mayor incidencia de infecciones en las anastomosis femorales, poplíteas y axilares.

La infección vía hematógena por diseminación desde un foco a distancia, es la menos frecuente de las vías.

Cuando las bacteriemias contaminan una prótesis, lo hacen en el período temprano de su implante, cuando aun no se ha incorporado al tejido fibroso que la rodea.

Hay que recordar que durante el acto quirúrgico e inmediatamente después, variados hechos pueden producir bacteriemia transitoria, como la colocación de cánulas endotraqueales, sondas vesicales, intubación nasogástrica, accesos venosos, arteriales y otras instrumentaciones.

Otros microorganismos, constituyentes de la microflora de la piel del paciente, pueden ser responsables de estas infecciones como *Corynebacterium* spp. y *Propionibacterium acnes*, entre otros. La infección de los injertos causada por estos microorganismos, es de aparición tardía.

Las manifestaciones clínicas de infección aparecen los primeros meses después de la cirugía cuando las prótesis atraviesan la zona inguinal. Aquí una tumoración dolorosa es lo frecuente.

Las sospechas de infección de los injertos vasculares son los aneurismas y pseudoaneurismas anastomóticos, la aparición de fístulas inguinales o vasculoentéricas (con frecuentes hemorragias digestivas) y las embolias arteriales sépticas en una extremidad.

La escisión del injerto, desbridamiento local, tratamiento antimicrobiano, según cultivo y revascularización, son los pasos a seguir en toda infección del injerto protésico vascular.

Extremar la vigilancia perioperatoria en estos implantes, es de radical importancia a fin de evitar las consecuencias tan graves de estas infecciones, como la pérdida de las extremidades o la vida de los pacientes.

▪ **Diagnóstico microbiológico de las infecciones asociadas a prótesis vasculares**

Dado que los hemocultivos son generalmente negativos, ya que la infección no afecta a la luz de la prótesis, el diagnóstico microbiológico se realiza por el cultivo de la prótesis o del material de la colección periprotésica obtenidos por punción-aspiración guiada por una técnica de imagen o durante el procedimiento quirúrgico de reparación de la infección.

Los microorganismos están incorporados en una biocapa alrededor de la prótesis, por lo que se aconseja, si es posible, realizar una sonicación previa de la prótesis para incrementar la rentabilidad de los cultivos bacterianos.

A pesar de la alta probabilidad de obtener hemocultivos negativos, estos siempre deben realizarse y procesarse según la metodología ya descrita.

De existir fístulas, éstas se estudian cultivando su exudado.

En prótesis largas, se debe cultivar más de 1 segmento.

El procesamiento de las muestras es igual al descrito para válvulas protésicas.

▪ **Infecciones asociadas a los dispositivos de electroestimulación cardíacos**

Tanto los marcapasos cardíacos (Figura 14) como los desfibriladores implantables se han transformado en dispositivos biomédicos de gran uso en aquellos pacientes con trastornos del ritmo.

Los avances en el diseño y simplificación de la cirugía de implantación, ha hecho que la estimulación eléctrica cardíaca a través de marcapasos sea un procedimiento frecuente.

Sin embargo, se pueden presentar complicaciones, entre ellas la infección de estos dispositivos. Aunque baja, la frecuencia de infección es del 1-6%.

Se identifican dos tipos de infección en estos dispositivos: la infección de la zona del generador y/o trayecto subcutáneo de los electrodos, que ocurre en el acto quirúrgico del implante (que es la más frecuente), y la endocarditis como consecuencia más directa de la infección de la porción transvenosa de los electrodos con o sin afectación del bolsillo del generador.

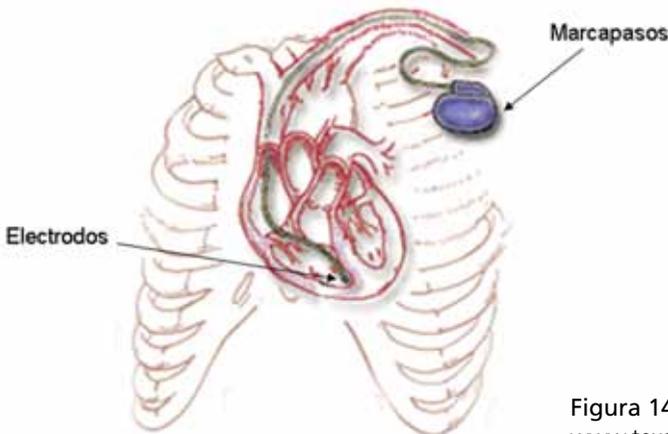


Figura 14. (Adaptado de: www.texasheartinstitute.org/.../pacemake_sp.cfm).

La infección de curso precoz, producida por contaminación intraquirúrgica, se asocia a los estafilococos semejantes a los recuperados de la piel del paciente.

La infección precoz se produce a los pocos meses de implantación/ manipulación del sistema y ocurre por la contaminación intraoperatoria del dispositivo o del tejido donde se implanta.

Cuando la infección es de aparición tardía, se debe a una erosión mecánica primaria de la piel adyacente al bolsillo del generador, a través de la cual penetran los microorganismos.

El riesgo de infección de las superficies endocárdicas está latente en cualquiera de las dos situaciones antes señaladas.

La infección del sistema por vía hematógena desde focos distantes es extremadamente infrecuente y solamente se han descrito casos producidos en el contexto de una bacteriemia por SA. La endocarditis infecciosa es poco frecuente (0,1-1%) pero con una morbimortalidad elevada.

El factor predisponente más importante es el antecedente de infección del bolsillo del generador y/o cables de conducción.

La infección del bolsillo del generador ocurre en el 2% al 5,6% de los procedimientos y en el 10% de estos casos se produce endocarditis.

La endocarditis debe sospecharse en los portadores de marcapasos que presenten fiebre de origen desconocido, bronquitis o neumonía recurrente y/o síntomas locales en el lugar de implantación.

Los agentes etiológicos más frecuentemente implicados en esta infección son SA, SCN, *E. faecalis*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*, y enterobacterias, predominando SA y SCN en frecuencia de aparición. La infección es polimicrobiana en el 5 al 13% de los casos.

Frecuentemente, los pacientes con endocarditis del marcapaso causada por gérmenes distintos a los estafilococos, presentan factores de riesgo predisponentes como diabetes o tratamiento previo con esteroides.

En la endocarditis precoz (dentro de los 3 meses posteriores a la implantación del dispositivo), SA es el responsable de aproximadamente el 80% de los casos, mientras que en la de aparición tardía *S. epidermidis* seguido de *S. lugdunensis* son las especies más frecuentemente recuperadas.

S. schleiferi parece jugar un papel importante en la colonización de los materiales protésicos y debe ser considerado como un patógeno oportunista.

De hecho que, como en las otras infecciones asociadas a prótesis ya comentadas, aquí también factores generales como la prolongación de los tiempos quirúrgicos, heridas amplias, pacientes debilitados, diabéticos, o con otras inmunodeficiencias, son factores de riesgo importantes.

▪ Diagnóstico microbiológico de las infecciones asociadas a dispositivos de electroestimulación cardíacos

La demostración de bacteriemia persistente o intermitente, en especial si es por cocos grampositivos en pacientes portadores de dispositivos de electroestimulación cardíacos, obliga a descartar la existencia de una infección del sistema.

La endocarditis asociada a estos dispositivos se diagnostica mediante ecocardiografía, en un paciente con síntomas compatibles y hemocultivos positivos.

Si se observa infección local del bolsillo del generador y existe exudado, el diagnóstico microbiológico se realiza por cultivo del exudado obtenido por punción aspiración y hemocultivos a fin de descartar una bacteriemia oculta.

El examen directo de la muestra obtenida del bolsillo del generador debe realizarse en fresco a fin de investigar la presencia de levaduras y hongos filamentosos y por coloración de Giemsa y de Gram para evaluar respuesta inflamatoria y morfotipos bacterianos.

Algunos estudios relacionados a endocarditis asociada a marcapasos, han observado que los hemocultivos son positivos en el 72% al 100% y el cultivo del cable del marcapaso en el 69% al 85% de los casos de endocarditis precoz.

En los pacientes con infección del bolsillo del marcapaso los hemocultivos son positivos en el 32,5%, y el cultivo del cable en el 69%, mientras que en los pacientes con síntomas locales sin datos de sepsis y con ecocardiograma normal, los hemocultivos son positivos sólo en el 14% y el cultivo del cable en el 79,3%.

Estos hallazgos sugieren que, probablemente, la endocarditis asociada a marcapaso sea sub-diagnosticada si no se realiza el cultivo de la porción intravascular del cable.

Las muestras sembradas en medios sólidos deben cultivarse como mínimo durante 3 a 5 días y los medios líquidos, 7 días.

Los cables se cultivan en medio líquido (caldo tioglicolato) y se incuban durante 7 días.

Infecciones asociadas a sistemas de derivación de LCR

Uno de los procedimientos más frecuentes en neurocirugía, que tienen por finalidad disminuir la presión intracraneal en aquellos pacientes con hidrocefalia, fundamentalmente, es la colocación de sistemas de derivación de líquido cefalorraquídeo (LCR).

Estos sistemas en general se emplean para llevar LCR desde el sistema nervioso central (SNC), (ventrículos, cavidad siringomiélica y saco dural) a cavidades de la economía ya sean abdominal, torácica, la aurícula y vesícula biliar, donde pueda ser reabsorbido.

Estas derivaciones: las hay externas e internas.

▪ Derivaciones externas de LCR

Se trata de un catéter colocado en el espacio epidural, subdural o intraventricular (el más frecuente), sin sistema valvular. Tienen un trayecto subcutáneo tunelizado y en conexión con el exterior. Son implantes de tipo temporal que se mantienen hasta la colocación de uno nuevo.

Son utilizados para el monitoreo de la presión intracraneal ya que posibilitan una evacuación rápida de LCR, además de la administración de fármacos.

La denominada DVE (derivación ventricular externa) es utilizada en hidrocefalias obstructivas y en el monitoreo de la presión intracraneal y la denominada DEL (derivación lumbar externa) es utilizada en las hidrocefalias comunicantes.

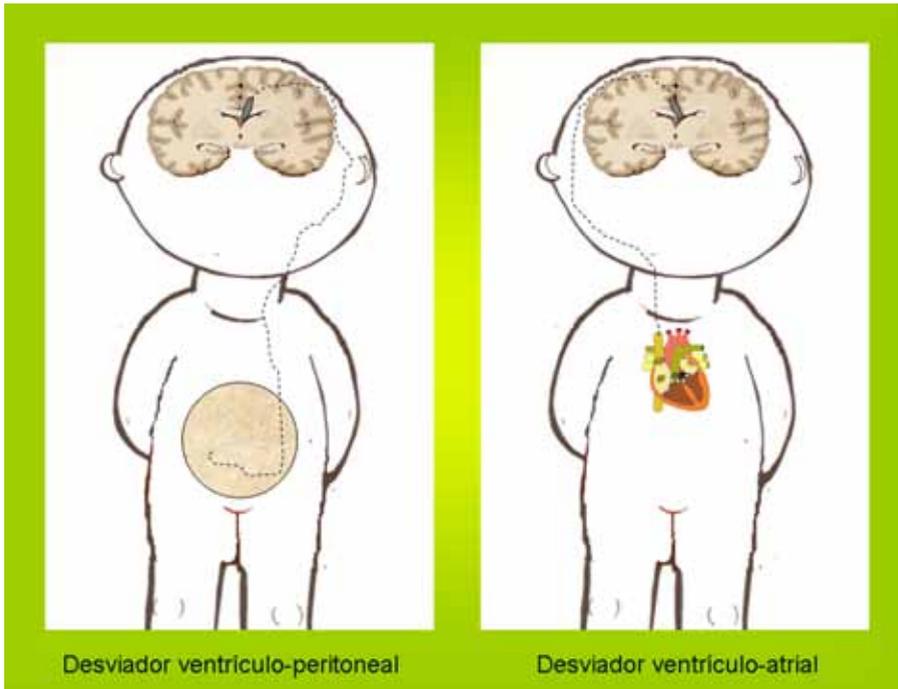
▪ Derivaciones internas de LCR o shunts

Son sistemas internalizados y de uso permanente. Estos sistemas tienen un catéter proximal y uno distal. Estos shunt tienen una válvula para regular el flujo de LCR que está alojada en un reservorio y que posibilita la toma de muestras de LCR y la administración de fármacos.

Los hay con variadas características que facilitan diversas funciones.

Los tipos de shunt según donde se alojan los catéteres proximal y distal son:

- El de uso más frecuente, el shunt ventrículo-peritoneal (SVP): el LCR es drenado en la cavidad peritoneal. Se utiliza en las hidrocefalias obstructivas.
- El segundo tipo es el shunt ventrículo-atrial (SVA): el LCR es drenado en la aurícula derecha. Se coloca en casos seleccionados de hidrocefalias obstructivas en los que la cavidad peritoneal no se puede utilizar.
- El shunt ventrículo-pleural: el LCR es drenado a la cavidad pleural. Está indicado en las mismas situaciones que el SVA.
- El shunt lumbo-peritoneal (SLP): el LCR drena desde el espacio espinal a la cavidad peritoneal. Este tipo de shunt se utiliza en las hidrocefalias comunicantes y fistulas del LCR.



Como ocurre en las otras infecciones asociadas a prótesis, ya comentadas, la infección se vincula fuertemente a:

- los mecanismos de defensas del huésped
- las propiedades del biomaterial utilizado
- la posibilidad de los microorganismos de adherir y formar biofilm
- la virulencia de los microorganismos involucrados

la adherencia bacteriana la posibilitan:

- la porosidad del material
- fuerzas inespecíficas

- adhesinas
- fibrinógeno- fibronectina y otros receptores

La persistencia la posibilita:

- el biofilm formado que mantiene bacterias durmientes, metabólicamente disminuidas

La diseminación la posibilitan:

- deficiencias humorales
- deficiencias celulares como por ejemplo la neutropenia en neonatos prematuros

Como ya comentamos las cepas productoras de slime representan más infecciones que colonizaciones. Se asocian a obstrucción y conducen a la falla de tratamientos si no se remueve el shunt.

Una serie de factores de riesgo han sido identificados.

Es importante recordar aquí que el sistema nervioso central (SNC) presenta menor concentración de complemento y disminuida capacidad de opsonización por lo que la fagocitosis es menos eficiente.

Como se comentó al tratar las infecciones asociadas a catéteres, en las superficies extraluminal e intraluminal del mismo, se depositan proteínas y glucoproteínas (fibrina, elastina, fibronectina, colágeno, entre otras) que posibilitarán la adhesión bacteriana y la producción de los componentes de la matriz extracelular para la construcción del biofilm.

Recordamos que en el biofilm las bacterias de la capa planctónica (superficial) son sensibles a los antimicrobianos. No ocurre lo mismo con las bacterias dentro del biofilm, donde las concentraciones de aquellos son menores, es especial de aminoglucósidos y glucopéptidos. Sin embargo una mayor penetración se logra con rifampicina, fluorquinolonas y clindamicina.

Recordamos que las bacterias dentro del biofilm se encuentran en ambientes limitados en nutrientes, pH, que llevan a deficiente metabolismo y a la aparición de fenotipos diferentes y con la CIM aumentada muchas veces a concentraciones muy elevadas.

Varios de los componentes del shunt pueden obstruirse por el biofilm y por productos generados por el huésped como respuesta a ello y ocasionar un síndrome de malfunción valvular.

El biofilm obliga a tratamientos intravenosos con retirada del shunt, colocación de drenaje ventricular externo y de un nuevo shunt.

Como profilaxis se recomienda antimicrobianos y catéteres impregnados con los mismos.

En este tipo de infecciones asociadas a shunt, bacterias de baja patogenicidad como *Propionibacterium acnes*, *Corynebacterium* spp., adquieren vital importancia por la alteración en los mecanismos de defensa inmunológica en el huésped, como por ejemplo la función de neutrófilos y de la respuesta inflamatoria que origina la biocapa.

La meningitis asociada a shunt, es generalmente producida por bajo inóculo de microorganismos.

Las bacterias que están más implicadas son *Staphylococcus* spp. (con un porcentaje de resistencia a la meticilina de alrededor del 50%) .

Las infecciones pueden ser precoces y tienen a *Staphylococcus epidermidis*, que no produce clínica muy evidente, como el principal agente responsable (60 a 70% de incidencia) seguido de SA (13 a 30%).

Los bacilos gramnegativos de frecuente aparición cuando se produce una perforación intestinal por ejemplo, causan enfermedad más severa.

Los estreptococos se asocian con incidencia de 8 a 10%.

Escherichia coli y los estreptococos hemolíticos son los principales responsables de estas infecciones en neonatos, las que se presentan con episodios apnéicos, anemia, hepatoesplenomegalia y rigidez de nuca.

Enterobacterias y bacilos no fermentadores (*Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii*, entre otros) además de *Propionibacterium acnes* se describen últimamente con frecuencia creciente.

Bacterias anaerobias, *Streptococcus* spp. , *Enterococcus* spp. *Bacillus* spp., *Corynebacterium* spp., *Candida* spp., están también asociados, en especial en inmunodeprimidos, pacientes con tratamientos prolongados con esteroides y antimicrobianos y en aquellos sometidos a alimentación parenteral.

Haemophilus influenzae, *Neisseria meningitidis* y *Streptococcus pneumoniae*, son infrecuentes y cuando aparecen se sospecha una meningitis comunitaria concomitante, en la mayoría de los casos.

Con menor frecuencia han sido recuperados aislamientos polimicrobianos.

Algunos expertos diferencian infecciones externas (como heridas infectadas con celulitis) de las internas que no tienen inflamación del epéndimo ni de las meninges y que frecuentemente son indoloras.

Una de las complicaciones más frecuentes y de preocupación en estas infecciones del sistema y que pueden producir severas peritonitis, se producen por el drenaje de LCR infectado al peritoneo o hacia el sistema vascular donde puede conducir incluso a la nefritis por derivación o septicemia.

▪ Como se infectan estas prótesis

- por la colocación de la prótesis, vía endoluminal, durante el acto quirúrgico. La infección aparece a las pocas semanas de la cirugía, infección temprana. Los microorganismos más detectados están

relacionados con la flora de la piel y la flora de la nasofaringe del paciente. Es la vía más frecuente. Son los responsables microorganismos del ambiente nosocomial y del personal de quirófanos.

- por una infección bacteriana con foco a distancia, por microorganismos provenientes de una bacteriemia, contaminación vía hematogénea. Por este mecanismo se produce la mayoría de las infecciones, de aparición tardía, en los SVA.
- por extensión desde la piel, de microorganismos provenientes de la piel adyacente al shunt. Este mecanismo se produce por un contacto directo microorganismo-shunt, ya sean provenientes de heridas, traumatismos y aún por el rascado o las fugas de LCR por defectos en el cierre de la herida quirúrgica. De hecho que la flora que se recupera es de tipo nosocomial o de piel o herida del paciente.

Otra fuente la constituye la flora de la piel que llega en forma retrógrada y extraluminal desde el catéter, cuando las derivaciones son externas. Por el catéter llegan al trépano craneal y al LCR. También pueden acceder en forma intraluminal al manipular el catéter para toma de muestras o para administrar medicamentos.

Los otros factores a tener en cuenta:

- población bacteriana del cuero cabelludo
- perforación del cráneo
- uso de corticoides

Entre los factores de riesgo para la aparición de estas infecciones:

- edades extremas de la vida (prematuridad y ancianidad). En recién nacidos se recomienda el implante hasta la edad de dos semanas si el niño tiene un meningocele
- duración del procedimiento del implante

- manipulación del catéter durante la intervención
- defectos abiertos del tubo neural, traumatismos con fractura craneal y fistula del LCR
- hipertensión intracraneal elevada
- cuidados pre- intra y postcirugía

En los shunts peritoneales la infección se asocia a posiciones decúbitos y/o perforaciones del catéter distal sobre un asa intestinal. Dado este mecanismo, los bacilos gramnegativos son los principales responsables junto a flora mixta aerobia-anaerobia. Son infecciones de aparición tardía y muchas veces lejanas en años del implante.

La incidencia de las infecciones asociadas a shunt fluctúa entre el 1% al 18% en diversas publicaciones.

En general el índice aceptable de infección se ubica con cifras menores del 5% y hasta un 7%. Las diferencias en estas cifras pueden ser debidas a diferencias en las poblaciones estudiadas.

Las infecciones de estos implantes presentan morbilidad y mortalidad importantes. Enfatizamos que la mayoría de ellas se producen principalmente durante la cirugía y por infección de la herida quirúrgica.

Las manifestaciones clínicas en la infección son, la mayoría de las veces , inespecíficas como febrícula, malestar general, alteración del comportamiento, irritabilidad, somnolencia, entre otras y varían según sea el mecanismo patogénico puesto en juego, el tipo de shunt colocado y la virulencia de los microorganismos responsables.

El drenaje del LCR infectado, o la propia infección del catéter distal determinan una respuesta inflamatoria y clínica diferente según su localización

Dado que el LCR infectado de los ventrículos no está en contacto con las meninges los signos meníngeos no son de frecuente aparición, como así también la clásica triada.

Varias son las consecuencias de las infecciones en estos pacientes. La mortalidad y el riesgo de convulsiones son marcadamente mayor con respecto a los que no se han infectado.

Los niños con mielomeningocele y que presentaron ventriculitis luego de la colocación del shunt tienen un coeficiente intelectual inferior si se infectan.

La mortalidad es elevada, entre 10 y 15%. Son los estafilococos los microorganismos más asociados a estas infecciones.

La piel del paciente constituye la fuente principal de infección.

Dada la frecuencia con que el LCR ya está infectado al momento de insertar una derivación, se recomienda cultivar el LCR durante dicho procedimiento.

Las infecciones tardías, que aparecen luego de seis meses de colocado el sistema, tienen a *Staphylococcus epidermidis* como su principal responsable. La fiebre y el dolor en el trayecto de los catéteres de derivación, son manifestaciones frecuentes.

El síndrome de malfunción valvular y la fiebre son las manifestaciones clínicas más frecuentes.

▪ Diagnóstico microbiológico de las infecciones asociadas a sistemas de derivación de LCR

La conducta a seguir cuando se sospecha meningitis asociada a implantes se basa en:

- la búsqueda de signos y síntomas por exploración física y por anamnesis de infecciones en distintas partes del cuerpo, urinarias, respiratorias altas, entéricas y otras, descartando meningismo (rigidez de nuca, fotofobia)
- recuento de leucocitos y fórmula leucocitaria

- punción de la derivación con las precauciones correspondientes evitando sobre- infecciones.
- estudio microbiológico de toda muestra representativa

Para diagnosticar una infección de shunt deben darse algunos requisitos como:

- una clínica compatible con infección
- alteraciones en el LCR
- cultivo positivo en el LCR obtenido del shunt o de sus componentes

El LCR debe obtenerse por punción directa del reservorio de colecciones de LCR abdominales, pleurales u otras, o de un catéter externalizado.

La punción del shunt debe ser cuidadosa asegurando las medidas de asepsia a fin de evitar entrada de microorganismos.

El LCR obtenido debe procesarse para recuento celular, análisis químico a fin de investigar glucosa y proteínas y estudios microbiológicos (tinción de Gram, Z Neelsen y Kinyoun, cultivo en medios para aerobios y anaerobios).

De obtenerse poco volumen, el LCR debe enviarse primero para los estudios microbiológicos. El LCR restante, si lo hay, se envía para los estudios químicos

Es importante tener presente que se han descrito infecciones de shunts con LCR con química y recuento celular normales.

Los signos meníngeos son infrecuentes.

Dependiendo de la localización del catéter distal, aparecerán otras manifestaciones de enfermedad.

Los hemocultivos son positivos en menos de un tercio de los casos y el estudio microbiológico del LCR muestra leucocitos en número menor a 100/ml y la coloración de Gram positiva en el 50% de los casos.

Si el recuento de leucocitos es mayor, la positividad de los cultivos aumenta notoriamente.

A diferencia de lo que sucede con las meningitis bacterianas en pacientes sin estos implantes, en estas infecciones, el diagnóstico serológico por pruebas rápidas, carece de valor, dada la flora involucrada en estas infecciones.

Es importante tener en cuenta que los bacilos gramnegativos que como comentamos producen morbilidad mayor que los estafilococos, muestran también coloración de Gram positiva en casi la totalidad de los LCR estudiados y además son responsables de proteinorraquia elevada y glucorraquia más baja y predominio de neutrófilos en la fórmula leucocitaria.

La punción lumbar, dado que la derivación no funciona por la hidrocefalia obstructiva, está desaconsejada.

Mientras se espera que el LCR vuelva a estar estéril para colocar un nuevo implante, se coloca un drenaje ventricular externo para la administración de antibióticos intraventriculares.

Las muestras a estudiar:

- punta catéter ventricular
- punción reservorio/ LCR (punción reservorio es más sensible que punción LCR)
- punción herida quirúrgica
- líquido obtenido de derivación
- hemocultivos

- extremo distal que va al peritoneo

La metodología para el procesamiento de hemocultivos y de catéteres ya fue comentada en las sesiones correspondientes.

Las punciones deben sembrarse en agar sangre- agar chocolate- caldo tio- glicolato- frasco de hemocultivos y frascos para anaerobios, estos últimos incubados no menos de 14 días.

Algunas preguntas se nos presentarán si los resultados son:

Punta (-) LCR (+) → falso negativo de la punta? contaminación de punción? Si el microorganismo recuperado es *P. acnes* no se puede solucionar (discutir con médico infectólogo). Es de destacar aquí que técnicas de cultivo mejoradas dieron mayor jerarquía a estos hallazgos.

Punta (+) LCR (-) → falso positivo de la punta? infección temprana del dispositivo? antibióticos que negativizaron el LCR pero no la punta ?

Punta (+) LCR (+) → se trata de la misma cepa? A veces utilizando técnicas moleculares se detectan cepas distintas.

Es importante saber que:

- el transporte de las muestras y el procesamiento deben ser muy rápidos.
- el cultivo de los catéteres proximal y distal y de la válvula se realizará en medios aerobios y anaerobios.
- los métodos cuantitativos guardan casi un 100% de coincidencia con los métodos genéticos.
- el cultivo de punta debe ir siempre acompañado de PAS ventricular.
- siempre agregar medios líquidos.
- la tinción de Gram es positiva en el 31%.

- el LCR debe ser procesado en medios aerobios y anaerobios. Los medios anaerobios deben mantenerse en incubación prolongada (no menos de 14 días).
- los cultivos del LCR son positivos en el 62%.
- no está aún demostrado que la mupirocina sea de utilidad en la erradicación de los estafilococos, principales responsables de estas infecciones. Sí son de utilidad conductas como baño y lavado con clorhexidina, corte de pelo y cuidados de asepsia en el lugar de la incisión.
- la rentabilidad de los cultivos del LCR obtenido por punción del reservorio o de los catéteres es más elevada que la de los cultivos del LCR por punción directa ventricular.
- en pacientes con shunts ventriculares, que padecen hidrocefalia obstructiva, debe evitarse la obtención del LCR por punción lumbar.
- los hemocultivos tienen bajo rendimiento en shunt ventrículo-peritoneal.
- siempre deben ser extraídos hemocultivos en especial en los que portan SVA, donde tienen elevado rendimiento.
- la eritrosedimentación, el hemograma y la proteína C reactiva, pueden tener valores normales o levemente elevados.
- solo en pacientes portadores de SVA, es frecuente la leucocitosis con neutrofilia y en general en las infecciones más severas.
- la mayoría de los aislamientos de *P. acnes* en el LCR se logra a los 10-14 días de incubación.
- tanto *P. acnes*, como otras bacterias de baja virulencia como corinebacterias o *Bacillus* spp., deben ser considerados patógenos en estas infecciones, manteniendo contacto constante con el médico tratante.

- ante cultivos negativos con sospecha de infección se debe atender la metodología empleada, dado que con un mal procesamiento de las muestras o el no mantener los tiempos de incubación prolongados, se atenta contra un diagnóstico correcto.
- el tratamiento antimicrobiano previo es también causante de cultivos negativos.
- debe cultivarse toda muestra que pueda ser representativa, como exudación de heridas, abscesos abdominales, siempre investigando aerobios y anaerobios.
- la sonicación de los catéteres mejora el rendimiento de cultivos, al desprenderse partículas de la biocapa con bacterias, que, de otra forma, no se cultivarían.
- la recuperación de enterobacterias y/o anaerobios nos induce a pensar en que el catéter distal está en contacto con material fecal (ya sea por posición decúbito o por una perforación de un asa intestinal).
- *P. acnes*, difteroides, SCN son los microorganismos más conflictivos y los que dan una clínica más solapada que nos llevan a dudar: infección? contaminación?
- ante dudas en la responsabilidad de determinada flora como agentes causantes, es recomendable solicitar una nueva punción como forma de discriminar infección de colonización o contaminación.
- la contaminación se define ante un aislamiento bacteriano único o una coloración de Gram positiva en el LCR, con química normal, de un paciente asintomático.
- la colonización se define como más de un aislamiento o tinción de Gram positiva, a idéntico microorganismo, en repetidas muestras de LCR, con química normal, de un paciente asintomático.

Comentarios finales

▪ En la clínica:

Es importante destacar que el biofilm formado por cualquier mecanismo y sobre cualquier tejido vivo o superficie inerte implantada, actúa como fuente de otra infección, en especial en pacientes inmunocomprometidos.

Ya vimos que la presentación clínica de una infección, en el caso de complicaciones asociadas a un CVC, puede ser desde una infección local hasta un proceso severo con progresión a celulitis causando daño tisular y sistémico.

En el caso de las infecciones relacionadas con dispositivos cardiovasculares, la presentación clínica depende de la localización de la parte infectada del dispositivo y de la virulencia del microorganismo que está involucrado.

Cuando los microorganismos son SA o los estreptococos β -hemolíticos, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida* spp., la clínica es más aguda y de presentación más tórpida llegando al shock, disfunción orgánica y coagulopatía.

Una presentación clínica menos evidente, más sutil, ocurre cuando los dispositivos, en general, fueron infectados con SCN, *P. acnes*, *Corynebacterium* spp., los estreptococos del grupo viridans y el grupo HACEK.

Las consecuencias clínicas tienen variadas manifestaciones, dependiendo de las infecciones asociadas a las bacterias desprendidas de la superficie de la biocapa, la respuesta inmune del huésped frente a la misma y la disfunción del implante.

Por las bacterias que se desprenden de la superficie del biofilm:

- la bacteriemia en el caso de un catéter vascular.
- la endocarditis protésica.
- la endocarditis que ocurre sobre una válvula cardíaca.
- la meningitis en el caso de una derivación ventrículo-peritoneal cuyos principales síntomas son la fiebre, escalofríos y el incremento de los marcadores de la respuesta inflamatoria sistémica(RIS).

Por la respuesta inmune que se dispara en el huésped:

- que lleva a una respuesta inmune local contra la biocapa que lesiona el tejido, que rodea el implante. Esto trae como consecuencia la lisis del hueso periprotésico en infecciones crónicas por prótesis articular o en caso de prótesis mamaria infectada, la formación de tejido fibroso y rígido. El principal síntoma es el dolor y la deformidad como en el caso de la prótesis mamaria infectada. El sistema inmune es ineficaz porque ataca la matriz, no las bacterias y provoca una inflamación dolorosa en la zona periprótesis.

Por la disfunción del dispositivo:

En cualquiera de las manifestaciones mencionadas, los productos de la biocapa y los formados por el huésped, pueden ocasionar obstrucciones de una sonda vesical o de una derivación ventrículo-peritoneal.

▪ **En el tratamiento:**

Si bien el tratamiento sistémico no erradica el biofilm, logra destruir las bacterias que pasaron al torrente sanguíneo.

El inicio se debe realizar con antibióticos (vancomicina y teicoplanina son buenas opciones considerando que la mayoría de estas infecciones se producen por bacterias grampositivas como estafilococos) los que serán mantenidos o sustituidos por antimicrobianos específicos, según informes microbiológicos.

De acuerdo a lo anteriormente comentado es necesario tener presente que la aplicación de diversas estrategias para el control y la prevención de estas infecciones deben ser utilizadas.

Entre ellas, las que se refieren a la infección asociada a catéteres intravasculares, la extracción del catéter es la más efectiva.

Cuando se trata de catéteres intravasculares tunelizados, se recomienda el sellado antibiótico que consiste en instilar en el catéter un anticoagulante y el antimicrobiano en concentración entre 100 y 1000 veces mayor que la CIM del microorganismo involucrado, durante 8 horas diarias durante 10 a 14 días. Gentamicina, levofloxacina, cotrimoxazol, teicoplanina y vancomicina son de elección.

Este procedimiento se aconseja dada que la extracción de estos catéteres es complicada y riesgosa quirúrgicamente.

En el caso de infecciones sobre prótesis articulares, el tratamiento es más agresivo, y consiste en el desbridamiento completo extrayendo todos los materiales infectados, segmento, tejidos desvitalizados y hasta hueso.

Con frecuencia la prótesis debe ser retirada y se debe instaurar un tratamiento antimicrobiano de larga duración para posteriormente reimplantar la prótesis articular.

▪ **En la prevención:**

Dado que los reemplazos articulares son procedimientos habituales y entre ellos el reemplazo de la articulación de cadera el procedimiento más antiguo, todo lo que podamos comentar sobre cuidados y prevención de infección de estas prótesis, se hace extensivo a otros dispositivos implantados.

En la prevención de estas infecciones, existen:

- medidas generales, que involucran todas las medidas asociadas a las precauciones universales en la atención de pacientes.
- medidas individuales, relacionadas con el paciente, que involucran control y cuidado de las enfermedades de base, como diabetes, artritis reumatoide, inmunosupresión de diversas causas y el cuidado de los factores de riesgo en estos pacientes como la obesidad, la desnutrición, la edad, la internación prologada, y la identificación de probables focos a distancia o no, de infección.
- medidas relacionadas con el acto quirúrgico de colocación del implante, como las asociadas al cuidado y preparación de la piel del paciente, al medio ambiente del quirófano, a la técnica y cuidado del manejo de la misma por el personal que interviene en el procedimiento y a la instauración de las normas de profilaxis antibiótica quirúrgica, las que deben ser respetadas en tipo de antimicrobiano, dosis y tiempo del uso del mismo.
- medidas dirigidas al diagnóstico y tratamiento de cualquier foco infeccioso a fin de evitar la diseminación hematogena del mismo.
- medidas dirigidas a la prevención de úlceras de decúbito y supervisión de los pacientes que serán sometidos a canalizaciones venosas y del tracto urinario.

▪ **En el laboratorio:**

- En las **infecciones asociadas a prótesis articulares**, las manifestaciones más frecuentes en estas infecciones son el dolor constante, eritema, calor, induración de la piel.
- En el caso de las infecciones de las prótesis óseas y articulares, la aspiración del líquido articular o el cultivo del tejido obtenido por artrotomía es de fundamental importancia.
- El aumento de leucocitos, (en especial PMN) alto contenido proteico y la disminución de la glucosa en el líquido articular es altamente sospechoso.
- Si bien, otros parámetros en el examen histopatológico del tejido periprotésico, pueden ser sospechosos de infección, solo el aislamiento del microorganismo patógeno responsable, mediante la artrocentesis o desbridamiento quirúrgico, confirma la infección.
- Ante la sospecha de **infección relacionada a catéter** debe ser corroborada con cultivos de sangre de vías periféricas y del catéter.
- Actualmente, ante un resultado positivo, se inicia tratamiento con antimicrobianos y si desaparecen las bacterias en los cultivos de sangre posteriores, se continúa con el esquema antibiótico hasta completar 4 a 5 semanas, criterio éste distinto del mantenido tiempo atrás que obligaba el retiro del catéter ante un cultivo de sangre positivo.
- Sí debe ser retirado el catéter cuando el cultivo de sangre desarrolla hongos, lo que habla de una infección grave.
- En el caso de las **infecciones asociadas a las válvulas protésicas cardíacas**, el diagnóstico definido de la EIVP sólo se puede establecer con certeza por el estudio histológico y microbiológico de las vegetaciones obtenidas en el acto quirúrgico o en la necropsia.
- A los fines clínicos, junto a estudios clínicos y ecocardiográficos, el estudio por hemocultivos es de utilidad.

- En el caso de **infecciones asociadas a prótesis vasculares**, las manifestaciones clínicas, las que dependen del lugar anatómico de implantación, orientan el diagnóstico.
- Los hemocultivos son generalmente negativos dado que la infección no afecta a la luz de la prótesis.
- El cultivo de la prótesis o del material de la colección periprotésica obtenido por punción-aspiración guiada por imágenes o tomada durante la cirugía de reparación, es de utilidad diagnóstica.
- Es importante recordar aquí que los microorganismos están dentro de la biocapa, por lo que se recomienda su extracción por sonicación, por ejemplo.
- En el caso de las **infecciones asociadas a los dispositivos de electroestimulación cardíacos**, a pesar que la presentación clínica de la infección precoz o tardía del bolsillo del generador ayuda al diagnóstico, siempre se debe obtener muestras del exudado local y tomas de hemocultivos para estudios microbiológicos.
- La endocarditis asociada a estos dispositivos se diagnostica, por lesiones compatibles, (tipo de vegetaciones o trombos adheridos al electrodo intracardíaco), estudios ecocardiográficos y hemocultivos positivos.
- Recordar que SA puede desarrollar en forma pobre, tardía, en medios de cultivo habituales en forma de colonias pequeñas, puntiformes, llamadas variantes puntiformes, o SCV, por lo que **es de importancia mantener en estufa a 35°C los cultivos en placa por un tiempo no inferior a 7 días.**
- Recordar que el caldo tioglicolato debe cultivarse por un tiempo no inferior a 7 días y, en el momento de observarse desarrollo, una alícuota debe ser transferida a placas (agar sangre, agar chocolate). Se investigarán aerobios o anaerobios facultativos de las alícuotas obtenidas de la porción más superficial, y anaerobios de aquella obtenida del fondo del tubo.

- Recordar suplementar los medios de cultivos para recuperar variantes nutricionales e incorporar medios para hongos y anaerobios estrictos.
- Recordar que la producción de slime o limo es fácil de demostrar:

El microorganismo problema se inocula en 5 ml de caldo tripteína soya, contenidos en un tubo de vidrio, y se incuba una noche a 35°C en ambiente de aire. Después de 18 a 24 hrs de inoculación, el caldo se vuelca con cuidado y se busca una capa delgada que se forma en la pared interior del tubo.

El agregado de safranina al 0,25% o azul de toluidina O, al medio de cultivo poco antes de la decantación, dará una apariencia más contrastante al limo formado.

Una película adherente visible en la pared del tubo se considera evidencia de la producción de slime. La ausencia de la película o la mera presencia de un anillo en la interfase aire-líquido se interpreta como resultado negativo.

Podríamos sintetizar algunas características de estas infecciones asociadas a los biofilms:

- están provocadas, en general, por microorganismos del propio paciente.
- la elevada incidencia de estas infecciones se asocian a un elevado consumo de antibióticos, y en el uso cada vez más frecuente de los biomateriales que conllevan infecciones articulares, de válvulas cardíacas, de prótesis mamarias, de derivaciones ventrículo-peritoneales, entre las más detectadas.
- en especial todo implante protésico es avascular y es recubierto luego por proteínas (elastina, fibronectina, fibrinógeno, etcétera), necesarios para la adherencia.
- las bacterias se adhieren a las superficies del implante ya sea recubierto de proteínas o virgen de ellas.

- una biocapa bacteriana es una comunidad de microorganismos adheridos a su superficie y envueltos dentro de una matriz formada por los propios microorganismos y por el huésped.
- en la adherencia de los microorganismos a una superficie intervienen interacciones entre la superficie de los mismos, la superficie del sustrato y el medio ambiente que los rodea.
- de lo anterior inferimos que en la patogenicidad microbiana intervienen diversos factores del huésped, del implante y del microorganismo.
- los microorganismos principalmente involucrados son los SCN y los SA y en la adherencia, primer paso en el establecimiento de cualquier tipo de infección, se identificaron dos tipos de mecanismos:
 - en SA la adherencia está, en parte, mediada por una serie de adhesinas (adherencia específica) que pertenecen a la familia de proteínas MSCRAMM, (proteínas unidas covalentemente al peptidoglicano de la pared celular que se expresan en la superficie de los microorganismos). Estas adhesinas tienen sus receptores en diversas proteínas del huésped como fibrinógeno, fibronectina y otros. Ya hemos comentado las condiciones de expresión de MSCRAMM y algunos genes que la regulan.
 - *S. epidermidis* produce menos proteínas MSCRAMM que SA, pero mediante estas adhesinas y fundamentalmente mediante la unión directa (fuerzas de Van der Waals, interacciones hidrofóbicas, entre otras ya comentadas) de los estafilococos sobre el dispositivo (adherencia inespecífica) inician la formación de la biocapa, como en todos los SCN.
- Una vez que los microorganismos alcanzan la superficie del implante, la formación de la biocapa y la aparición de manifestaciones clínicas dependerá del equilibrio entre la virulencia de los microorganismos y los mecanismos de defensas del huésped.

- Es importante recordar que el inóculo de microorganismos necesarios para desarrollar una infección es hasta 10.000 veces menor cuando se encuentran con un material extraño.
- las biocapas crecen sobre cualquier superficie en contacto con líquido: catéteres intravasculares- prótesis- dientes- mucosas- implantes- y otros lugares de la naturaleza.
- el biofilm se comporta como un organismo pluricelular con microorganismos organizados, sin respuesta a los antimicrobianos y sin respuesta defensiva del huésped.
- en estas infecciones la unión a los dispositivos médicos de los microorganismos formadores de biocapa, es irreversible, lo que hace, muchas veces, necesaria la extracción del dispositivo junto al uso de antimicrobianos.
- las bacterias dentro del biofilm resisten a los antibióticos, ya sea porque los mismos no llegan o por encontrarse con metabolismo disminuido, la multiplicación bacteriana disminuye, lo que dificulta tratamientos con antimicrobianos, en especial aquellos que actúan sobre pared como β -lactámicos y glucopéptidos y en menor medida también de los que actúan sobre síntesis proteica. A ello se agrega, en el caso de vancomicina (tratamiento útil frente a SAMR en bacterias planctónicas) la pobre difusión por ser una molécula de peso molecular elevado.
- destacamos de lo señalado antes, la persistencia de una población bacteriana que logra sobrevivir en dichas condiciones, “bacterias persistentes” las que son “tolerantes” a elevadas concentraciones del antimicrobiano. Se trata de una subpoblación de bacterias en la biocapa que al resistir a los antimicrobianos y con defensas disminuidas del huésped, vuelven a formar biocapa y son las responsables de la cronicidad y siembras a distancia.
- se observó que quinolonas como ciprofloxacina y levofloxacina, difunden libremente en la biocapa, no así aminoglucósidos (carga

positiva) que son retenidos por la biocapa (polisacáridos con carga negativa) lo que los hace no efectivos.

- algunas propuestas para el tratamiento de estas infecciones, muchas con promisorios resultados:
 - uso de antimicrobianos combinados.
 - uso de concentraciones subinhibitorias de antimicrobianos de tal forma de impedir la formación del biofilm en la superficie del dispositivo.
 - incorporación de un antimicrobiano sobre el dispositivo (con riesgo de selección de mutantes resistentes).
- se trata de infecciones cuyo diagnóstico microbiológico es dificultoso, dado que la permanencia de las bacterias adheridas al dispositivo, imposibilita el cultivo por técnicas habituales.
- el sistema inmune del huésped es ineficaz.
- el tratamiento, en muchos casos, consiste en retirar el dispositivo infectado.
- lo anterior acarrea elevada morbilidad (asociada al número de pacientes que sufren alguna complicación relacionada con la manipulación al retirar el dispositivo y colocar uno nuevo) y elevado costo económico para el paciente.
- existen en la actualidad estrategias en estudio dirigidas a la búsqueda de nuevas alternativas al tratamiento antibiótico. Por lo comentado adquieren relevancia las nuevas estrategias en desarrollo:
 - detección de material genético bacteriano en los dispositivos implantados, tanto en los retirados como en los no retirados, usando métodos que bloqueen la expresión de genes que controlan la adherencia, por ejemplo.

- uso de sustancias no antibióticas capaces de bloquear a nivel genético la formación de biofilms por parte de las bacterias implicadas.
- uso de inhibidores del *quorum sensing* mediante bloqueantes de los mensajeros involucrados en dicho mecanismo.
- interferencia bacteriana usando especies no patógenas.
- fabricación de catéteres que dificulten la colonización y la infección del mismo.
- fabricación de dispositivos antiadherentes muchos con éxito y otros no.
- fabricación de “polímeros bioespecíficos”, recubiertos con anticuerpos antifibronectina a fin de disminuir la adherencia y colonización bacteriana.

Como nos dice el Dr. del Pozo:

Las bacterias han crecido en biofilms durante millones de años, como parte de una estrategia exitosa para colonizar el planeta y la mayoría de los seres vivos. Nosotros sólo hemos reconocido esta forma de vida de las bacterias en las últimas dos décadas. La formación de biofilms representa un problema para aquellos pacientes que requieran un implante.

▪ Bibliografía Consultada

- AGUADO J.M., HERNÁNDEZ ALFONSO J. Infecciones en pacientes portadores de marcapasos. Cuadernos Técnicos N° 5 2000; 3-16.
- ALMIRANTE B., MIRÓ M. Infecciones asociadas a las válvulas protésicas cardíacas, las prótesis vasculares y los dispositivos de electroestimulación cardíacos. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 2008; 26(10):647-64.
- AMERICAN HEART ASSOCIATION. Endocarditis bacteriana. <http://www.americanheart.org/presenter.jhtml?identifier=3041073>.
- ARIZA J., EUBA G., MURILLO O. Infecciones relacionadas con las prótesis articulares. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 2008; 26(6):380-90.
- ARIZA J., LEÓN C., RODRIGUEZ NORIEGA A., FERNÁNDEZ MONDÉJAR E. Conclusiones de la conferencia de consenso en infecciones por catéter. *Medicina Intensiva* 2003; 27 (9):615-20.
- BADDOUR L, WILSON W. Infecciones de prótesis valvulares y otros dispositivos cardiovasculares. En: *Enfermedades Infecciosas. Principios y Práctica- Sexta edición.* Mandell, Bennett, Dolin (Eds). Edición en Español. Elsevier España. S.A. 2006.
- BARON E.J. (Ed). *Cumitech 1C: Blood Cultures IV.* Washington, DC: ASM Press; 2005.
- BARZA M., PAVAN P.R., DOFT B.H., WISNIEWSKI S.R., WILSON L.A., HAN D.P., KELSEY S.F. for the Endophthalmitis Vitrectomy Study Group. Evaluation of Microbiological Diagnostic Techniques in Postoperative Endophthalmitis in the Endophthalmitis Vitrectomy Study. *Arch. Ophthalmol.* 1997; 115:1142-50.
- BEEKMANN S., HENDERSON D. Infecciones causadas por dispositivos intravasculares percutáneos. En: *Enfermedades Infecciosas. Principios y Práctica- Sexta edición.* Mandell, Bennett, Dolin (Eds). Edición en Español. Elsevier España. S.A. 2006.
- BERGALLO C. Infección de prótesis de cadera: Paradigma de las infecciones de prótesis articulares”. *Rev. Chil. Infect.* 2000; 17(2):87-91.
- BOUZA E., BURILLO A., MUÑOZ P. Catheter-related infections: diagnosis and intravascular treatment. *Clin. Microbiol. Infect.* 2002; 8: 265–74.

- BOUZA E., LIÑARES J., PASCUAL A. Diagnóstico microbiológico de las infecciones asociadas a catéteres intravasculares. En: Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Cercenado E., Cantón R. (Eds). 2004; N° 15, 2ª edición.
- Calidad de vida en reumatología. Artritis Séptica http://www.reumaonline.com.ar/enfermedades/Artritis_infec Septica.htm
- CAMPOS STÓWAS J., GIANINNI DAVIS R., LEAL P., OLIVARES DE LA FUENTE J.C., RODRÍGUEZ J., CASTRO WIREN HERRERA V. Aspectos quirúrgicos en el uso del catéter de Tenckhoff. Rev. Cir. Infantil. 2002; 12 (3):181-4.
- CASAROLI-MARANO R.P., ADÁN A. Infecciones oculares asociadas a los implantes oculares. Enferm. Infecc. Microbiol. Clin. 2008; 26(9):581-8.
- CASTILLO DOMÍNGUEZ J.C., ANGUIA SÁNCHEZ M.P., RAMÍREZ MORENO A., SILES RUBIO J.R., MESA RUBIO D., MUÑOZ CARVAJAL I., CONCHA RUIZ M., VALLÉS BELSUÉ F. Características clínicas y pronosticas de la endocarditis infecciosa en el anciano. Rev. Esp. Cardiol. 2000; 53(11): 1437-42.
- CÁTEDRA DE BACTERIOLOGÍA. CURSO INFECCIONES BACTERIANAS: EL LABORATORIO Y LA CLÍNICA. FCEQYN. UNIVERSIDAD NACIONAL DE MISIONES. 2006.
- CISNEROS-HERREROS J.M., COBO-REINOSO J., PUJOL-ROJO M., RODRÍGUEZ-BAÑO J., SALAVERT-LLETÍ M. Guía para el diagnóstico y tratamiento del paciente con bacteriemia. Guías de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Enferm Infecc Microbiol Clin 2007; 25(2):111-30.
- COBO REINOSO J. El reto de la prótesis vascular infectada ¿Es posible el éxito sin su retirada? Rev Clin Esp 2007; 207(7):315-6.
- CONEN A., WALTI L.N., MERLO A., FLUCKIGER U., BATTEGAY M., TRAMPUZ A. Characteristics and treatment outcome of cerebrospinal fluid shunt-associated Infections in adults: a retrospective analysis over an 11-year period. Clin Infect Dis 2008; 47(1):73-82.
- CHIQUET C., BENITO Y., CROIZE J., ROMANET J-P, VANDENESCH F., MAURIN M. Diagnostic microbiologique des endophtalmies aiguës. J. Fr. Ophthalmol. 2007; 30 (10):1049-59.

- CHRISTENSEN C.D., SIMPSON W.A., BISNO A.L., BEACHEY E.H. Adherence of slime producing strains of *Staphylococcus epidermidis* to smooth surfaces. *Infect Immun* 1982; 37:318-26.
- DAS T., DOGRA M.R., GOPAL L., JALALI S., KUMAR A., MALPANI A., NATARAJAN S., RAJEEV B., SHARMA S. Postsurgical endophthalmitis: Diagnosis and Management. *Indian. J. Ophthalmol.* 1995; 43:103-16.
- DE PAULIS A. Catéteres peritoneales permanentes en diálisis peritoneal. Reunión Científica Anual SADEBAC. Infecciones asociadas a prótesis. Diagnóstico microbiológico. 2005. Buenos Aires.
- DEL POZO J.L., PATEL R. The challenge of treating biofilm-associated bacterial infections *Clin Pharmacol Ther* 2007;82(2):204-9.
- DEL POZO J.L. Implantación de dispositivos médicos e infecciones difíciles de diagnosticar y tratar. *Noticias.cun*, enero-marzo 2008, pp 26-27. <http://www.cun.es/fileadmin/Servicios%20Generales/.../063.26-27.pdf>.
- DÍAZ HERNÁNDEZ O.L. Factores de riesgo en la infección protésica vascular. *Rev. Cubana Hig. Epidemiol.* 2000; 38(1):29-36.
- ESPEJO J.L.M. Catéteres peritoneales. Tipos de catéteres. Protocolo de implantación de catéteres peritoneales del grupo de D.P. de Andalucía <http://www.revistaseden.org/files/TEMA%205.%20CATETERES%20PERITONEALES.pdf>
- ETXEBARRÍA J., LÓPEZ-CERERO L., MENSA J. Diagnóstico microbiológico de las infecciones oculares En: *Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.* Cercenado E., Cantón R. (Eds). 2004, N° 31, 2ª edición.
- FARIÑAS M.C., GARCÍA-PALOMO J.D., GUTIÉRREZ-CUADRA M. Infecciones asociadas a los catéteres utilizados para la hemodiálisis y la diálisis peritoneal. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 2008; 26(8):518-26.
- FICA A., LLANOS M., LUZORO A., DE LA BARRERA C., MIRANDA G. Infecciones en prótesis articulares. *Rev. Chil. Infect.* 2000; 17(2):115-21.
- FICA A. Y GRUPO DE CONSENSO. Consenso nacional sobre infecciones asociadas a catéteres vasculares centrales. *Rev. Chil. Infect.* 2003; 20 (1): 39-40.

- GALLO J., KOLÁR M., RADEK NOVOTNÝ R., ŘIAKOVÁ P., TICHÁ V. Pathogenesis of prosthesis-related Infection. Biomed. Papers 2003; 147(1):27-35.
- GARCÍA LOBOGUERRERO F. Infecciones asociadas a catéteres venosos centrales en la unidad de cuidado intensivo pediátrico. Rev. CES Med. 2008; 22(2):77-84.
- GARCÍA P., IRRIBARRA L., RAMÍREZ V., CERVILLA V., DE LA BARRA L., MONTIEL F., ORTIZ C., JACOBELLI S. Rendimiento del estudio microbiológico en el diagnóstico de la infección osteo-articular. Rev. Chil. Infect. 2000; 17(2): 101-8.
- GARCÍA-PONT J., BLANCH-FALP J., COLL-COLELL R., ROSELL-ABAURREA F., TAPIZ-REULA A., DORCA-BADÍA E., MASABEU-URRUTIA A., MARTÍN-URDA A., BARRUFET-BARQUE P., FORCE-SANMARTÍN L. Y GRUPO DE ESTUDIO DE LA INFECCIÓN DE PRÓTESIS. Infección de prótesis articulares: estudio prospectivo en 5 hospitales de Cataluña. Enferm. Infecc. Microbiol. Clin. 2006; 24(3):157-61.
- JIMÉNEZ-MEJÍAS M.E. Y GARCÍA-CABRERA E. Infecciones relacionadas con los sistemas de drenaje de líquido cefalorraquídeo. Enferm. Infecc. Microbiol. Clin. 2008;26(4):240-51
- GOITI J., GALLO I. Cirugía de la endocarditis valvular activa Rev. Esp. Cardiol. 2001; 54: 259-60.
- GRAZIANI C., GIARDINI F., VANA M., ATTISANO C., GRIGNOLO F.M. Thirty-Six Cases of Endophthalmitis. Microbiological Considerations. Ann. Ophthalmol. 2005; 37 (4): 259-65.
- GUIO L., SARRIA C., DE GAMALLO C., DUARTE J. Endocarditis crónica sobre válvula protésica por *Propionibacterium acnes*: una causa insospechada de disfunción protésica. Rev. Esp. Cardiol. 2009; 62(2):167-77.
- HUERTA GARCIA G., DIAZ RAMOS R.D., MENDOZA GUEVARA L., AGUILAR KITSU A., SOLORZANO SANTOS F., MIRANDA NOVALES M.G. Análisis epidemiológico de microorganismos aislados en peritonitis asociada a diálisis peritoneal, de 1997 a 2003, en el Hospital de Pediatría. Enfermedades Infecciosas y Microbiología 2005. Volumen 25, Numero 1, enero-marzo. <http://www.amimc.org.mx/revista.htm>.

- JOVER SÁENZ A., BARCENILLA GAITE F., TORRES PUIG GROS J., MAS ATANCE J., GARRIDO CALVO S., PORCEL PÉREZ J.M. Infección de prótesis total de rodilla y cadera. Epidemiología descriptiva, terapéutica y evolución en un hospital de segundo nivel durante 10 años. An. Med. Interna (Madrid) 2007; 24(1):19-23.
- KUO-WEI WANG, WEN NENG CHANG, TENG-YUAN SHIH, CHI-REN HUANG ET AL. Infection of Cerebrospinal Fluid Shunt: Causative Pathogens, Clinical Features and Outcomes. Jpn. J. Infect. Dis. 57, 44-48, 2004.
- LASA I., DEL POZO J.L., PENADÉS J.R., LEIVA J. Biofilms bacterianos e infección. An. Sist. Sanit. Navar. 2005; 28 (2): 163-75.
- LEE K., CHONG Y., SHIN H.B., KIM Y.A., YONG D., YUM J.H. Modified Hodge and EDTA-disk synergy tests to screen metallo- β -lactamase-producing strains of *Pseudomonas* and *Acinetobacter* species. Clin. Microbiol. Infect. 2001; 7(2):88-102.
- LEVY W. Manual protésico: El cuidado de la piel determina la comodidad protésica. In motion 2000; Vol. 10 N°1. http://www.amputee-coalition.org/spanish/inmotion/jan_feb_00/skin.html.
- LÓPEZ RODRÍGUEZ R., RODRÍGUEZ FRAMIL. M., HERMIDA AMEJEIRAS A., LADO LADO F.L. Endocarditis del marcapasos. An. Med. Interna 2006; 23(4): 187-92.
- LOZA FERNÁNDEZ DE BOBADILLA E., PLANES REIG A., RODRÍGUEZ CREIXEMS M. Hemocultivos. En: Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Cercenado E., Cantón R. (Eds). 2004; N° 3a, 2ª edición.
- MANUEL E. JIMENEZ-MEJIAS Y EMILIO GARCIA-CABRERA. Infecciones relacionadas con los sistemas de drenaje de líquido cefalorraquídeo. Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla España. Enferm. Infecc. Microbiol. Clin. 2008; 26(4)240-51.
- MANUAL MERCK. Capítulo 53. Infecciones de los huesos y de las articulaciones. 2005 Merck Sharp & Dohme de España, S.A http://www.msd.com.mx/publicaciones/mmerck_hogar/seccion_05/seccion_05_053.html.

- MARENCO J.L., CORZO J. Infección de prótesis articular. ¿Cuándo sospecharla? Reumatol. Clin. 2008; 4 Supl. 3:7-12.
- MARTÍNEZ-VÁZQUEZ C., SOPEÑA B., OLIVEIRA I., BOUZAS R., ENCISA J., OCAMPO A., GALLEGU C., BORDÓN J. Infección asociada a prótesis vascular: manejo exitoso sin retirada de prótesis Rev. Clin. Esp. 2007; 207(7):317-21.
- Medicina Geriátrica. Manejo racional de infecciones en articulaciones protésicas. 2005. <http://www.medicinageriatrica.com.ar>
- MOLINA-CABRILLANA J., CHIRINO CABRERA A., RODRÍGUEZ-ÁLVAREZ J.P., NAVARRO-NAVARRO R., LÓPEZ-CARRIÓ I., OJEDA-GARCÍA I., BOLAÑOS-RIVERO M. Efecto de la vigilancia sobre la tasa de infección de la herida quirúrgica en prótesis de cadera y rodilla. Rev. Clin. Esp. 2007; 207(8):388-93.
- MORALES GUERRERO O.J, HERRERA ORTIZ G., PÉAREZ TORRES J., MATEUS LUGO R.E. Infecciones en reemplazos primarios totales de cadera Hospital Universitario Clínica San Rafael 1999-2004. Rev. Col. de Or. Tra. 2007; 21(1): 52-66.
- NICOLA F. Infecciones Relacionadas a Lentes Intraoculares. Reunión Científica Anual SADEBAC. Infecciones asociadas a prótesis. Diagnóstico microbiológico. 2005. Buenos Aires.
- NICOLA F. El laboratorio microbiológico en queratitis y endoftalmitis. La Gaceta. pp 18-22.
- ORTEGA J.R., GARCÍA A., MEDINA A., CAMPOAMOR C. Endocarditis protésica precoz de gran agresividad por *S. epidermidis* Rev. Esp. Cardiol. 2002; 55(3):315-8.
- PACUAL A. Aspectos microbiológicos de las infecciones asociadas a biomateriales. Enferm. Infecc. Microbiol. Clin. 2001; 19:459-61.
- PEDRARI S.C. *Estafilococos coagulasa* negativa: el enemigo silente. Rev. Arg. Microbiol. 2007; 39:1-3.
- RAAD I. Management of intravascular catheter-related infections. JAC 2000; 45: 267-70.

- RAAD I., HANNA H.A., ALAKECH B., CHATZINIKOLAOU I., JOHNSON M.M., TARRAND J. Differential time to positivity: a useful method for diagnosing catheter-related bloodstream infections. *Ann. Intern. Med.* 2004; 140(1):18-25.
- RANGEL FRAUSTO S. (COORDINADOR). 1er consenso nacional sobre uso de antibióticos en peritonitis secundaria a diálisis peritoneal continua ambulatoria (DPCA). *Enfermedades Infecciosas y Microbiología* 2005. Volumen 25, Numero 3, julio-septiembre <http://www.amimc.org.mx/revista.htm>.
- REIMER L.G, WILSON M.L., WEINSTEIN M.P. Update on detection of bacteremia and fungemia. *Clin. Microbiol. Rev.* 1997; 10(3): 444-65.
- RENALINFO. Possible problems with peritoneal dialysis. (2006) http://mexico.renalinfo.com/bin/wc_printpage_ext.ipl?u=http://mexico.renalinfo.com.
- RIVAS MARTÍN R., SÁNCHEZ MARTÍN M.I. Diálisis peritoneal. 2007. <http://www.eccpn.aibarra.org/temario/seccion9/capitulo143/capitulo143.htm>.
- RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ J.M., PASCUALA A. Actividad de los antimicrobianos en biocapas bacterianas. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 2008; 26(2):107-14.
- SÁNCHEZ HERNÁNDEZ A. Infección de Prótesis Vasculares. En: Poblete, R. *Patología Arterial y Venosa*. Sociedad de Cirujanos de Chile. Yuri A. (Ed). 1994; pp. 621-633. Santiago, Chile.
- SÁNCHEZ RODRIGUEZ A., DOMÍNGUEZ RIVAS M.J., SÁNCHEZ HEREDIA A. Capítulo 1.7. Endocarditis infecciosa: Endocarditis sobre válvula protésica. En: *Principios de Urgencia, Emergencia y Cuidados Críticos*. Edición Electrónica. Gil Cebrián J, Díaz-Alersi, Rosety R., Coma M.J, Gil Bello D. (Eds). UniNet. España. <http://tratado.uninet.edu/c010703.html>.
- SANTOIANNI J.E., PREDARI S.C., VERON D., ZUCCHINI A., DE PAULIS A.N. Peritonitis en diálisis peritoneal: características microbiológicas y patrones de infección a lo largo de 15 años en un hospital universitario en Argentina. *Rev. Argent. Microbiol.* 2008; 40(1):17-23.
- SOCIEDAD ESPAÑOLA DE QUIMIOTERAPIA, SOCIEDAD ESPAÑOLA DE CIRUGÍA ORTOPÉDICA Y TRAUMATOLOGÍA. Consenso: Diagnóstico, tratamiento y prevención de la infección de prótesis articulares. *Rev. Esp. Quimioterap.* 2003; 16 (4): 467-78.

- SOLA V., PARDO J., BIANCHI M., RICCI P., GUILOFF E. Mallas protésicas con dispositivo en la corrección del prolapso genital. *Rev. Chil. Obstet. Ginecol.* 2007; 72(1):38-44.
- SORIANO A. Significado clínico de la resistencia antimicrobiana de las biocapas. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 2007; 25(7):423-4.
- TORAL REVUELTA J.R. Capítulo VIII: Sepsis, fiebre prolongada e infección por catéter. En: *Protocolos Enfermedades Infecciosas. Sociedad Española de Medicina Interna.* 2004, pp. 241-259.
- TORPY J.M., BURKE A.E., GLASS R.M. JAMA patient page. Heart valve infections. *JAMA.* 2007; 297(12):1396.
- U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH. NATIONAL INSTITUTE OF DIABETES AND DIGESTIVE AND KIDNEY DISEASES. Métodos de tratamiento para la insuficiencia renal: HEMODIÁLISIS. NIH Publication No. 07-4666S Julio 2007. <http://kidney.niddk.nih.gov/Spanish/pubs/hemodialysis/>.
- VILA J., SORIANO A., MENSA J. Bases moleculares de la adherencia microbiana sobre los materiales protésicos. Papel de las biocapas en las infecciones asociadas a los materiales protésicos. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 2008; 26(1):48-54.
- VILLALOBOS ESCOBAR S.G. Cuidados y generalidades sobre catéteres venosos centrales. *Rev. Enferm. IMSS* 2003; 11(1):29-34.
- YONG D., LEE K., YUM J.H., SHIN H.B., ROSSOLINI G.M., CHONG Y. Imipenem-EDTA disk method for differentiation of metallo- β -lactamases-producing clinical isolates of *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. *J. Clin. Microbiol.* 2002; 40(10):3798-3801.
- ZUCCHINI A., SANTOIANNI J. Accesos vasculares en hemodiálisis. Reunión Científica Anual SADEBAC. Infecciones asociadas a prótesis. Diagnóstico microbiológico. 2005. Buenos Aires.

**ANEXO:
PROCEDIMIENTOS PARA DIVERSOS
ENSAYOS DE LABORATORIO**

▪ **Coloración de Giemsa**

Principio de la técnica: Se basa en la distinta afinidad que demuestran las células y sus componentes a los distintos colorantes incluidos en el colorante de Giemsa, que permite una coloración diferencial.

Composición: El colorante de Giemsa es un colorante compuesto por varios pigmentos: Azul de metileno, colorante metacromático, como tinte básico y eosina como tinte ácido, lo que otorga una amplia gama de colores.

El pH debe encontrarse entre 6.4 y 6.9, se logra con la dilución 1/10 con agua de canilla.

Preparación de la muestras a observar: Los especímenes deben ser fijados previamente con metanol 99,98%.

Procedimiento:

- Realizar el extendido como se indica en la imagen.

- Dejar secar a temperatura ambiente, no acelerar este proceso para no alterar las estructuras.
- Fijación: Cubrir con alcohol metílico durante 5 minutos.
- Enjuagar con agua corriente.
- Coloración: Cubrir con colorante de Giemsa (diluido 1/10 con agua de canilla) por 15 minutos.
- Enjuagar con agua corriente.
- Dejar secar y observar al microscopio con objetivo de inmersión.

▪ Coloración de Gram

Principio de la técnica: Coloración diferencial ampliamente utilizada en bacteriología que permite la separación de las bacterias en dos grandes grupos: bacterias grampositivas y gramnegativas atendiendo a la distinta composición en su pared celular.

Composición: Colorante cristal violeta.

Solución A:

Cristal violeta..... 20 g
Etanol (95%) 200 ml

Solución B:

Oxalato amónico..... 8 g
Agua destilada 800 ml

Solución de lugol

Iodo resublimado 1 g
IK 2 g
Agua destilada hasta 300 ml

Alcoholacetona:

Alcohol 96°	80 ml
Acetona.....	20 ml

Solución de Safranina

Solución de safranina en etanol (95%).....	10 ml
Agua destilada	90 ml

Preparación de la muestras a observar: Preparar sobre portaobjetos, dejar secar y fijar al calor pasando el extendido tres veces por la llama del mechero de Bunsen.

Procedimiento:

- Cubrir con cristal violeta 30 segundos.
- Lavar suavemente con agua corriente.
- Cubrir con solución de lugol 30 segundos.
- Lavar con agua corriente.
- Decolorar gota a gota con alcohol-acetona (inclinarse el extendido de manera que las gotas se escurran y se visualice la pérdida de color, la decoloración se completa con la última gota que arrastre colorante, este paso es crítico).
- Lavar con agua corriente.
- Cubrir con solución de safranina 30 segundos.
- Lavar con agua corriente.
- Dejar secar y observar con aumento de inmersión.

▪ Agar Chocolate con Base Columbia

Fundamento: Este medio utiliza como base al Agar Columbia. El agregado de hematías a la base fundida al elevar la temperatura, lisa parcialmente los glóbulos rojos. Esto da al medio su habitual color pardo chocolate. El Agar chocolate es un medio destinado principalmente al aislamiento muchos otros microorganismos exigentes. El Agar chocolate aporta al medio elementos para el crecimiento como los factores V y X

Fórmula:

Polvo Agar Columbia	40 gr/lt
Agua destilada estéril	1000 ml
Sangre de carnero desfibrinada (80°).....	5 %

Preparación:

- Disolver el agar Columbia.
- Enfriar hasta 45°C.
- Añadir sangre de carnero estéril desfibrinada al 5%.
- Colocar en un Baño María a 80°C.
- Agitar hasta que se vea la aparición de color chocolate.
- Enfriar a 50°C.
- Fraccionar en placas de Petri.

Conservación: a 4°C- 8°C.

▪ Agar Chocolate con Isovitalex

Dejar enfriar aproximadamente a 50°C y agregar Isovitalex al 1% (concentración final).

▪ Agar EMB Levine

Fundamento: En este medio desarrollan todas las especies de la familia *Enterobacteriaceae*. Posee la característica de medio selectivo de enterobacterias y otras especies de bacilos Gram negativos. La diferenciación entre organismos capaces de utilizar la lactosa y/o sacarosa, y aquellos que son incapaces de hacerlo, está dada por los indicadores eosina y azul de metileno; los que ejercen un efecto inhibitorio sobre muchas bacterias Gram positivas. *Escherichia coli* presentan un característico brillo metálico. Las cepas que utilizan la lactosa poseen centro oscuro con periferia azulada o rosada, mientras que las que no lo hacen son incoloras.

Fórmula:

Peptona	10	gr/lt
Lactosa	10	gr/lt
Fosfato dipotásico.....	2	gr/lt
Agar	15	gr/lt
Eosina	0,4	gr/lt
Azul de metileno	0.065	gr/lt
pH final:.....	7.1±0.2	

Preparación: Suspender el polvo en agua destilada.

- Reposar 5 minutos.
- Mezclar.
- Calentar a ebullición hasta su disolución.
- Esterilizar en autoclave a no más de 121°C durante 15 minutos.
- Enfriar a 45°C.
- Distribuir agitando suavemente.

Conservación: Entre 4° y 8°C.

▪ Agar Glucosado de Sabouraud

Fundamento: Componentes como, la pluripeptona y la glucosa, son los nutrientes necesarios para el desarrollo de microorganismos. El alto contenido de glucosa, la presencia de cloranfenicol y el pH ácido, favorecen el crecimiento de hongos por sobre el de bacterias.

Fórmula:

Pluripeptona	10	gr/lt
Glucosa	40	gr/lt
Cloranfenicol	0,05	gr/lt
Agar	15	gr/lt
pH final:	5.6±0.2	

Preparación:

- Disolver el polvo en agua destilada.
- Reposar 5 minutos
- Mezclar hasta uniformar.
- Calentar agitando frecuentemente y hervir.
- Distribuir
- Esterilizar 15 minutos a 118-121°C.

Conservación: Mantener en lugar fresco, pues la exposición al calor hidroliza los componentes. Distribuir en placas o en tubos con cierre hermético.

▪ Agar Mueller-Hinton

Fundamento: Medio utilizado para realizar las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana en diversos microorganismos aeróbicos por el método de

Kirby-Bauer. Este medio es el seleccionado por la NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) para realizar las pruebas de susceptibilidad, por su alta reproducibilidad, su bajo contenido de sustancias inhibitoras y el crecimiento satisfactorio que presentan la mayoría de los patógenos no fastidiosos.

Fórmula:

Infusión de carne.....	300,0	gr/lt
Peptona ácida de caseína.....	17,5	gr/lt
Almidón.....	1,5	gr/lt
Agar.....	15,0	gr/lt
pH final:.....	7.3±0.1	

Preparación:

- Suspender el medio deshidratado en agua destilada.
- Calentar con agitación frecuente.
- Esterilizar a 121°C durante 15 minutos.

Conservación: Distribuir a cajas de Petri, hasta un nivel de 4 mm de altura sobre una superficie horizontal en placas de 90 mm de diámetro.

▪ **Agar Sangre Columbia con 5% de sangre de carnero**

Fundamento: Este medio utiliza como base al Agar Columbia. El agregado de hematíes a una temperatura de 40°C, impide la lisis de los eritrocitos, permitiendo evidenciar hemólisis *Un medio de usos múltiples apto para el cultivo de microorganismos exigentes.*

Fórmula:

Peptona especial.....	23.0	gr/lt
Almidón.....	1.0	gr/lt
Cloruro de sodio	5.0	gr/lt
Agar.....	10.0	gr/lt
pH.....	7,3±0,2 a 25 °C	

Preparación:

- Disolver el medio Columbia.
- Enfriar hasta 45°C.
- Añadir sangre de carnero estéril desfibrinada al 5% (5 ml de sangre por cada 100 ml de agar Columbia).

Conservación: Dispensar en placas de Petri. Entre 4°C- 8°C.

▪ Agar Tripteína Soya

Fundamento: La tripteína y la peptona de soya aportan nutrientes ricos en péptidos, aminoácidos libres, bases púricas y pirimídicas, minerales y vitaminas.

La peptona de soya aporta también carbohidratos que estimulan el crecimiento de muchos microorganismos. El cloruro de sodio mantiene el balance osmótico.

Fórmula:

Tripteína	15	gr/lt
Peptona de soya	5	gr/lt
Cloruro de sodio	5	gr/lt
Agar.....	15	gr/lt
pH.....	7,2-7,3	

Preparación:

- Disolver polvo deshidratado en agua destilada.
- Mezclar.
- Dejar reposar 5 minutos.
- Calentar suavemente agitando.
- Hervir durante 1 o 2 minutos hasta su disolución.
- Distribuir.
- Esterilizar en autoclave durante 15 minutos a 118-121°C.

▪ **Caldo Tioglicolato sin Indicador**

Fundamento: Se utiliza por su capacidad de favorecer el desarrollo de una gran variedad de microorganismos aerobios y anaerobios.

Este caldo permite el desarrollo de una amplia variedad de microorganismos, incluidos los nutricionalmente exigentes. Las bacterias estrictamente aerobias, crecen en la parte superior, las anaerobias facultativas crecen en las profundidades del medio. Las sustancias reductoras como tioglicolato de sodio y cisteína proporcionan una anaerobiosis suficiente y debido a los grupos -SH- de estos compuestos, se neutralizan los efectos bacteriostáticos de los derivados mercuriales, arsenicales y de otros metales pesados.

Fórmula:

Tripteína	17,0	gr/lt
Peptona de Soya.....	3,0	gr/lt
Glucosa	6,0	gr/lt
Cloruro de sodio	2,5	gr/lt
Tioglicolato de sodio.....	0,5	gr/lt
Agar	0,7	gr/lt
L-cistina	0,25	gr/lt
Sulfito de sodio	0,1	gr/lt
pH final:.....	7.0 ± 0.2	

Preparación:

- Suspender 30 g del polvo por litro de agua destilada.
- Reposar 5 minutos.
- Calentar a ebullición hasta disolución total.
- Distribuir.
- Esterilizar a 121°C por 15 minutos.

▪ **CHROMagar medio orientador para bacilos gramnegativos**

Fundamento: Este medio utiliza la capacidad de identificar las especies por color, con un 100% de confiabilidad en algunos grupos de microorganismos. Está compuesto por una mezcla de sustratos cromogénicos de modo que luego de un período de incubación y según el sustrato que sea metabolizado las colonias adquieren un color característico de cada bacteria. Por lo tanto, es posible identificar estos organismos con un número limitado de pruebas y reduciendo el tiempo, proporcionando una respuesta diagnóstica rápida.

Fórmula:

Cromopeptonas..... 16,1 gr/lit
Mezcla cromógena 1,3 gr/lit
Agar 15,0 gr/lit

Conservación: Al recibir las placas controladas microbiológicamente, almacenarlas en un lugar oscuro a una temperatura de 2 a 8 °C, en su envase original hasta justo antes de su uso. Evitar la congelación y el sobrecalentamiento. Las placas pueden inocularse hasta la fecha de caducidad e incubarse durante los períodos recomendados.

Las placas de pilas abiertas de 10 unidades almacenadas en un lugar limpio a una temperatura de 2 a 8 °C pueden utilizarse durante una semana. Reducir al mínimo la exposición a la luz antes de la incubación y durante ella, dado que la luz puede destruir los cromógenos incluidos en CHROMagar Orientation Medium.

▪ **Pruebas para cocos grampositivos**

▪ **Prueba de la catalasa:**

Fundamento: Identificar la presencia de enzimas citocromo (catalasa) capaces de convertir el peróxido de hidrógeno en oxígeno y agua.

Metodología : Sobre una colonia colocar unas gotas de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) al 3%. La prueba puede realizarse tomando una colonia pura con el ansa y depositándola sobre portaobjeto.

La aparición rápida de efervescencia indica la producción de oxígeno molecular.

Al realizar la prueba sobre colonias en agar sangre, se obtienen resultados falsos positivos por la presencia de peroxidasa en los eritrocitos. Evitar tocar el medio con el ansa al tomar las colonias y nunca realizar la prueba sobre este medio

Resultados: Permite diferenciar los géneros *Staphylococcus* y/o *Micrococcus* (+) de los *Streptococcus* y/o *Enterococcus* (-); *Clostridium* (-) de *Bacillus* (+) y otros gérmenes que no son de interés para el presente texto.

▪ Prueba de la coagulasa

Fundamento: Determinar la presencia de la enzima coagulasa a través de la facultad de los microorganismos para coagular el plasma. Se utiliza específicamente para el género *Staphylococcus*.

Metodología:

Prueba en portaobjeto (“clumping factor”):

Tomar una colonia catalasa (+) sospechosa de pertenecer al género *Staphylococcus* y se emulsifica en una gota de plasma de conejo.

En 1 minuto se evidencia la formación de un coágulo de fibrina que indica la presencia de coagulasa y revela un resultado positivo. Si el resultado es negativo, realizar la prueba de coagulasa en tubo.

Prueba en tubo: Inocular el plasma con la cepa a estudiar. Utilizar plasma con EDTA y no citratado, ya que organismos capaces de metabolizar el citrato (*Enterococcus* spp.) pueden dar resultados falsos positivos.

Las pruebas negativas, luego de 4 hs de incubación a 35°C, se dejan a temperatura ambiente y se leen luego de 18 a 24 hs para evitar la fibrinólisis que producen algunas cepas al ser incubadas en forma prolongada a 35°C.

Resultados:

Permite diferenciar al *Staphylococcus aureus*, prueba positiva, de los estafilococos coagulasa negativos.

▪ Sensibilidad a la novobiocina

Fundamento: Permite estudiar susceptibilidad a la novobiocina de diferentes especies de estafilococos coagulasa negativos.

Metodología: Obtener una suspensión de la cepa en estudio al 0.5 de la escala de McFarland, introducir un hisopo estéril, escurrir por las paredes del tubo y pasar el hisopo en tres direcciones sobre una placa de agar Mueller Hinton, según técnica de Kirby-Bauer. Utilizar discos de novobiocina (5 µg).

Resultados:

Sensibles: inhibición del desarrollo con un diámetro entre 16 a 27 mm.

▪ Prueba de fermentación de hidratos de carbono para cocos grampositivos:

Fundamento: Identifica la utilización de azúcares por la vía metabólica de la fermentación aeróbica con producción de ácidos que viran el indicador al amarillo.

Metodología: Utilizar medio base de fermentación de hidratos de carbono (indicador: púrpura de bromocresol) y los azúcares en concentración del 1%.

Para cepas de desarrollo fastidioso, se suplementa el medio con extracto de levadura (1% a 2%). Incubar hasta 72 horas a 35°C.

Resultados: El viraje del indicador a amarillo (no a verde) indica un resultado positivo (acidez aeróbica). Para tipificación de los distintos gémenes utilizar las tablas de identificación correspondientes,

▪ **Prueba de PYR:**

Fundamento: Detecta la enzima pirrolidonil arilamidasa, utilizando como sustrato el reactivo L-pirrolidonil-beta-naftilamida (PYR).

Metodología: Utilizar un alto inóculo (2 MacFarland) para el ensayo y ajustarse rigurosamente a las indicaciones del fabricante.

Resultados: Permite la identificación preliminar rápida de enterococos que muestran la prueba positiva.

Algunas especies de estafilococos y los estreptococos del grupo A dan también, una prueba positiva.

▪ **Prueba de Ureasa**

Fundamento: Detectar la producción de la enzima ureasa por desdoblamiento de la urea en dos moléculas de amoníaco con alcalinización del medio y viraje del indicador.

Metodología: Se utilizan diferentes medios comerciales disponibles: Medio caldo urea de Stuart, agar urea de Christensen, etc., los que deben ser preparados siguiendo las indicaciones del fabricante y teniendo la precaución de no exponer al calor el medio una vez incorporada la urea por su degradación a elevadas temperaturas.

Los medios se siembran con abundante inóculo de la cepa problema y se incuban entre 6-24 hs a 35°C, pueden ser necesarios hasta 6 días para obtener resultados positivos e inclusive períodos más prolongados.

Resultados:

Positivo (+): el medio inoculado presenta color rosa a rojo. *S. epidermidis* da prueba positiva.

Negativo (-): se conserva el color amarillo a color piel presente en el medio sin inocular.

▪ Prueba de Ornitina decarboxilasa

Fundamento: Detecta la presencia de la enzima ornitina decarboxilasa presente en algunos microorganismos. Esta enzima cataliza la producción de putrescina y dióxido de carbono a partir de L-ornitina. Se determina la capacidad de decarboxilar un aminoácido con producción de amina y consecuente alcalinidad del medio.

Metodología: Utilizar el medio base para decarboxilasas de Môller preparado según las instrucciones del fabricante con una concentración final de ornitina de 1%, el pH final de la solución es muy bajo y debe ajustarse a 6 con Na(OH). Un pH bajo es necesario porque la enzima no logra su actividad hasta que este sea menor de 5,5. La disminución de 6 a 5,5 se produce gracias al consumo de glucosa del medio.

Conservar en heladera una vez esterilizado el medio.

Para preparar el medio a partir de sus componentes la fórmula para 1000 ml de agua destilada es:

Peptona	5	gr
Extracto de carne	5	gr
Fosfato de piridoxal	0,005	gr
Glucosa	0,5	gr
Púrpura de bromocresol.....	0,1	gr
Rojo cresol	0,005	gr

Para la prueba se utilizan 3 – 4 ml por tubo, se inocula con la cepa problema y se cubre con parafina o vaselina estéril porque la descarboxilación ocurre en anaerobiosis, asegura además que tenga lugar la fermentación de la glucosa y previene la degradación oxidativa de las peptonas.

Se debe inocular un tubo control con el medio sin aminoácido.

Incubar a 35°C de 24 hs a 4 días, observar los tubos a diario.

Resultados:

Positivo (+): color púrpura.

Negativo (-): color amarillo.

▪ **Prueba de Sensibilidad a Polimixina B (300 U)**

Fundamento: Orientar la identificación de microorganismos mediante la sensibilidad a la droga.

Metodología: Seguir el procedimiento utilizado para pruebas de sensibilidad ya descritas en el texto.

Resultados:

Sensible: zona de inhibición ≥ 10 mm.

Resistente: zona de inhibición < 10 mm.

▪ **Crecimiento Anaerobio en Tioglicolato**

Fundamento: Determinar la capacidad de crecimiento en anaerobiosis de ciertos microorganismos anaerobios facultativos en caldo tioglicolato.

Metodología: Inocular un tubo con caldo tioglicolato con indicador, prerreducido (calentar 10 minutos a baño térmico con agua en ebullición y enfriar con agua de canilla), cubrir con vaselina estéril. Incubar a 35°C durante 24 hs hasta 7 días.

Resultados:

Positivo (+): desarrollo que se evidencia con enturbiamiento del medio.

Negativo (-): sin desarrollo.

▪ **Prueba de Voges – Proskauer**

Fundamento: Evidenciar la capacidad de ciertas bacterias para fermentar la glucosa con producción de un producto final neutro, la acetoina o acetilmetilcarbinol (AMC).

Metodología: Se utiliza el caldo de Clarks y Lubs, usado para la prueba de rojo metilo – Voges Proskauer, su composición a pH final de 6,9 es para 1.000 ml de agua destilada:

Glucosa	5 gr
Pluripeptona	7 gr
Buffer fosfato dipotásico (K ₂ HPO ₄).....	5 gr

Una vez esterilizado y controlado sembrar con la cepa problema e incubar a 35°C 18 a 24 hs. Para interpretar la prueba agregar 0,6 ml (6 gotas) de Reactivo A y 0,2 ml (2 gotas) de Reactivo B a una alícuota incubada.

Reactivo A: α -naftol al 5% en alcohol etílico absoluto

Reactivo B: hidróxido de potasio (KOH) al 40%

Resultados:

Positivo (+): presencia de color rojo luego de agregar los reveladores.

Negativo (-): se mantiene el color amarillo tras adicionar los reactivos de VP.

▪ **Susceptibilidad a Trimetoprima-Sulfametoxazol (TMS)**

Fundamento: Identificar sensibilidad o resistencia a la droga.

Metodología: En agar Mueller Hinton con sangre de oveja, según técnica de Kirby-Bauer, utilizando discos de TMS (1,25/23,75 μ g).

Resultados:

Sensible: inhibición del desarrollo (cualquier tamaño de halo).

Resistente: sin halo de inhibición.

▪ Prueba de la Bilis-Esculina

Fundamento: Se evidencia la capacidad de hidrolizar el glucósido esculina a esculetina y glucosa en presencia de bilis. La esculetina reacciona con una sal férrica presente en el medio formando un complejo fenólico color castaño oscuro a negro.

Metodología: Utilizar medios de cultivo comerciales generalmente sólidos los que se inoculan con la cepa en estudio e incubar 24 hs a 35°C. Raramente se requiere 48 hs hasta que la hidrólisis sea aparente.

Es importante que el medio contenga 40% de bilis. Algunos productos contienen menos cantidad, lo que lleva a confundir algunos estreptococos viridans con enterococos.

Resultados:

Positivo (+): oscurecimiento del medio.

Negativo (-): sin cambio.

▪ Prueba de Hidrólisis de Esculina

Fundamento: Expresado para prueba de bilis esculina sin presencia de bilis.

Metodología: En medio líquido para 1.000 ml de agua destilada:

Peptona 5 gr
Fosfato dipotásico 1 gr
Esculina 3 gr
Citrato férrico 0,5 gr

Esterilizar a 121°C, 15 minutos.

Distribuir en tubos estériles. Sembrar e incubar a 35°C durante 7 días.

La formación de un precipitado negro se considera un resultado positivo.

Resultados:

Positivo (+): precipitado negro.

Negativo (-): sin precipitado.

▪ Prueba de la Bacitracina

Fundamento: Determinar la sensibilidad a la Bacitracina.

Metodología:

La siembra se realiza según la técnica de difusión en agar en placas de agar sangre con discos de Bacitracina (0,04 U) y la incubación se realiza con CO₂ durante 18 a 24 hs.

Cualquier zona de inhibición alrededor del disco es considerada positiva (sensible).

Recordar que el uso de discos de Bacitracina en forma directa en las placas primarias de cultivo puede dar como resultado un 40% a 50% de falsos negativos.

Resultados:

Positivo (+): cualquier zona de inhibición.

Negativo (-): sin zona de inhibición.

▪ **Prueba de la Hidrólisis de Hipurato**

Fundamento: Manifiesta la producción de hipuricasa (hipurato hidrolasa) que resulta en la hidrólisis del hipurato de sodio con la formación de benzoato de sodio y glicina. La hidrólisis de hipurato puede determinarse por demostración de cualquiera de los productos finales. El ácido benzoico se evidencia por el agregado de una solución de cloruro férrico acidificado y la presencia de glicina a través del método de la ninhidrina.

Metodología: Prueba para detectar la glicina.

Utilizar alrededor de 0,5 ml de una solución de hipurato de sodio al 1%, inocular densamente con la cepa en estudio (la suspensión debe estar turbia) e incubar durante dos horas en estufa o en baño térmico a 35°C.

Revelar con 0,2 ml de una solución de ninhidrina (3,5 gr en 100 ml de una mezcla 1:1 de acetona y butanol) sin agitar los tubos. La aparición de color púrpura intenso en aproximadamente 10 minutos pone de manifiesto la hidrólisis de hipurato. No esperar más de 30 minutos una vez adicionado el revelador.

Resultados:

Positivo (+): color púrpura intenso.

Negativo (-): sin cambio de color.

▪ **Prueba de CAMP**

Fundamento: Los estreptococos de grupo B secretan factor CAMP que interactúa con la β -hemolisina de estafilococo y produce sinergismo con

agrandamiento de la hemólisis de la cepa sospechosa de *Streptococcus agalactiae*.

Metodología: En placa de agar sangre oveja al 5% sembrar una estría de *S. aureus* β -hemolítica (ATCC 25923) y perpendicularmente y lo más cercana una estría de estreptococo en estudio.

Incubar a 35°C y aerobiosis (los falsos positivos aumentan en incubación con CO₂) durante 24 hs.

Resultados: El sinergismo se observa como un área de hemólisis en “punta de flecha” en la proximidad del *S. aureus*.

Positivo (+): *Streptococcus agalactiae*

Negativo (-): *Enterococcus* spp, *S. grupo milleri*, *S. grupo C*, *S. grupo G*

▪ Prueba de Tolerancia al Cloruro de Sodio

Fundamento: Los enterococos toleran y pueden crecer en presencia de 6,5% de cloruro de sodio.

Metodología: Se preparan caldo con cloruro de sodio al 6,5% los que se inoculan con la cepa sospechosa de enterococo. Incubar a 35°C durante 24 hs en aerobiosis, observar la presencia de desarrollo.

Resultados:

Positivo (+): desarrollo. *Enterococcus* spp

Negativo (-): sin desarrollo.

▪ Prueba de Producción de Pigmento para Enterococos

Fundamento: Ciertas cepas de enterococos son capaces de producir pigmentos en agar nutritivo.

Metodología: Sembrar estrías de las cepas en estudio sobre placas de agar nutritivo, incubar en aerobiosis a 35°C durante 24 hs y observar. Puede ser necesaria una incubación más prolongada.

Resultados:

Positivo (+): colonias con pigmento amarillo.

Negativo (-): sin evidencia de pigmentación.

▪ Prueba de la Optoquina

Fundamento: Determinar la sensibilidad a la droga que presentan ciertas cepas de estreptococos.

Metodología: Realizar la siembra según técnica de difusión en agar e incubar con CO₂ durante 18 a 24 hs. Utilizar agar sangre y discos de optoquina de origen comercial. Medir los halos de inhibición.

Una zona de inhibición del crecimiento de 14 mm o más indica susceptibilidad a la droga.

Si este diámetro es menor, se debe realizar la prueba de solubilidad en bilis porque algunos estreptococos viridans y aerococos pueden dar pequeñas zonas de inhibición.

Resultados:

Positivo (+): las cepas de *Streptococcus pneumoniae* muestran sensibilidad a la droga aunque en raras oportunidades algunas cepas pueden ser resistentes.

Negativo (-): halos de inhibición < 14 mm se consideran resistentes a la droga: enterococos y otras especies de estreptococos.

▪ Prueba de la Solubilidad en la Bilis

Fundamento: Ciertas cepas bacterianas se lisan en presencia de sales biliares en tiempo y a temperatura definidos. La prueba es útil para diferenciación de estreptococos α -hemolíticos.

Metodología: Se colocan unas gotas de solución de desoxicolato de sodio sobre las colonias sospechosas de ser *Streptococcus pneumoniae*, las que se lisan de inmediato y desaparecen por completo en 30 minutos.

Tener cuidado al usar agar sangre, porque aparece una zona de hemólisis alrededor de la gota de reactivo, reacción que no debe confundirse con la lisis de las colonias.

Resultados:

Positivo (+): lisis de colonias en presencia de bilis. *Streptococcus pneumoniae*

Negativo (-): cepas insolubles en sales biliares. Otros estreptococos α -hemolíticos.

▪ Serología para estreptococos

Técnica de coaglutinación: El reactivo contiene anticuerpos desarrollados en conejo específicos para estreptococos del grupo A, B, C, D, E, F y G de Lancefield, ligados a la proteína A en la superficie de estafilococos no viables. La muestra con antígenos específicos sobre la superficie del estreptococo se ligan a sus correspondientes anticuerpos específicos, formándose una red visible macroscópicamente. La identificación diferencial por grupo en la clasificación de Lancefield del estreptococo es importante para el pronóstico y tratamiento del paciente.

▪ **Diferenciación de cocos grampositivos de importancia en infecciones asociadas a prótesis:**

Género *Staphylococcus* spp

Diferenciación de especies de estafilococos frecuentes en infecciones asociadas a prótesis

Especie	COAG	VP	NOV	UREA	TRE	MAN	PYR	ORN
<i>S. aureus</i>	+	+	S	V	+	+	-	-
<i>S. epidermidis</i>	-	+	S	+	-	-	-	-
<i>S. lugdunensis</i>	-	+	S	V	+	-	+	+

COAG, coagulasa; VP, Voges-Proskauer; NOV, novobiocina (5µg): S= zona de inhibición³ 16 mm; TRE, trealosa; MAN, manosa; PYR, Pirrolinodil-aril-amidasa; ORN, ornitina decarboxilasa.

Género *Enterococcus* spp

Tabla de identificación de enterococos de importancia clínica

Especie	Telurito	Arginina	Manitol	Arabinosa	β-galactosidasa
<i>E. faecalis</i>	+	+	+	-	-
<i>E. faecium</i>	-	+	+	+	+

E. faecium debe confirmarse por pruebas de movilidad y pigmento.

▪ **Pruebas mínimas para Enterobacterias de importancia clínica**

▪ **Prueba de TSI (agar hierro triple azúcar)**

Fundamento: Permite la diferenciación de bacilos gramnegativos mediante la fermentación de glucosa, lactosa y sacarosa y la producción de ácido sulfhídrico.

Metodología: El medio cuenta con extracto de carne y pluripeptona necesarios para el desarrollo bacteriano, lactosa 10%, glucosa 1% y sacarosa 10% son los hidratos de carbono fermentables y sus concentraciones.

La producción de ácidos a partir de los azúcares produce cambio del indicador rojo fenol al amarillo.

El tiosulfato de sodio es el sustrato para producir ácido sulfhídrico que en presencia de Fe^{+3} (sulfato de hierro y amonio) precipita como sulfuro de hierro.

Composición:

Extracto de carne	3 gr
Pluripeptona	20 gr
Cloruro de sodio	5 gr
Lactosa	10 gr
Sacarosa	10 gr
Glucosa	1 gr
Sulfato de hierro y amonio	0,2 gr
Tiosulfato de sodio.....	0,2 gr
Rojo de fenol.....	0,025 gr
Agar	13 gr
Agua destilada	1000 ml

Resultados:

- Pico alcalino/fondo ácido (pico rojo/fondo amarillo): el microorganismo sólo fermenta glucosa.
- Pico ácido/fondo ácido (pico amarillo/fondo amarillo): fermenta glucosa y lactosa.
- Pico alcalino/fondo alcalino (pico rojo/fondo rojo): no fermentador de azúcares.
- La presencia de burbujas o ruptura del medio de cultivo indica que hay producción gas.
- El ennegrecimiento del medio indica precipitación de sulfuro de hierro por producción de ácido sulfhídrico.

▪ Prueba de Rojo Metilo (RM)

Se describirá la prueba de rojo metilo, la prueba de VP fue desarrollada anteriormente en el presente texto.

Fundamento: Determinar la capacidad de ciertos gérmenes para producir y mantener los productos finales ácidos obtenidos de la fermentación de la glucosa y vencer la capacidad buffer del sistema.

Metodología: Seguir el mismo procedimiento que el indicado en la prueba de VP, separar una fracción para revelar la prueba con indicador rojo de metilo. Este reactivo presenta un rango de color entre pH=6 (amarillo) y pH=4,4 (rojo). Los microorganismos deben producir grandes cantidades de ácido para generar viraje del indicador.

Recordar no leer la prueba antes de cumplidas las 24 hs.

Resultados:

Positivo (+): color rojo en la superficie del medio luego de agitar y dejar reposar.. Presencia de formación de ácidos fuertes.

Negativo (-): se mantiene color del medio y se observa coloración amarilla.

▪ Prueba de SIM (sulfuro-indol-movilidad)

Fundamento: Medio semisólido que permite la determinación de producción de sulfuro de hidrógeno, indol y movilidad en el mismo tubo.

Metodología: Un volumen de 2–4 ml del medio estéril se distribuye en tubos de hemólisis o de Khan y se mantienen verticalmente hasta solidificación, se siembra por punción con ansa aguja una colonia obtenida de cultivo puro.

Se incuba a 35°C en aerobiosis durante 24–48 hs.

Composición:

Tripteína	20	gr
Peptona	6,1	gr
Sulfato de hierro y amonio	0,2	gr
Tiosulfato de sodio	0,2	gr
Agar	3,5	gr
Agua destilada	1000	ml

Resultados:

- Movilidad:

- Positiva (+): las cepas móviles producen turbidez del medio que se extiende más allá de la línea de siembra.
- Negativa (-): crecimiento observable sólo en la línea de siembra.

- Producción de SH₂

- Positivo (+): se produce en ennegrecimiento del medio por combinación con sales de hierro.
- Negativo (-): medio permanece sin oscurecimiento.

- Producción de indol

- Positivo (+): aparición de color fucsia a rojo luego de adicionar reactivo de Erlich o Kovacs.
- Negativo (-): sin cambio de color.

- **Prueba de citrato**

Fundamento: Demuestra la capacidad de ciertos microorganismos de utilizar citrato como única fuente de energía por la presencia de citrato permeasa. Al desdoblarse citrato se produce oxalacetato y piruvato, este último en medio alcalino genera ácidos orgánicos que son usados como fuente de carbono con producción de carbonatos y bicarbonatos alcalinos que viran el indicador a azul.

Metodología: Sembrar el medio en pico de flauta con inóculo denso de cultivo puro de 24 hs. Se incuba a 35°C en aerobiosis de 24 –72 hs. Algunos gérmenes pueden requerir hasta 7 días para desarrollar.

Composición:

Citrato de sódio.....	2 gr
Cloruro de sodio	5 gr
Fosfato dipotásico	1 gr
Fosfato monoamónico	1 gr
Sulfato de magnesio	0,2 gr
Azul de bromotimol	0,08 gr
Agar	15 gr
Agua destilada	1000 ml

Resultados:

Positivo (+): desarrollo microbiano con coloración azul del medio.

Negativo (-): sin desarrollo y conservación del color verde del medio.

▪ **Prueba de ureasa**

Tema abordado para cocos grampositivos.

▪ **Prueba de Fenilalanina Desaminasa (FA)**

Fundamento: Determina la capacidad de producción de ácido fenilpirúvico por desaminación del aminoácido fenilalanina con formación de acidez. Permite la diferenciación inicial de especies del género *Proteus*, *Morganella* y *Providencia*.

Metodología: Sembrar un cultivo puro de 24 hs estriando sobre la superficie del medio esterilizado y distribuido en pico de flauta.

Incubar 24 hs en aerobiosis.

Agregar 4–5 gotas de cloruro férrico.

Composición:

DL-fenilalanina	2	gr
Extracto de levadura	3	gr
Fosfato disódico	1	gr
Cloruro de sodio	5	gr
Agar	12	gr
Agua destilada	1000	ml

Resultados:

Positivo (+): aparición de color verde en el pico de flauta y en el reactivo.

Negativo (-): sin cambios de color.

▪ **Prueba de Decarboxilación de Aminoácidos (lisina-ornitina-arginina)**

Fue tratada para cocos grampositivos.

Tabla de identificación de enterobacterias de importancia clínica expresada en porcentaje de positividad

Germen	Indol	RM	VP	Citrato	SH ₂	Urea	FA	Lisina	Arginina	Ornitina	Movil
<i>E. coli</i>	98	99	0	1	1	1	0	90	17	65	95
<i>K. pneumoniae</i>	0	10	98	98	0	95	0	98	0	0	0
<i>E. aerógenes</i>	0	5	98	95	0	2	0	98	0	98	97
<i>E. cloacae</i>	0	5	100	100	0	65	0	0	97	96	95
<i>S. marcescens</i>	1	20	98	98	0	15	0	99	0	99	97
<i>C. freundii</i>	33	100	0	78	78	44	0	0	67	0	89
<i>P. mirabilis</i>	2	97	50	65	98	98	98	0	0	99	95
<i>P. vulgaris</i>	98	95	0	15	95	95	99	0	0	0	95
<i>P. penneri</i>	0	100	0	0	30	100	99	0	0	0	85

▪ **Pruebas mínimas para Bacilos no Fermentadores (BNF)**

Es importante distinguir entre las tres especies más comunes aisladas en clínica: *P. aeruginosa*, *A. baumannii* y *S. maltophilia*. La mayoría de las cepas se identifican con observación de características coloniales, tinción de Gram y escasas pruebas bioquímicas evitando costos innecesarios:

P. aeruginosa:

- colonias grandes, olor frutal.
- producción de piocianina, otorga pigmentación verde a las colonias.
- oxidasa (+).

A. baumannii:

- cocos o cocobacilos negativos en tinción de Gram.
- oxidasa (-).
- crecen bien en agar McConkey (si presentan coloración rosada esta es útil para la identificación).
- rápido uso de glucosa con producción de ácido.
- rápida utilización de lactosa 10% con producción de ácido.
- inmóviles.
- resistentes a la penicilina.

S. maltophilia

- desarrollo en agar sangre o McConkey.
- oxidasa (-).

- lisina descarboxilasa positiva.
- produce ácido en OF maltosa pudiendo ser negativo en OF glucosa.
- TMS, Polimixina B y colistina sensible.
- DNAsa positivo.
- pigmento amarillo en algunas cepas.

▪ Prueba de TSI (Agar hierro triple azúcar)

El ensayo fue desarrollado para enterobacterias. Se destaca que esta constituye una prueba inicial de identificación de bacilos no fermentadores dando TSI alcalino/sin cambio.

▪ Prueba de Oxidasa

Fundamento: Detecta la presencia de la enzima citocromo oxidasa que activa la oxidación del citocromo reducido por el oxígeno molecular.

Metodología: El sustrato más utilizado es el reactivo de Kovacs (diclorhidrato de tetrameti-*p*-fenilendiamina) al 1%. El oxalato de *p*-aminodimetilanilina en polvo o solución es el que presenta mayor estabilidad.

La prueba puede realizarse:

- con discos comerciales (impregnados con reactivo de oxidasa): se realiza una suspensión densa del microorganismo en estudio, siempre con cultivo fresco (18 – 24 hs).
- método indirecto de Kovacs: se impregna una tira de papel de filtro con el reactivo la cual se coloca sobre placa de Petri, se deposita sobre una colonia sospechosa con varilla de vidrio, madera o plástico.

- método del hisopo: se toma una colonia sospechosa con palillo estéril y se agrega una gota de reactivo.

En todos los casos se observa cambio de color.

Recordar que si se realiza la prueba a partir de colonias desarrolladas en agar sangre, pueden obtenerse resultados falsos positivos porque los hematíes reaccionan con el reactivo dando cambio de color. Se recomienda no tocar el medio.

Resultados:

Positivo (+): color fucsia.

Negativo (-): sin cambio de color.

▪ **Prueba de Movilidad**

Fundamento: Permite identificar microorganismos móviles e inmóviles los que contribuye a la diferenciación bacteriana

Metodología: Para bacilos no fermentadores de lactosa se utiliza con excelentes resultados la prueba en caldo de la gota pendiente, existen dos métodos:

- Gota directa sobre portaobjeto: se toma una ansada de caldo de cultivo puro de 18 – 24 hs y se observa al microscopio 400X.
- Gota en cámara para gota pendiente: se toma un cultivo puro en caldo y puede observarse con objetivos de gran aumento. Se utiliza para microorganismos que no crecen bien en medios semisólidos.

Resultados:

Positivo (+): se observan bacterias móviles.

Negativo (-): los gérmenes observados carecen de movilidad.

▪ Prueba de Oxidación Fermentación (OF)

Fundamento: Permite identificar el metabolismo oxidativo o fermentativo de un azúcar o su falta de utilización.

Metodología: El medio basal OF utilizado es el de Hugh y Leifson semi-sólido que contiene:

Cloruro de sodio	5 gr
Fosfato dipotásico.....	0,3 gr
Peptona de caseína.....	2 gr
Agar.....	2-3 gr
Azul de Bromotimol.....	0,03-0,08 gr
Agua destilada	1000 ml

El azul de bromotimol es el indicador de pH, amarillo en medio ácido (pH=6), azul de Prusia en medio alcalino (pH=7,6) y verde a pH 7,1 (medio no inoculado).

Preparación del medio:

- Esterilizar el medio base a 121°C durante 15 minutos
- Incorporar el hidrato de carbono al 10% para obtener una concentración final de 1%. Se recomienda la filtración como mecanismo para esterilizar la solución.
- Conservar en heladera una vez preparado.

Desarrollo de la prueba:

- Realizar la inoculación con prueba estándar de dos tubos.
- Utilizar cultivo puro de 24 hs, para cada hidrato de carbono se siembran dos tubos, uno “abierto” y otro “sellado” (cubrir con vaselina) y dos controles, uno inoculado sin azúcar y otro sin sembrar y con hidrato de carbono.

- Incubar a 35°C durante 24 hs o más (para microorganismos de desarrollo lento se necesitan 2 – 4 días e inclusive hasta 7 de incubación).

Además de la oxidación o fermentación con esta prueba puede detectarse movilidad y producción de gas. Pueden ensayarse glucosa, lactosa, maltosa, manitol, xilosa y sacarosa.

Resultados:

Especies de Acinetobacter spp dan oxidación rápida sin fermentación de glucosa y lactosa

	Tubo abierto	Tubo sellado	Tubo con reacción
Oxidación	Amarillo	Verde	Abierto
Fermentación	Amarillo	Amarillo	Sellado
No fermenta no oxida	Azul o verde	Púrpura	Ninguno
Fermenta y oxida	Amarillo	Amarillo	Ambos

▪ Prueba de Decarboxilación de Aminoácidos (lisina-arginina-ornitina)

Esta prueba fue descrita para cocos grampositivos. Se aplican los mismos fundamentos y metodología, utilizando lisina en reemplazo de ornitina.

Prueba positiva (+) para BNF oxidasa (-): *S. maltophilia* y para oxidasa (-): *B. cepacia*.

▪ Producción de Desoxirribonucleasa (DNAsa)

Fundamento: Permite determinar la producción de desoxirribonucleasa (DNAsa) por ciertos microorganismos a partir de la despolimerización de ácido desoxirribonucleico (ADN).

Metodología: Se realiza prueba de precipitación estándar en agar.

Composición:

Acido desoxirribonucleico (ADN)	2 gr
Digerido palmico de harina de soja	15 gr
Digerido pancreático de caseína	5 gr
Cloruro de sodio	5 gr
Agar	15 gr
Agua destilada	1000 ml

- Pesar cada uno de los componentes
- Rehidratar con agua destilada y calentar suavemente para evitar la formación de hebras insolubles de proteína.
- Esterilizar en autoclave a 121C durante 15 minutos.
- Repartir en placas de Petri estériles.
- Conservar a 4C

Para la siembra partir de un cultivo puro de 24 hs, se pueden sembrar hasta 4 microorganismos problema por placa.

Incubar a 35C durante 24 – 48 hs.

Revelado: Agregar HCl 1 N sobre las colonias desarrolladas manteniendo la placa en forma vertical para evitar derramamiento del reactivo.

Resultados:

Positivo (+): Zona de aclaramiento alrededor de la colonia bacteriana, el tamaño de la zona se relaciona con la cantidad de enzima producida.

Negativo (-): Ausencia de aclaramiento.

▪ **Prueba de Sensibilidad a TMS**

Se han descrito para cocos grampositivos. Importa en BNF que *P. aeruginosa* es resistente y una prueba sensible con esculina (+) identifica a *S. maltophilia*.

▪ **Prueba de Sensibilidad a Polimixina B**

Descrita en cocos grampositivos. Útil para diferenciar *S. maltophilia* sensible a la droga de *B. cepacia* resistente.

Este libro, reflejo y parte de un Curso sobre Infecciones Bacterianas Asociadas a las Prótesis, ya dictado y con una importante concurrencia de colegas, será de ayuda para el trabajo en el laboratorio de bacteriología de diagnóstico clínico.

En él podrán encontrar Uds no sólo lo necesario desde lo conceptual acerca del tema central en estas infecciones, cual es la formación del biofilm, sino diversas metodologías para el abordaje de estas muestras en el laboratorio, cómo tratarlas y cómo diagnosticarlas, mejorando nuestra calidad de diagnósticos y contribuyendo a mejorar la calidad de la salud de nuestros pacientes.

Son de interés para los que trabajamos en el laboratorio de bacteriología clínico, algunas de las recomendaciones, aquí descriptas, acerca de las consecuencias del metabolismo de algunos microorganismos y el cómo allanarlas, a fin de acceder a diagnósticos certeros.

Con la certeza de que les será de utilidad, y con la certeza de un trabajo conjunto para ayudarnos entre todos y hacer que el conocimiento sea más solidario y más democrático, construimos esta tarea.

Solo el trabajo conjunto con la Editorial Universitaria de la UNaM, nos posibilitó llegar a Uds: el mejor puerto.

marta vergara