LABOKLIN aktuell

Diagnóstico de sepsis en potros neonatos: el papel del hemocultivo.



Fuente de la imagen: *Laboklin*

Infección, bacteriemia y sepsis

Durante una infección, los microorganismos invaden el tejido estéril y provocan inicialmente una respuesta inflamatoria local. Sin embargo, si los patógenos se diseminan de forma sistémica, también pueden detectarse en el torrente sanguíneo, una condición conocida como bacteriemia. El cuerpo responde con una reacción inflamatoria sistémica para combatir la infección: los leucocitos se mobilizan, que llevan a cabo la fagocitosis, liberan citocinas proinflamatorias e inmovilizan los patógenosmediante las *trampas extracelulares de neutrófilos* (NETs). Clínicamente, esto puede manifestarse con los siguientes síntomas:

- Hipotermia o fiebre
- Taquicardia
- Taquipnea o hiperventilación
- Leucopenia, leucocitosis o desviación a la izquierda (>10% neutrófilos en banda)

Estos signos, conocidos como **criterios del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS)**, se desarrollaron originalmente para la medicina humana, pero también se han aplicado a diversas especies animales, incluidos los potros.
Cabe señalar que el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) también puede deberse a causas no infecciosas, como traumatismos o quemaduras. En cambio, la sepsis se define como una respuesta inmunitaria desregulada que puede poner en peligro la vida debido a una disfunción orgánica.

Causas de sepsis en potros neonatos

En los potros, se considera que las principales vías de entrada de patógenos bacterianos incluyen la placenta y el ombligo, así como la piel y las mucosas del tracto gastrointestinal y respiratorio. La barrera intestinal es más permeable durante las primeras 24 horas de vida, lo que permite que las bacterias entren más fácilmente en la circulación.

LABOKLIN Laboratorio de diagnóstico veterinario
Avenida de la Industria 4, 28108, Alcobendas (Madrid). Teléfono-+34 91 467 15 31 – Email: contacto@laboklin.com

Factores de riesgo de infección:

- FPT (Fallo en la transferencia pasiva)
- Higiene umbilical deficiente o excesiva
- Sangrado del muñón umbilical
- Separación forzada del cordón umbilical
- Debilidad → da lugar a decúbito prolongado
- Higiene deficiente del establo

Diagnóstico de sepsis- sistemas de puntuación

No existe una prueba específica para “sepsis”. Las investigaciones posteriores se guían por los signos clínicos. Según la extensión de la afectación orgánica sospechada, pueden estar indicadas las pruebas de imagen y el cultivo bacteriano. En particular, cuando no se puede identificar claramente el foco de infección, el hemocultivo sigue siendo el método de referencia para detectar patógenos circulantes. Dado que el diagnóstico se basa en los hallazgos clínicos, es fundamental realizar una exploración clínica exhaustiva.

Procedimiento de cultivo de sangre

Tipos de botes para hemocultivo

Según los patógenos que se deseen detectar, existen frascos para hemocultivo específicos para bacterias aerobias (que crecen en presencia de oxígeno) y anaerobias (que crecen en ausencia de oxígeno). Los tiempos de incubación y los métodos de detección también varían entre fabricantes. A continuación, se describen los sistemas de hemocultivo más utilizados por LABOKLIN.

Frascos con cámara indicadora:

En el laboratorio, estos frascos están equipados con una cámara indicadora. Si se produce crecimiento bacteriano, el dióxido de carbono (CO_2) generado crea una presión positiva que hace que el líquido de la muestra ascienda a la cámara indicadora. El contenido del frasco se cultiva inmediatamente en placas de agar para identificar el patógeno. Si después de siete días no ha entrado líquido en la cámara, la muestra se cultiva igualmente en placas de agar. Un solo frasco que contenga bacterias aerobias y anaerobias es suficiente.

BD BACTEC™ (Becton Dickinson GmbH)

Estas botellas están disponibles para su compra como material de laboratorio. En el laboratorio, las botellas se incuban en un sistema automatizado que detecta el crecimiento bacteriano mediante una señal de fluorescencia. Se incuban durante un máximo de cinco días y se informan como negativas si no se detecta ninguna señal de crecimiento. Generalmente se utiliza un par de botellas, una aeróbica y otra anaeróbica.

Una excepción es el frasco Peds Plus, que requiere un volumen de muestra menor (véase la Tabla 1). La denominación "Plus" se refiere a un diseño mejorado del frasco que contiene microesferas que se unen a los antibióticos. Esto permite obtener hemocultivos incluso de pacientes que ya han recibido tratamiento antibiótico.

Tabla 1: Descripción general de los diferentes tipos de frascos para hemocultivo. Los valores entre paréntesis indican el volumen mínimo absoluto de muestra especificado por el fabricante.

Tipo de botella	adecuado para	Volumen de muestra (ml/botella)
BD BACTEC™ Plus Aeróbico/F	Bacterias aerobias y levaduras	8–10 (3)
BD BACTEC™ Plus Anaeróbico/F	Bacterias anaerobias	8–10 (3)
BD BACTEC™ Peds Plus/F	Bacterias aerobias(y anaerobias)	1–3 (0,5)

Momento de la toma de muestras y número de muestras

Se deben tomar muestras de sangre para cultivo lo antes posible, ya que la sepsis puede ser mortal. Anteriormente se recomendaba tomar muestras durante los picos de fiebre; sin embargo, esta práctica se considera obsoleta. En potros, la sangre se suele tomar al ingreso hospitalario, al momento de la colocación del catéter. La literatura no ofrece recomendaciones claras sobre el número óptimo de muestras. No obstante, dado que se presume que la bacteriemia es intermitente, tomar dos series de frascos para hemocultivo con un intervalo de 20 a 30 minutos puede aumentar la probabilidad de obtener un hemocultivo positivo.

Lugar de toma de muestra

Como alternativa a la extracción de sangre durante la colocación del catéter, se pueden obtener muestras mediante venopunción de una vena periférica (vena yugular o cefálica). No se recomienda la toma de hemocultivos a través de catéteres permanentes, ya que conllevan riesgo de contaminación. Una excepción es la infección asociada al catéter, en la que la bacteriemia se origina en el propio catéter. En estos casos, se pueden tomar muestras de sangre tanto a través del catéter como de la vena contralateral para comparar la carga bacteriana en ambos sitios de muestreo.

Técnica de toma de muestra aséptico

La preparación aséptica y minuciosa del sitio de toma de muestra es esencial para obtener resultados fiables. Si bien en medicina veterinaria no existen protocolos estandarizados, se aplican las siguientes recomendaciones:

- Rasurar y desinfectar el sitio de venopunción usando:

- 0,5–4% de digluconato de clorhexidina, o
- Solución de povidona yodada al 10%, con o sin 70% isopropanol

• Utilice el equipo de protección personal adecuado. (EPI)

- Guantes desechables estériles
- Delantal desechable
- Mascarilla quirúrgica
- Gorro

• Desinfecte el tapón del frasco de hemocultivo con 70% isopropanol y dejar secar completamente antes de la inoculación.
• Recolectar muestras en un ambiente limpio y con poco polvo.

Volumen de muestra:

Según el fabricante, los frascos de hemocultivo generalmente se llenan con 8-10 ml de sangre por frasco (con la excepción de los frascos Peds Plus, que requieren 1-3 ml). Es importante que el volumen de muestra recomendado no se exceda ni sea insuficiente. Un volumen de muestra insuficiente puede prolongar el tiempo hasta que se detecte el crecimiento microbiano o puede resultar en un resultado falso negativo. Por el contrario, volúmenes de sangre excesivos pueden generar señales falsas positivas para el crecimiento microbiano debido a la presencia de células sanguíneas, lo que provoca que el frasco se retire prematuramente del sistema de incubación.

Almacenamiento de frascos para hemocultivo

Los frascos para hemocultivos pueden almacenarse a temperatura ambiente y, según el fabricante, tienen una vida útil de hasta seis meses. Una vez inoculados, los frascos deben llegar al laboratorio lo antes posible, idealmente en 24 horas, y deben conservarse a temperatura ambiente hasta su envío. No se recomienda almacenarlos en un refrigerador ni en un vehículo caliente, ya que esto puede comprometer la viabilidad de los microorganismos.

En LABOKLIN, el análisis de los resultados de los hemocultivos mostró un tiempo de transporte promedio de 1,4 días. Las investigaciones internas demostraron que una breve prolongación del tiempo de transporte tuvo un efecto mínimo en la proporción de muestras positivas y negativas (51,8 % frente a 48,2 %). Sin embargo, cuanto mayor es el tiempo de transporte, mayor es la proporción de muestras negativas y menor la de muestras positivas. Tras tres días de transporte, solo el 35,7 % de las muestras resultaron positivas, en comparación con el 64,3 % de muestras negativas.

Identificación de patógenos y pruebas de susceptibilidad antimicrobiana (antibiograma)

Los frascos de hemocultivo positivos se retiran del sistema de incubación y se subcultivan en medios de agar universales y selectivos. Mediante la técnica de siembra en estrías de tres sectores, se puede realizar una evaluación semicuantitativa del crecimiento bacteriano, clasificándolo como bajo, moderado o abundante. La incubación posterior se lleva a cabo en condiciones aeróbicas o anaeróbicas, según el tipo de frasco de hemocultivo utilizado. Al día siguiente, se realiza la identificación del patógeno mediante espectrometría de masas de tiempo de vuelo con desorción/ionización láser asistida por matriz (MALDI-TOF MS; Bruker Daltonics GmbH, Bremen, Alemania).

Se realiza una prueba de sensibilidad antimicrobiana para cada microorganismo aislado de la muestra mediante el método de microdilución en caldo. Las pruebas se llevan a cabo de acuerdo con las directrices del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI). Los resultados se expresan como la concentración mínima inhibitoria (CMI), definida como la concentración más baja de un agente antimicrobiano a la cual no se detecta crecimiento bacteriano visible in vitro.

Análisis de los resultados de los hemocultivos (2022-2024)

La mitad de los hemocultivos equinos procesados en LABOKLIN mostraron crecimiento bacteriano (Fig. 1). La mayoría de las muestras positivas (40,7%) demostraron crecimiento solo en el frasco de cultivo aeróbico, mientras que el cultivo anaeróbico correspondiente permaneció negativo. Una menor proporción de muestras mostró crecimiento bacteriano exclusivamente en el cultivo anaeróbico (4,5%) o en ambos cultivos, aeróbico y anaeróbico (5,0%). Entre los anaerobios obligados identificados, los géneros detectados con mayor frecuencia fueron *Cutibacterium*, *Bacteroides* y *Fusobacterium*.

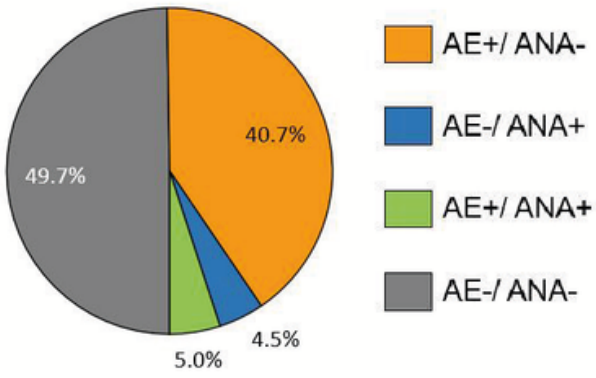


Figura 1: Proporción de muestras de hemocultivo equino bacteriológicamente positivas y negativas (%) con respecto al número total de muestras. Los resultados se clasifican según cultivo aeróbico (AE) y anaeróbico (ANA) (n = 199 muestras de sangre).

Fuente de la imagen: Laboklin

De las muestras positivas, la mayoría (71 %) eran monomicrobianas, lo que significa que solo se detectó un único microorganismo (fig. 4). En el 29 % de los casos, se identificó más de un microorganismo (cultivos polimicrobianos). Se detectó un máximo de cuatro microorganismos diferentes en una misma muestra.

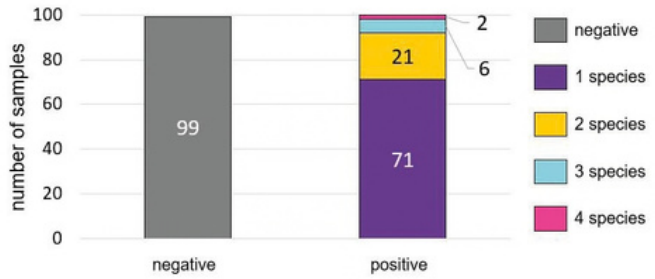


Fig. 2: Número de muestras bacteriológicamente positivas y negativas. Las muestras positivas se clasifican a su vez en cultivos monomicrobianos y polimicrobianos (n = 199 muestras).

Fuente: Laboklin

En el cultivo aerobio, se aislaron bacterias grampositivas con mayor frecuencia que las gramnegativas. Los organismos detectados con mayor frecuencia fueron los estafilococos (30,2 %), la mayoría de los cuales eran especies coagulasa-negativas (fig. 3).

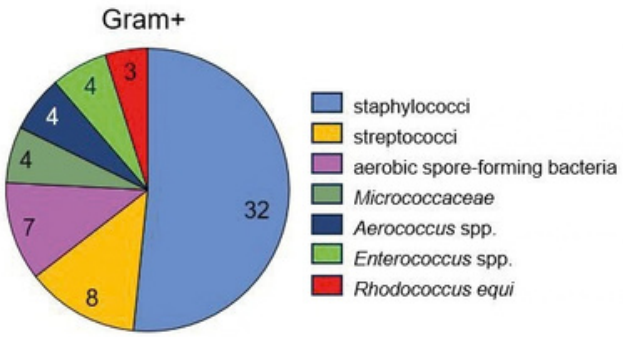


Fig. 4: Número de cepas gramnegativas aisladas a partir del cultivo aeróbico de muestras de sangre equina (n = 40 cepas).

Fuente: Laboklin

Entre las cepas gramnegativas, las enterobacterales fueron el grupo predominante (18,9 %), siendo *Escherichia coli* la especie identificada con mayor frecuencia (9,4 %) (fig. 4).

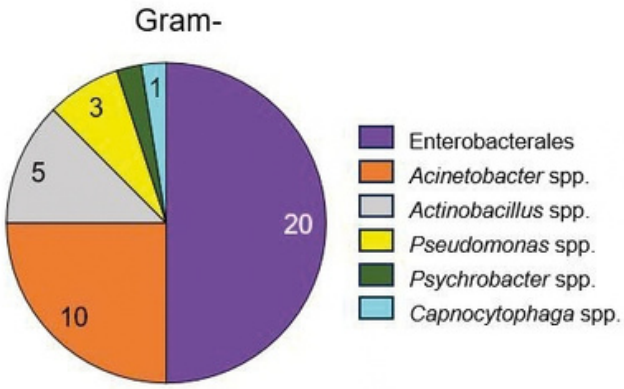


Fig. 4: Número de cepas gramnegativas aisladas a partir del cultivo aeróbico de muestras de sangre equina (n = 40 cepas).

Fuente: Laboklin

Conclusión

Los hemocultivos se consideran el método de referencia para detectar la bacteriemia en pacientes con sospecha de sepsis, especialmente cuando el origen de la infección no está claro pero se sospecha una infección sistémica. Una limitación importante es el tiempo que se tarda en obtener los resultados de los hemocultivos, que pueden tardar varios días y pueden resultar negativos a pesar de una fuerte sospecha clínica de infección.
Además, la importancia clínica de los microorganismos aislados no siempre es evidente. No obstante, los hemocultivos detectan patógenos viables y proporcionan información diagnóstica valiosa. Los perfiles individuales de sensibilidad a los antimicrobianos permiten adaptar el tratamiento al paciente, lo que respalda la gestión responsable de los antibióticos y ayuda a limitar el desarrollo de la resistencia a los mismos. La fiabilidad de los resultados depende de una recogida adecuada de las muestras, lo que incluye técnicas asépticas y la manipulación y el almacenamiento correctos de los frascos de hemocultivo. Al igual que con todas las pruebas diagnósticas, los resultados siempre deben interpretarse en el contexto clínico.

Dr. Marie-Louise Geisler

Nuestros servivios:

- Hemocultivo (aerobios y anaerobios)
- Antibiograma (aerobios)
- Antibiograma (anaerobios)

Referencias:

Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, Bellomo R, Bernard GR, Chiche JD, Coopersmith CM, Hotchkiss RS, Levy MM, Marshall JC, Martin GS, Opal SM, Rubenfeld GD, van der Poll T, Vincent JL, Angus DC. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). JAMA. 2016 Feb 23;315(8):801-10. doi: 10.1001/jama.2016.0287....