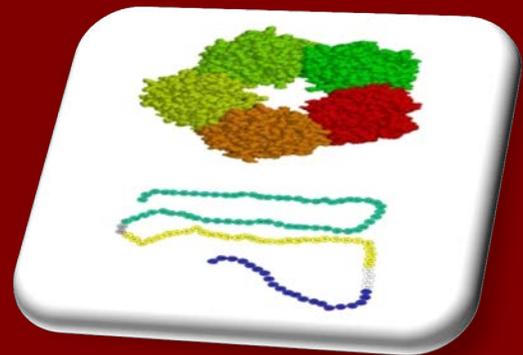


**INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL PEDRO KOURÍ
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA**

**INFECCIÓN DEL TORRENTE SANGUÍNEO EN PACIENTES VIH/sida:
AGENTES CAUSALES, SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA Y VALOR
DE LOS BIOMARCADORES. CUBA, 2012**



TRABAJO PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE MÁSTER EN BACTERIOLOGÍA-MICOLOGÍA

AUTORA: Dra. ARIANNA CASTILLO MARSHALL

TUTORES: Dra. ISABEL MARTÍNEZ MOTA. Dr C

Dra. TERSILIA GARCÍA CASTELLANOS. MSc

ASESORES: Lic. DANIEL SALAZAR RODRÍGUEZ.

Dra. MARÍA EUGENIA TOLEDO ROMANÍ. Dr C

Lic. YOHANDRA ABAD HAMOTH. MSc

LA HABANA. 2013

INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL PEDRO KOURÍ

DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

**INFECCIÓN DEL TORRENTE SANGUÍNEO EN PACIENTES VIH/sida:
AGENTES CAUSALES, SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA Y VALOR
DE LOS BIOMARCADORES. CUBA, 2012**

TRABAJO PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE MÁSTER EN BACTERIOLOGÍA-MICOLOGÍA

AUTORA: Dra. ARIANNA CASTILLO MARSHALL.

TUTORES: Dra. ISABEL MARTÍNEZ MOTA. Dr C

Dra. TERSILIA GARCÍA CASTELLANOS. MSc

ASESORES: Lic. DANIEL SALAZAR RODRÍGUEZ.

Dra. MARÍA EUGENIA TOLEDO. Dr C

Lic. YOHANDRA ABAD HAMOTH. MSc

LA HABANA. 2013



“La ciencia no conoce país, porque el conocimiento pertenece a la humanidad, y es la antorcha que ilumina el mundo.”

Louis Pasteur



AGRADECIMIENTOS

Realizar los agradecimientos es siempre una tarea difícil, pues nos queda la duda y el temor al olvido.

Ante todo quisiera hacer mis más extensivos agradecimientos a mis tutoras la Dra. Isabel Martínez por sus oportunos consejos y sin los cuales no hubiera sido posible la culminación de este trabajo y muy especialmente a la Dra. Tersilia Castellanos por la confianza depositada en mí y por el ejemplo que representa para mí como profesional.

Igualmente a mis asesores Lic. Daniel Salazar por cada muestra de cariño, por cada regaño, por hacerme cada día mejor persona e inculcarme este amor inmenso por la especialidad. A la Dra. María Eugenia Toledo y a LA Licenciada Yohandra Abad por su ayuda desinteresada, y por su apoyo.

Hago extensiva también mi gratitud a todo el personal del Departamento de Microbiología Clínica del Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí, en especial a Teresa Reyes por su ejemplo y dedicación, así como por todo lo que a su lado he aprendido. También a los médicos de la subdirección de atención médica muy especialmente a la Dra. Olga Castaño por su colaboración.

No puedo dejar de mencionar a las profesoras del área de docencia, en especial a Maribel, quien ha sido nuestra guía en este arduo trabajo y a Lázaro por cada muestra de cariño y por su apoyo incondicional de padre de cada una de nosotras.

No por último menos importante: a mis compañeros, con los que he compartido buenos y no tan buenos momentos, es una larga lista de nombres que sería interminable y todos saben que les estoy eternamente agradecida.

DEDICATORIA

*A mis familiares por su apoyo y ejemplo
A Ale por todo su amor
y a mis cuatro grandes amigas, por estar siempre presentes.....*

RESUMEN

Los individuos seropositivos al virus de la inmunodeficiencia humana, tienen un alto riesgo para desarrollar una infección del torrente sanguíneo. Con el objetivo de identificar los agentes etiológicos, la susceptibilidad antimicrobiana y la utilidad de la proteína C reactiva y la procalcitonina en la detección de esta entidad, se realizó un estudio observacional con un caso y control anidado, desde febrero hasta diciembre de 2012. En el estudio observacional se incluyeron 118 pacientes y de ellos 60 enfermos se seleccionaron de forma aleatoria para el de caso y control. La identificación microbiológica y el comportamiento de la susceptibilidad antimicrobiana se realizaron mediante el sistema automatizado VITEK 2 Compact. La capacidad discriminativa de los biomarcadores se analizó mediante las curvas de *ROC*. Se constató bacteriemia verdadera en 30,5% de los casos. Entre los microorganismos identificados, 40,5% fueron enterobacterias, con predominio de *Klebsiella pneumoniae* (18,9%). *Staphylococcus aureus* (13,5%), constituyó la principal bacteria grampositiva aislada. Hubo resistencia a las cefalosporinas de 3^a generación en las enterobacterias y 40% de las cepas de *Staphylococcus aureus* fueron resistentes a la metilina. La procalcitonina mostró una mayor capacidad discriminativa para la detección de bacteriemia o fungemia.

ABREVIATURAS

AAC: Acetiltransferasas

ANT: Nucleotidiltransferasas

APH: Fosfotransferasas

ARN: Ácido ribonucleico

AUC: Área bajo la curva (*Area under curve*)

BLEE: β -lactamasa de espectro extendido

CD: Grupo de diferenciación (*Cluster of differentiation*)

CLSI: Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorios (*Clinical and Laboratory Standards Institute*)

CVC: Catéter venoso central

EDTA: Acido etilendiamino tetrácetico

IAAS: Infecciones asociadas a la asistencia sanitaria

IC: Intervalo de confianza

IL: Interleucina

kDa: Kilodalton

OMS: Organización Mundial de la Salud

PBP: Proteínas fijadoras de penicilina (*Penicilin binding protein*)

PCR: Proteína C reactiva

PCT: Procalcitonina

SARM: *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina

Sida: Síndrome de inmunodeficiencia adquirida

SPS: Polianetol sulfonatosódico

TARVAE: Terapia antirretroviral de alta eficacia

VIH: Virus de la inmunodeficiencia humana

ÍNDICE	PÁGINAS
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	5
III. MARCO TEÓRICO	6
3.1 Indicaciones de los hemocultivos	6
3.2 Obtención de la muestra de sangre	7
3.2.1 Asepsia de la piel	7
3.2.2 Venopunción	8
3.2.3 Extracción de la muestra de sangre	8
3.3 Número de las extracciones	9
3.4 Volumen y dilución de la sangre	9
3.5 Elección del sistema de cultivo de sangre	10
3.6 Interpretación de los resultados	12
3.7 Biomarcadores	14
3.7.1 Proteína C reactiva	14
3.7.2 Procalcitonina	16
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	19
4.1. Diseño y período del estudio	19
4.2. Universo	19
4.2.1. Definición de caso	19
4.2.2. Estudio de caso control anidado	20
4.3. Recolección y procesamiento de las muestras biológicas	21
4.3.1. Identificación, cultivo y aislamiento	22

4.3.2. Determinación de la procalcitonina y la proteína C reactiva	23
4.5. Recolección de la información	23
4.6. Procesamiento y análisis estadístico	24
4.7. Consideraciones éticas	24
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25
5.1. Resultados del cultivo microbiológico	26
5.2. Distribución de los microorganismos identificados como agentes causales de infección del torrente sanguíneo en pacientes VIH/sida	28
5.3. Susceptibilidad antimicrobiana de los microorganismos gramnegativos identificados	33
5.4. Susceptibilidad antimicrobiana de los microorganismos grampositivos identificados	41
5.5. Utilidad de los biomarcadores para detectar una bacteriemia o fungemia	45
VI. CONCLUSIONES	55
VII. RECOMENDACIONES	56
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57

I. INTRODUCCIÓN

La detección de la infección del torrente sanguíneo constituye una de las prioridades del Servicio de Microbiología Clínica, dada su importancia para establecer el diagnóstico y pronóstico de las enfermedades infecciosas. Esta afección se asocia con una elevada mortalidad que oscila entre 20 y 50% (Loza *et al.*, 2003).

La bacteriemia y la fungemia (BF) se definen como la presencia de bacterias u hongos en la sangre, que se ponen de manifiesto por el aislamiento de estos microorganismos en los hemocultivos. Se producen cuando estos invaden el torrente sanguíneo y se multiplican a un ritmo que supera la capacidad del sistema reticuloendotelial para eliminarlos. La invasión puede producirse desde un foco infeccioso extravascular, a través de los capilares sanguíneos o de los vasos linfáticos, así como desde un foco intravascular (endocarditis, infección de catéteres intravenosos o arteriales). Según la forma de aparición de los microorganismos en la sangre, las bacteriemias o fungemias pueden ser transitorias, continuas o intermitentes, aunque esta definición es difícil de establecer y poco práctica desde el punto de vista microbiológico. Afectan a las personas de cualquier edad, sobre todo a los pacientes con graves enfermedades de base y a los sometidos a maniobras que alteran los mecanismos locales y generales de defensa frente a la infección. Los focos más frecuentes son el tracto genitourinario, los abscesos, las heridas quirúrgicas, el tracto biliar y los catéteres intravasculares, aunque 25% de los casos no tienen un foco originario conocido (Siegman *et al.*, 2002; Friedman *et al.*, 2002; Loza *et al.*, 2003; García *et al.*, 2006).

La mayoría de los microorganismos son capaces de invadir el torrente circulatorio debido a múltiples causas, entre las mismas se destacan la utilización de los antimicrobianos de amplio espectro, el uso generalizado de catéteres intravasculares y el empleo de métodos de diagnóstico invasivos. En la actualidad las bacterias grampositivas, especialmente estafilococos y

enterococos, igualan o superan en frecuencia a las gramnegativas. El desarrollo de infecciones fúngicas se debe en gran medida a *Candida* spp., y *Aspergillus* spp., microorganismos situados entre los principales patógenos en algunos grupos de pacientes, pero al mismo tiempo emergen otras especies capaces de afectar a las personas con enfermedades inmunitarias o debilitantes tales como *Cryptococcus neoformans*, *Scedosporium* spp., *Fusarium* spp., o *Trichosporon* spp. Estas especies patógenas que acaparan la atención en las últimas décadas, muestran escasa virulencia y exhiben cierta resistencia *in vitro* a los antifúngicos, causan micosis invasora en pacientes muy debilitados, cuyo tratamiento es complicado (Cuenca, 2002; Loza *et al.*, 2003; Sabatier *et al.*, 2009).

En las últimas décadas se produce una notable variación en la epidemiología, etiología y características clínicas de las BF. Este cambio ha sido paralelo a los avances médicos, a la aparición de diferentes tipos de hospederos y al desarrollo de nuevos antimicrobianos (Pazos *et al.*, 2001; Martin *et al.*, 2003; Cobo *et al.*, 2006; García *et al.*, 2006).

Los individuos seropositivos al virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), en comparación con las personas seronegativas, tienen un alto riesgo de desarrollar una BF y los datos previos indican una alta morbilidad y mortalidad asociada a esta entidad. El espectro causal de los microorganismos que producen infección del torrente sanguíneo está influido por varios factores, entre ellos se citan: el área geográfica, el nivel socioeconómico de la población afectada y determinadas prácticas de riesgo que incluyen el uso de drogas endovenosas y la aplicación de catéter venoso central (Torres *et al.*, 2004).

La introducción de la terapia antirretroviral de alta eficacia (TARVAE), modificó las principales características de la BF. En la etapa previa al empleo de la TARVAE, como causa de la mayoría de los episodios se destacaban: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp., y *Salmonella* spp. En la actualidad, el origen de la bacteriemia en este tipo de pacientes es de predominio

nosocomial y la etiología muestra una reducción progresiva de las micobacterias y las bacterias gramnegativas, con un incremento de las grampositivas (Arthur *et al.*, 2001; Petrosillo *et al.*, 2002; Torres *et al.*, 2004; Cobo *et al.*, 2006).

En la mayoría de los casos, la presencia de BF en el paciente infectado por el VIH cursa como una enfermedad febril con diversas manifestaciones de gravedad y su diagnóstico dependerá de la obtención de los cultivos en el momento oportuno y con las condiciones adecuadas. El hemocultivo constituye aún la prueba de oro del diagnóstico microbiológico, ya que permite la identificación del agente etiológico y la realización del estudio de la susceptibilidad antimicrobiana. En los últimos años se introducen varios sistemas automatizados, que eliminan toda la manipulación, realizan una agitación continua de los frascos y la monitorización con notificación inmediata de los resultados positivos. Estas ventajas posibilitan la disminución de la contaminación cruzada por técnicas de detección no invasivas y un aumento del espectro de microorganismos detectados, así como un aumento de la sensibilidad de los hemocultivos, lo que permite mejorar la capacidad diagnóstica de las bacteriemias y realizar un uso más racional de la terapia antimicrobiana. Sin embargo, no está exento de inconvenientes como la necesidad de obtener las muestras por métodos invasores, la posible contaminación de estas y la dificultad para diferenciar fácilmente entre infección y colonización (Loza *et al.*, 2003; Torres *et al.*, 2004).

El reconocimiento temprano de los episodios de infección del torrente sanguíneo, en enfermos graves y con el hemocultivo positivo, mejora el pronóstico. Por esta razón resulta de gran utilidad contar con indicadores sensibles y específicos, cuya determinación sea rápida y se correlacione con la severidad y el pronóstico de la infección, para diferenciar entre los pacientes con una infección sistémica y aquellos que no la presentan. Varios marcadores sanguíneos se usan para la predicción de BF, entre ellos se encuentran la

procalcitonina (PCT) y la proteína C reactiva (PCR). Diversos estudios revelan que la primera es mucho más específica, si bien la PCR, es un buen marcador de infección bacteriana, de rápida determinación y fácil ejecución, hay diferencias con la PCT que la hacen menos útil en el tratamiento y monitoreo del paciente crítico. Además, está demostrado que la PCT permite distinguir entre los pacientes con una bacteriemia verdadera, de aquellos en los que el crecimiento de los microorganismos en el hemocultivo se debe a una contaminación (Simon *et al.*, 2004; Massaro *et al.*, 2007; Schuetz *et al.*, 2011).

En Cuba, la mayoría de las investigaciones sobre BF se realizan en pacientes ingresados en las unidades de cuidados intensivos y para su diagnóstico se emplean los métodos convencionales o semicuantitativos; sin embargo, en los pacientes infectados por el VIH, existen escasos estudios acerca del tema, además de insuficiente información sobre la utilidad de algunos biomarcadores en el curso de las infecciones invasivas. La trascendencia de los problemas que acarrea este fenómeno motivó la realización de esta investigación, con el propósito de describir los principales aspectos clínicos- microbiológico de los episodios de bacteriemia o fungemia, así como evaluar la utilidad de la PCT y la PCR, como marcadores tempranos de las infecciones en el torrente sanguíneo, de los pacientes con VIH/sida.

II. OBJETIVOS

- 1- Identificar los agentes etiológicos de bacteriemia y fungemia en los pacientes con VIH/sida objeto de estudio.
- 2 - Determinar la susceptibilidad antimicrobiana de los microorganismos aislados en los pacientes investigados.
- 3 - Evaluar la capacidad discriminativa de la procalcitonina y la proteína C reactiva para la detección de una infección del torrente circulatorio en los pacientes VIH/sida estudiados.

III. MARCO TEÓRICO

La bacteriemia y la sepsis se asocian con una alta mortalidad, un incremento de la estadía hospitalaria y costos elevados. Sin lugar a dudas su diagnóstico es de suma importancia para el laboratorio de microbiología; ya que su no detección pudiera conducir a un shock séptico o a la muerte del paciente en 24 horas. Por ubicarse los hemocultivos entre las muestras más importantes y útiles para el diagnóstico de muchas infecciones severas, es necesario optimizar todas las variables que afectan su rendimiento e interpretación (Pascual, 2003; Dreyer, 2012).

3.1 Indicaciones de los hemocultivos

Es imposible detallar todas las situaciones en las que se deben extraer muestras de sangre para cultivos, pero de forma general, estas deben realizarse antes de la administración de la terapia antimicrobiana sistémica, siempre que exista una sospecha clínica de sepsis, meningitis, osteomielitis, pielonefritis, infección intraabdominal, artritis, infecciones graves de la piel y los tejidos blandos, neumonía, endocarditis y fiebre de origen desconocido (absceso oculto, fiebre tifoidea, brucelosis, tularemia, entre otras). Los signos que orientan esta sospecha incluyen la fiebre o hipotermia (en neonatos y ancianos), los escalofríos, la leucocitosis o granulocitopenia, el deterioro uni o multiorgánico de etiología no aclarada, el choque, así como, el compromiso hemodinámico de causa desconocida y las combinaciones de algunos de ellos. La indicación y extracción de sangre para la realización de hemocultivos está indicada, asimismo, en los niños pequeños o ancianos con una disminución súbita de la vitalidad, ya que en estas poblaciones pueden no presentarse los signos y síntomas típicos de una infección sistémica. El cultivo de la sangre debe complementarse con el de otros fluidos corporales como el líquido cefalorraquídeo (LCR), la orina, las muestras del tracto respiratorio inferior o el líquido sinovial, en aquellos pacientes con una sospecha clínica de meningitis, pielonefritis, neumonía o artritis séptica, respectivamente (Loza *et al.*, 2003).

3.2 Obtención de la muestra de sangre

La probabilidad de que el resultado de los hemocultivos positivos represente una BF verdadera aumenta cuando la muestra se obtiene de forma adecuada. Algunos estudios sugieren que el momento óptimo para la extracción es antes del inicio de los escalofríos, pero como este hecho es imposible de predecir con exactitud, se recomienda la obtención de la sangre lo antes posible, después del comienzo de la fiebre y los escalofríos o siempre que se sospeche una infección grave. No obstante, el momento de la extracción es indiferente si la bacteriemia es continua como en la endocarditis u otras infecciones intravasculares y en las primeras semanas de la fiebre tifoidea o la brucelosis. No ocurre lo mismo en la bacteriemia intermitente presente en diferentes infecciones y en la bacteriemia transitoria, generalmente autolimitada y benigna, que suele producirse después de manipulaciones en las superficies mucosas no estériles (procedimientos dentales o urológicos, endoscopias), en los tejidos infectados (abscesos, forúnculos, celulitis) o en la cirugía de áreas contaminadas. En ambos casos, de ser posible, la muestra debe extraerse lo más cercana al pico febril, aunque, respecto a los plazos y el intervalo, las recomendaciones actuales, incluyen la obtención de dos muestras separadas por varios minutos de diferencia a partir de dos sitios distintos en las primeras 24 horas, con dos series subsiguientes a intervalos de tiempo diferentes, sí el estado clínico del paciente empeora. (Cockerill *et al.*, 2004; Riedel *et al.*, 2008; Dreyer, 2012). Si los pacientes están bajo tratamiento antibiótico, se deben utilizar botellas que contengan resinas para neutralizar los agentes antimicrobianos y mejorar la detección de los microorganismos (Baron *et al.*, 2005; Wayne, 2007).

3.2.1 Asepsia de la piel

El principal problema para la interpretación correcta de los hemocultivos es su contaminación con la microbiota cutánea durante la extracción. Para evitarla debe prepararse antes meticulosamente la piel de la zona de extracción.

Después de la palpación de la vena elegida para la punción se limpiará la zona con alcohol isopropílico o etílico. A continuación se aplicará una solución yodada, que cubra un área circular de 2-4 cm de diámetro. Es importante dejar secar el compuesto yodado para que ejerza su acción oxidante y evitar tocar con los dedos el lugar de la venopunción, así como hablar o toser mientras se realiza la extracción. En los pacientes alérgicos a los compuestos yodados se deben realizar dos limpiezas con alcohol isopropílico (Calfee *et al.*, 2002).

En la actualidad se recomienda el uso de gluconato de clorhexidina al 2% y el alcohol isopropílico (70%) como antiséptico de la piel, debido a que, en comparación con otras formulaciones, proporcionan una mejor actividad. Con la aplicación de una técnica aséptica correcta, el número de hemocultivos contaminados no debe exceder de 3% (Adams *et al.*, 2005).

3.2.2 Venopunción

La muestra para realizar un hemocultivo debe extraerse de una vena, generalmente se utilizan las del antebrazo. El empleo de la sangre arterial no muestra ventajas sobre la venosa. Su extracción no debe realizarse a través de los catéteres intravenosos o intraarteriales, salvo en los casos donde se sospeche una BF asociada a la utilización de catéteres. Sin embargo, en los enfermos graves, donde el acceso venoso es un problema, se puede utilizar el catéter venoso central (CVC) o una línea arterial para la toma de la muestra. En los pacientes con un CVC, la obtención de los hemocultivos, se hará tanto de la punción venosa periférica como del CVC para aumentar la sensibilidad (Beutz *et al.*, 2003).

3.2.3 Extracción de la muestra de sangre

Antes de proceder a la extracción de la muestra, los tapones de los frascos de hemocultivo se limpiaran con una solución antiséptica, esta se dejará secar para evitar su entrada al interior del frasco durante la maniobra de inoculación de la sangre, ya que la introducción de pequeñas cantidades de antiséptico en

el frasco puede inhibir el crecimiento bacteriano. A continuación se insertará la aguja en la vena elegida y se extraerá el volumen de sangre sin utilizar anticoagulante. No debe ponerse algodón u otro material no estéril sobre la aguja en el momento de sacarla de la vena. Los frascos de hemocultivo deben inocularse de forma rápida para evitar la coagulación de la sangre en la jeringa, atravesándolos con la aguja en posición vertical. Diferentes estudios demuestran que el cambio de agujas no disminuye la tasa de contaminación y aumenta el riesgo de un pinchazo accidental, aunque otros sugieren lo contrario. Se inocula en primer lugar el frasco anaerobio, evitando la entrada de aire, seguido del aerobio, invirtiéndolos varias veces para mezclar la sangre y el medio de cultivo (Loza *et al.*, 2003).

3.3 Número de las extracciones

Se considera una extracción para hemocultivo a la sangre obtenida de una única venopunción, independientemente del número de frascos donde se inocula, de forma habitual dos (aerobio y anaerobio). El número de extracciones considerado óptimo para la documentación de un episodio de infección del torrente sanguíneo es de 2 a 3. De esta manera se logra más de 95% de detección de las BF. Desde el punto de vista costo/beneficio, un mayor número de extracciones es desaconsejable e incrementa, sin necesidad, el trabajo del laboratorio. No obstante, en los pacientes con una sospecha de endocarditis sobre prótesis, donde puede ser difícil interpretar el aislamiento repetido de estafilococos coagulasa negativa, o en casos de endocarditis con hemocultivos inicialmente negativos ocasionados por microorganismos de difícil crecimiento, puede ser útil la disponibilidad de un mayor número de extracciones (Wayne, 2007; Lee *et al.*, 2007).

3.4 Volumen y dilución de la sangre

De todas las variables que influyen en el aislamiento de una bacteria u hongo a partir de un hemocultivo, el volumen de sangre a cultivar es lo más importante debido al bajo número de microorganismos presentes en la mayoría de las BF.

La mayor parte de los escasos recuentos realizados muestran cifras próximas a 10 UFC/mL de sangre o inferiores y muy rara vez se superan 100 UFC/mL. En los adultos, el volumen recomendado por cada venopunción es de 10 mL, ya que con volúmenes menores se demuestra una disminución del índice de positividad. Se considera que este índice aumenta entre 3-5% por cada mililitro adicional de sangre cultivada. Sin embargo, la recomendación de aumentar el volumen por extracción no se aplica, en cierta medida, por la anemia que se puede provocar al paciente y para mantener la proporción de volumen de sangre/medio de cultivo. La dilución de la sangre en el medio de cultivo es necesaria para neutralizar sus propiedades bactericidas. En los pacientes tratados con antimicrobianos esta dilución permite, además, conseguir la disminución de estos fármacos hasta alcanzar concentraciones subinhibitorias. La dilución final recomendada es de 1/5 a 1/10 (volumen/volumen) ya que diluciones inferiores a 1/5 reducen la positividad (Loza *et al.*, 2003; Dreyer, 2012).

3.5 Elección del sistema de cultivo de sangre

Están disponibles varios sistemas comerciales de hemocultivo. El responsable del laboratorio debe servir de enlace con los médicos en la selección del mejor sistema, para lograr los resultados óptimos en su población específica de pacientes y la carga de trabajo. Los sistemas de hemocultivos difieren con respecto a la sensibilidad, la capacidad de carga de trabajo y los costos asociados. No existe un sistema perfecto capaz de detectar todos los microorganismos posibles (Dreyer, 2012).

En general existen tres tipos de sistemas de hemocultivos:

- Manuales o convencionales: Es un método muy simple, desde el punto de vista técnico. Se basa en la observación macroscópica de los signos de crecimiento de una pareja de frascos con medio de cultivo líquido en los que se inocula la sangre del paciente. Los frascos de hemocultivo llevan incorporado un anticoagulante, la mayoría polianetol sulfonatosódico (SPS, por sus siglas en

inglés) a una concentración de 0,006 a 0,05%, que inhibe la actividad bactericida del suero humano y además puede dificultar el crecimiento de algunos microorganismos. En ocasiones a estos medios se le incorpora resinas para neutralizar los antibióticos cuando el paciente recibe tratamiento antimicrobiano previo. La mayoría de los microorganismos potencialmente patógenos, responsables de bacteriemia, se aíslan en los hemocultivos entre las 18 y 72 horas siguientes del inicio de su incubación. Más de 95% de los microorganismos se obtienen durante la primera semana, lo que motiva mantener la incubación durante siete días (Loza *et al.*, 2003).

Los frascos se observan todos los días para detectar signos visibles de crecimiento bacteriano como el enturbiamiento del medio, la lisis de los hematíes, la producción de gas o la formación de colonias en el fondo del frasco. No obstante, se detecta crecimiento macroscópico a partir de 10^7 UFC/mL. El problema de la detección macroscópica además del retraso, estriba en la presencia de falsos positivos y negativos. Hay causas ajenas al crecimiento bacteriano que pueden enturbiar el medio o lisar los hematíes y, por el contrario, hay microorganismos que pueden crecer sin producir ningún signo macroscópico de crecimiento, lo que obliga a complementar la visualización macroscópica con el examen microscópico (Loza *et al.*, 2003).

- Semiautomatizados (lisis-centrifugación): Consiste en un tubo que contiene saponina como agente lisante, polipropilenglicol como agente antiespumante, SPS y ácido etilendiamino tetrácetico (EDTA, por sus siglas en inglés) como anticoagulantes y un líquido fluoroquímico inerte. Con este sistema se consigue una mayor recuperación de microorganismos y brinda también más rapidez que los métodos convencionales. Es útil para la recuperación de microorganismos de crecimiento lento y fastidioso, incluyendo a los hongos filamentosos o dimórficos y *Bartonella henselae*. Su característica principal radica en la capacidad para lisar los leucocitos sanguíneos y la posterior liberación al medio de los posibles microorganismos fagocitados, por lo que es el método de elección para el aislamiento de *Histoplasma capsulatum*, cuya fase

levaduriforme es esencialmente intracelular. Por otra parte, al permitir la siembra en cualquier medio sólido, también es muy útil para el aislamiento de levaduras con requerimientos especiales para su crecimiento, como las especies del género *Malassezia*, incapaces de crecer en los frascos de hemocultivos automatizados al no estar enriquecidos con ácidos grasos. Entre los inconvenientes del sistema de lisis-centrifugación hay que destacar su mayor laboriosidad, sobre todo cuando se le compara con los sistemas automatizados y la mayor posibilidad de contaminaciones en manos de un personal no adiestrado (Weinstein, 1996).

- Automatizados: Estos sistemas se consideran un avance en la microbiología clínica y son actualmente, la plataforma preferida en todo el mundo. Se introducen en la década de 1970, evolucionando con el tiempo, por ejemplo, la serie comienza con Bactec sistema radiométrico, sustituido más tarde por otros métodos no radiométricos. Los tres principales sistemas disponibles son el BacT/ALERT (*BioMérieux, Durham, NC*), Bactec 9000 (*BD Microbiología, Cockeysville, MD*) y el sistema VersaTREK (*Trek Diagnostic Systems, Cleveland, Ohio*). Todos se basan en la detección de la producción de CO₂ por los microorganismos y difieren en su método de detección, en la capacidad de los frascos, en el tipo de medio de cultivo utilizado, en la frecuencia de lectura y en la capacidad máxima de las incubadoras. Los datos obtenidos en cada lectura se transmiten a un ordenador donde se almacenan y analizan, según sofisticados algoritmos que determinan cuándo se produce crecimiento bacteriano, a la vez que minimizan el número de falsos positivos y negativos. Todos los sistemas demuestran su utilidad en la detección de una infección sistémica (Jamal *et al.*, 2006; Mirret *et al.*, 2007; Dreyer, 2011; Dreyer 2012).

3.6 Interpretación de los resultados

La interpretación de un hemocultivo positivo es un reto para los médicos y microbiólogos. La posibilidad de contaminación de la mitad de todos los cultivos positivos así como, el aislamiento de un microorganismo considerado

contaminante, y que en la actualidad se implica con frecuencia en diferentes enfermedades, hace necesario contar con una herramienta capaz de distinguir entre los contaminantes y patógenos verdaderos. Para esto se deben tener en cuenta los parámetros clínicos y de laboratorio; entre los que se incluyen la fiebre, la leucocitosis, la identificación del agente y el número de botellas positivas (Weinstein, 2003).

De acuerdo con una evaluación de Weinstein *et al* (1997), hay microorganismos que son patógenos en elevados porcentajes (más de 90%) y en estos casos se incluyen: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*, otras Enterobacteriaceae, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Listeria monocytogenes*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Haemophilus influenzae*, *Bacteroides fragilis*, *Candida albicans*, otras especies de *Candida* y *Cryptococcus neoformans*. Los organismos que con menos frecuencia se consideran patógenos incluyen: *Propionibacterium acnes*, especies de *Bacillus*, *Corynebacterium* spp., excepto *C. jeikeium* y estreptococos del grupo viridans. El aislamiento de estafilococo coagulasa negativa en frascos de hemocultivos positivos representa un desafío para los médicos en el momento de decidir la importancia del hallazgo. Estos microorganismos, son los contaminantes más comunes y los pacientes con una infección verdadera tienen a menudo síntomas leves, lo que dificulta su interpretación. Varios estudios informan su verdadera patogenicidad y capacidad para causar bacteriemia, sobre todo, en los pacientes con dispositivos protésicos o CVC (Tokars, 2004; Rahkonen *et al.*, 2012). El valor de obtener más de una botella de hemocultivo mejora el rendimiento para la detección de una infección sistémica y su interpretación, ya que los contaminantes se obtienen a menudo a partir de una sola muestra, mientras que, en los casos de BF verdaderas, el mismo microorganismo crecerá en múltiples botellas (Weinstein *et al.*, 1997).

3.7 Biomarcadores

En general, el tiempo de respuesta de los estudios microbiológicos, limita la posibilidad de establecer un diagnóstico etiológico temprano y la mayoría de los grupos de trabajo utilizan 2-3 marcadores de infección (reactantes de fase aguda) junto con los signos y síntomas del paciente para iniciar un tratamiento antimicrobiano empírico. Sin embargo, aun combinando estos marcadores entre sí, su sensibilidad y especificidad no es del todo aceptable por lo que la búsqueda de un marcador de infección con alta sensibilidad y especificidad, de fácil realización y tiempo de respuesta rápido es el objetivo de numerosos investigadores, intentando con ello mejorar la evolución del paciente, disminuir la estancia en el hospital y la posible terapia antibiótica innecesaria (Duque, 2009). Entre los marcadores más difundidos se encuentran la PCR y la PTC.

3.7.1 Proteína C reactiva

Se describe por primera vez en 1930, en el laboratorio de Oswald Avery, quien al estudiar a pacientes infectados con *S. pneumoniae* observa que en los primeros estadios de la enfermedad, el suero de esos pacientes contenía una proteína capaz de precipitar al polisacárido C de la pared celular de neumococo. Volakanis y Kaplan, 40 años después identifican que el receptor de la PCR es la fosfatidilcolina, un componente del ácido teicoico de la pared celular del neumococo (Duque, 2009).

La PCR circulante está formada por un pentámero de cinco polipéptidos iguales no glicosilados de 21 kDa (206 aminoácidos) cada uno, que se disponen de manera simétrica alrededor de un poro central, con un peso molecular total de 118 000 Da. Pertenece a la familia de las pentraxinas y se sospecha que los residuos fenilalanina-66 y glicina-81 juegan un papel muy importante en su unión con la fosfocolina (Duque, 2009).

El gen que codifica la PCR se localiza en el brazo corto del cromosoma 1 y la síntesis en los hepatocitos está regulada principalmente a nivel transcripcional a través de la IL-6 y la IL-1 β . Se sintetiza fundamentalmente en el hígado, pero

se describe también una síntesis extrahepática [neuronas, placa de ateroma, monocitos y linfocitos] (Duque, 2009).

La PCR se une a las fosfocolinas localizadas en múltiples bacterias y es un constituyente de la esfingomielina y fosfatidilcolina de las membranas eucarióticas; sin embargo, estos puntos de unión solo son accesibles para la PCR en las células dañadas y apoptóticas. Se conocen dos tipos de receptores de la PCR, los estimuladores y los inhibidores (Black *et al.*, 2004).

Se observa que la PCR tiene actividad tanto antiinflamatoria, al inducir la expresión del antagonista del receptor de la IL-1, aumentar la liberación de la IL-10 e inhibir la síntesis del IFN- γ , como proinflamatoria, al activar el complemento (Co), aumentar la expresión de las moléculas de adhesión en las células endoteliales, estimular la liberación de la IL-8, aumentar la expresión y actividad del inhibidor tipo 1 del activador del plasminógeno y aumentar la liberación de la IL-1, la IL-6, la IL-18 y el TNF- α . Como consecuencia de estas actividades contrapuestas se postula que actúa en los sistemas de defensa del organismo, mientras que inhibe los efectos nocivos de una reacción inflamatoria exacerbada (Edward, 2004).

Constituye la primera línea de defensa del organismo porque activa la vía clásica del Co a nivel de C1 a C4, con escasa activación de C5 a C9. Este hecho puede deberse a que la activación del Co no se produce por un complejo antígeno-anticuerpo. Al parecer, interactúa con el factor H lo que conlleva a una formación de C5 convertasas, estimulando la fagocitosis y uniéndose a los receptores de las inmunoglobulinas (Duque, 2009).

La utilidad clásica y más extendida de la PCR es su aplicación como marcador de infección bacteriana y sepsis, pero no con una determinación aislada sino mediante una monitorización de la misma, que permita conocer el comienzo de la infección, así como la idoneidad del tratamiento (Póvoa *et al.*, 2006). En la actualidad se recomienda el uso de la PCR en el laboratorio de urgencias, debido a que se determina por un procedimiento de fácil reproducibilidad,

medible y estandarizable y por tanto disponible las 24 horas. Además, no requiere ayuno para su determinación. Es una proteína estable tres días a la temperatura ambiente y siete días a 4° C y presenta concentraciones similares en plasma de heparina de litio y suero, pero algo más bajos en plasma con EDTA, quizás por el efecto osmótico de este como anticoagulante. En los últimos años se ha mejorado el método analítico de la PCR e incluso se ha incluido dentro de los parámetros susceptibles de ser medidos en la cabecera del paciente. Sin embargo, no debe utilizarse como herramienta única de diagnóstico si no que debe considerarse junto a otros datos clínicos y de laboratorio (Roberts *et al.*, 2001; Duque, 2009).

3.7.2 Procalcitonina

Desde su descripción en 1993, múltiples estudios demuestran su utilidad como un marcador específico de infección bacteriana sistémica. La PCT es el propéptido de la hormona calcitonina (CT), que en condiciones normales se sintetiza en las células C del tiroides a partir de la preprocalcitonina, que por una secuencia señal sufre un corte por una endopeptidasa específica en el extremo amino terminal, dando lugar a la PCT. Es una glicoproteína plasmática de 116 aminoácidos con una masa molecular de 13-14 kDa. Tras su síntesis, una proteasa específica la fracciona en tres fragmentos: la calcitonina inmadura de 32 aminoácidos, un fragmento amino-terminal de 57 aminoácidos y un fragmento carboxilo-terminal, es la denominada carboxipeptidasa-I (también llamado katacalcina) de 21 aminoácidos. Una vez liberada la CT inmadura pierde un aminoácido, se amida en el extremo carboxilo terminal, dando así lugar a la calcitonina biológicamente activa (Gilbert, 2010; Díaz *et al.*, 2011; Limper *et al.*, 2011).

En sujetos sanos la concentración de PCT sérica es indetectable, pero se eleva de forma marcada (mayor de 100 ng/mL) en distintas situaciones. La sobreproducción de esta glicoproteína durante estos procesos patológicos tiene lugar en los tejidos extra tiroideos y no conlleva a un aumento de la calcitonina

ni del calcio en el suero. Esto apunta a que las células que la sintetizan en estas condiciones, carecen de la enzima proteolítica que da lugar a la calcitonina madura (Whicher *et al.*, 2001).

En algunos pacientes graves es frecuente encontrar una hipocalcemia inversamente proporcional a la concentración de PCT, pero la concentración disminuida de calcio no se debe a la concentración de esta glicoproteína y se piensa que es por la respuesta inflamatoria en sí misma. El origen de la PCT en circunstancias patológicas es incierto. Algunos autores sostienen que se sintetiza en el hígado, estudios experimentales de incubación de células hepáticas con el TNF- α y la IL-6 producen su incremento, posibilitando que el tejido hepático isquémico *per se* promueva la liberación de la PCT. De manera paralela otros autores proponen a las células neuroendocrinas del pulmón como el lugar de producción, por la detección de esta proteína en homogenados de células DMS 53 y DMS 79 (líneas celulares derivadas de carcinoma de pulmón de células pequeñas). Al parecer, su síntesis no se produce en la glándula tiroidea bajo condiciones sépticas, pues esta proteína está aumentada en pacientes tiroidectomizados (Becker *et al.*, 2008; Hesselink *et al.*, 2009; Duque, 2009).

Tras la inyección de endotoxina los niveles de PCT se elevan, la vida de los animales de experimentación aumenta después de la inyección de anticuerpos anti PCT y cuando se administra a ratones sanos estos no desarrollan sepsis, por lo que, además de ser marcador constituye un mediador en la reacción inflamatoria sistémica sin ser activador de dicha reacción. Sin embargo, se desconoce su papel en la cascada de la reacción inflamatoria y su relación con las citocinas, pero no modula su síntesis, de la misma forma que no incrementa la expresión de los receptores inflamatorios (CD-14, CD-64, CD-8) en la superficie celular, hechos que apuntan a la nula o escasa participación de la PCT en la respuesta primaria a la infección. Además, el estar su aumento precedido por un aumento de la IL-1 β y del TNF- α , y que la administración en

los animales de experimentación sanos no se acompaña de una mayor mortalidad, debido a la incapacidad de activar la cascada inflamatoria, confirman esta afirmación (Name *et al.*, 2002).

Existen discrepancias respecto a las causas que provocan un aumento de la de la PCT en los pacientes infectados. Unos autores apuestan por el lipopolisacárido de la bacteria como un estimulador de la expresión del ARNm, que a su vez es un potente activador de las células B, T y NK, al igual que la fitohemaglutinina y varias citocinas proinflamatorias (IL-1 β , IL-6, TNF- α e IL-2). Mientras que, otros piensan en la endotoxina bacteriana como un factor desencadenante en estos pacientes. Incluso se sugiere que las citocinas en sí mismas son capaces de liberar PCT en ausencia de la endotoxina (Hesselink *et al.*, 2009; Duque, 2009).

La cinética de su elevación es muy rápida. Tras un estímulo infeccioso, se detecta en el suero a las 2-3 horas, pero el pico máximo se presenta entre las 6-12 horas y se mantiene en meseta después de las 24 horas. En ausencia de estímulos posteriores, los valores de PCT volverán a la normalidad alrededor del tercer día, permaneciendo elevados, mientras no se resuelva el proceso infeccioso. La PCT tiene una semivida de 24-30 horas. Es una molécula con una alta estabilidad sérica, característica fundamental para su monitorización. La vía específica de eliminación no está establecida, aunque es posible sea degradada por proteólisis. Según los estudios realizados por Meisner *et al* (2001), la excreción renal es minoritaria, alrededor de un tercio de la concentración plasmática y, por tanto, sus concentraciones en sangre no se afectan como consecuencia de una insuficiencia renal. También se apunta que, la PCT parece no perder utilidad diagnóstica en los pacientes con insuficiencia renal, cualquiera que sea el grado de la misma (Díaz *et al.*, 2011).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Diseño y período del estudio

Se realizó un estudio observacional, con un caso y control anidado, en los pacientes VIH/sida con una sospecha clínica de una infección del torrente sanguíneo ingresados en el Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí. Las muestras se procesaron en el Departamento de Microbiología Clínica, durante el período comprendido entre febrero y diciembre de 2012.

4.2. Universo

Se seleccionaron los pacientes con diagnóstico de infección por el VIH, confirmados por Western-Blot, que durante su ingreso presentaron un cuadro clínico sugestivo de infección del torrente sanguíneo. En el estudio observacional, se incluyeron los 118 pacientes que cumplían los criterios de inclusión referidos a continuación.

Criterios de inclusión

Se incluyeron los pacientes con sospecha clínica de BF, a los cuales se les indicó, por parte del facultativo correspondiente, 2 ó 3 muestras de hemocultivo y a los que se les pudo tomar muestra de suero para la determinación de la PCT y la PCR en el mismo momento que se realizó el primer hemocultivo.

4.2.1. Definición de caso

- Bacteriemia o fungemia verdadera: Según los criterios descritos por la Sociedad Española de Infectología y Microbiología Clínica: (SEIMC) (Cobo *et al.*, 2006)

a) Se aisló, en al menos un hemocultivo, un microorganismo que no es una causa habitual de contaminación, en un paciente con un cuadro clínico compatible con una bacteriemia.

b) Se aisló, en al menos dos hemocultivos obtenidos de punciones distintas de vena periférica o de vena periférica y catéter, un microorganismo que contamina

habitualmente los hemocultivos, en un paciente con un cuadro clínico compatible con una bacteriemia o fungemia.

- Bacteriemia- fungemia falsa o contaminación:

a) Se obtuvo un único hemocultivo positivo de un microorganismo usualmente considerado contaminante y sucesivos hemocultivos negativos dentro de las 48 horas.

- Casos negativos: Si los resultados de los hemocultivos fueron negativos.

Categoría de los microorganismos para la interpretación del hemocultivo según Weinstein et al (1997).

- ❖ Microorganismos que son patógenos en elevados porcentajes (más de 90%): *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*, otras Enterobacteriaceae, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Listeria monocytogenes*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Haemophilus influenzae*, *Bacteroides fragilis*, *Candida albicans*, otras especies de *Candida* y *Cryptococcus neoformans*, *Rhodococcus equi*.
- ❖ Microorganismos que con menos frecuencia se consideran patógenos: *Staphylococcus coagulasa negativa*, *Propionibacterium acnes*, especies de *Bacillus*, *Corynebacterium* spp., excepto *C. jeikeium* y estreptococos del grupo viridans, *Leuconostoc mesenteroides*, *Streptococcus gallolyticus*.

4.2.2. Estudio de caso control anidado

Para evaluar la utilidad de los marcadores se seleccionaron aleatoriamente 30 de los pacientes que cumplían la definición de casos y que habían desarrollado un episodio de bacteriemia o fungemia verdadera, que constituyeron el grupo de casos. Como controles se incluyeron 30 pacientes (aleatoriamente seleccionados) cuyos resultados de los cultivos fueron negativos, obteniéndose una proporción 1:1

La distribución de los pacientes según tipo de estudio se observa en la figura 1.

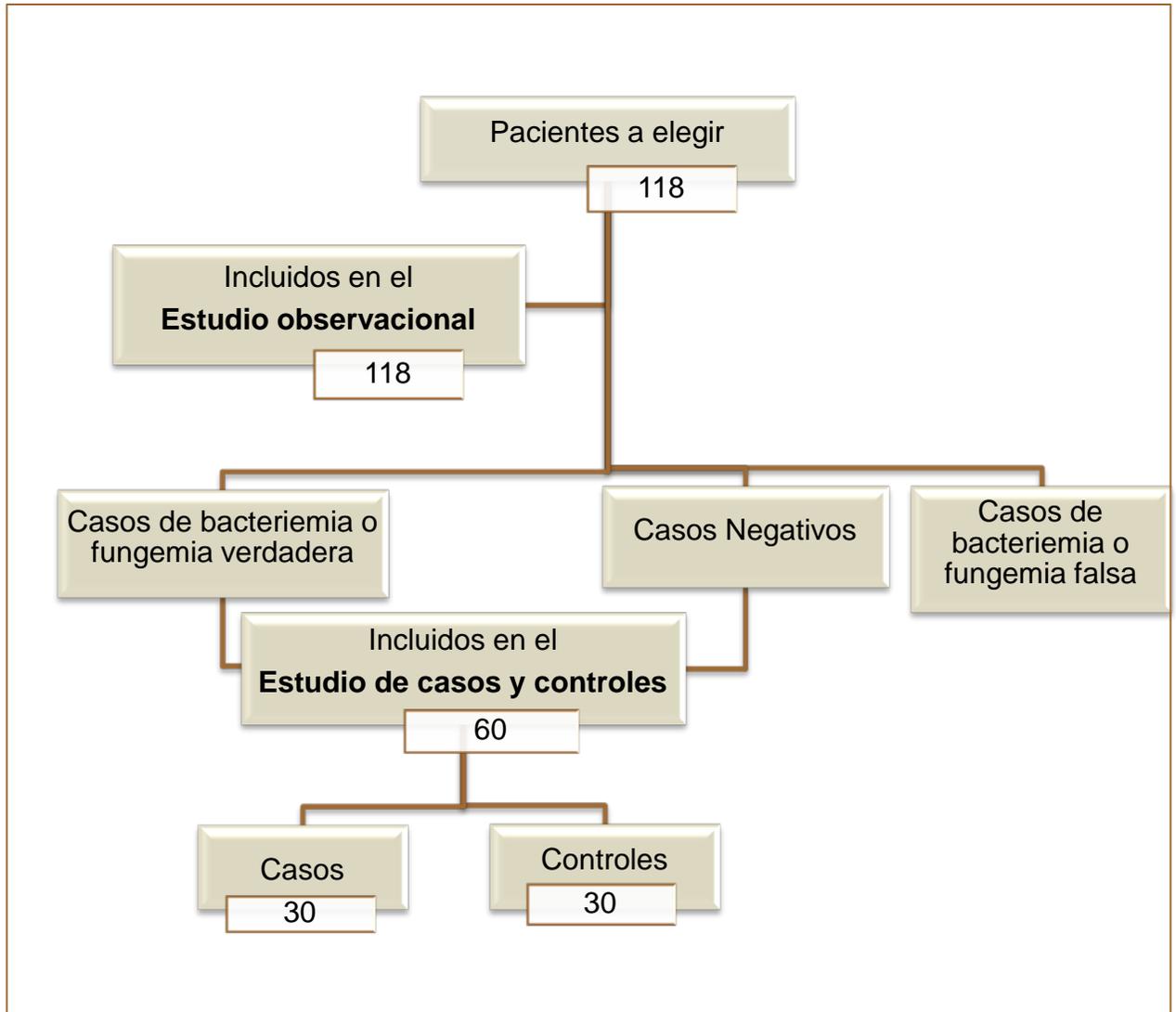


Figura 1. Distribución de los pacientes según tipo de estudio.

4.3. Recolección y procesamiento de las muestras biológicas

A todo paciente con una sospecha clínica de BF, se le extrajeron 15 mL de sangre venosa, en la primera extracción y 10 mL en las ocasiones restantes, se trató de utilizar lugares diferentes de venopunción. De los primeros 15 mL, se inocularon 5 mL en un tubo sin anticoagulantes, después de coagulada la sangre se centrifugó y se conservó 1mL de suero de cada paciente a - 20° C, hasta que se determinaron las concentraciones de los biomarcadores. Los 10

mL restantes de la primera extracción al igual que las muestras sucesivas, se inocularon de forma aséptica en las botellas para hemocultivo Bact/Alert FA (bioMérieux, Francia) y se incubaron en el sistema Bact/Alert 3D (bioMérieux). Para la identificación de los microorganismos en cuestión, se extrajeron aquellas botellas en las que el sistema detectó crecimiento dentro de los primeros cinco días, notificándose como negativos, los frascos en los que no se detectó crecimiento al 5^{to} día y cuyo cultivo fue negativo.

4.3.1. Identificación, cultivo y aislamiento

De cada botella se extrajeron 0,5 mL por punción del frasco con jeringuilla estéril, para realizar la tinción de Gram. Se observó la lámina al microscopio óptico (Olympus, Japón), con lente de inmersión (aumento 100 x). Luego, sin tomar en cuenta los resultados de la tinción de Gram, se realizó una resiembra inmediata en placas de Petri (100 x 13 mm), preparadas con medio agar Base Sangre (Oxoid, Inglaterra), enriquecida con 5% de sangre de carnero (vol/vol), agar Chocolate (agar Base Sangre, enriquecida con 5% de sangre de carnero (vol/vol) y calentada a 80° C (Julabo SW 22) durante 4 minutos), agar MacConkey (Oxoid, Inglaterra) y agar Sabouraud con cloranfenicol (Oxoid, Inglaterra). Las placas inoculadas se incubaron (Incubadora Telstar, España) a 35° C, durante 18-24 horas y los tubos de agar Sabouraud se mantuvieron hasta siete días a la temperatura ambiente (20-25^o C).

Para la identificación de los microorganismos y la determinación de la susceptibilidad antimicrobiana, se empleó el sistema automatizado Vitek 2 Compact (bioMérieux), mediante el protocolo establecido en el Manual de Procedimientos del Laboratorio Diagnóstico de Microbiología (anexo 1). Se utilizaron las tarjetas de identificación para los microorganismos grampositivos, gramnegativos y levaduras (tarjetas GP, GN y YST, respectivamente) y las tarjetas de susceptibilidad para gramnegativos (AST- N087), grampositivos (AST-P577) y levadura (AST-YS01) (bioMérieux), para los siguientes antimicrobianos:

AST-087: amikacina (AN), ampicillin (AM), ampicillin/sulbactam (SAM), aztreonam (ATM), cefepime (FEP), ceftazidima (CAZ), ceftriaxona (CRO), ciprofloxacina (CIP) colistina (CS), ertapenem (EYP), gentamicina (GM), imipenem (IPM), meropenem (MEM), ácido nalidíxico (NA), piperacilina/tazobactam (TAO) y tigeciclina (TGC)

AST- P577: ampicillin (AM), detección ceftazidima (OXSF), ciprofloxacina (CIP), clindamicina (CM), eritromicina (E), gentamicina (GM), alto nivel de gentamicina (HLG), resistencia inducible a la clindamicina (ICR), levofloxacina (LEV), linezolid (LNZ), minociclina (MNO), moxifloxacina (MXF), oxacillin (OX1), quinupristina/ dalfopristina (QDA), rifampicina (RA), alto nivel de estreptomina (HLS), teicoplanina (TEC), trimetropim/ sulfametoxazol (SXT) y vancomicina (VA).

AST-YS01: anfoterin B (AB), fluconazol (FLU), flucitosina (FCT), voriconazol (VRC)

No se realizó la identificación de *Brucella* spp., *Mycobacterium* spp., *Mycoplasma* spp., *Chlamydia* spp, bacterias anaerobias, ni hongos filamentosos o dimórficos.

4.3.2. Determinación de la procalcitonina y la proteína C reactiva

Para la determinación de los niveles de PCT en el suero, se utilizó el sistema Vidas Brahms PCT (bioMérieux). Mientras que, la PCR se determinó mediante el sistema CRP látex (Elitech, Francia). Ambas determinaciones se realizaron, según el protocolo establecido en el Manual de Procedimientos del Laboratorio Diagnóstico de Microbiología y siguiendo las recomendaciones del fabricante (anexo1)

4.5. Recolección de la información

Los datos se obtuvieron a partir de la revisión de las historias clínicas, para lo que se utilizó una guía de recogida de información (anexo 2) diseñada al efecto

y realizada por la autora. Además, se revisaron los informes del Departamento de Microbiología Clínica del IPK y el sistema SIDATRAT. La base de datos se conformó, utilizando el sistema Microsoft Office Excel sobre la plataforma de Windows 7.

4.6. Procesamiento y análisis estadístico

Se utilizaron medidas de estadística descriptiva como la frecuencia y porcentajes. Para evaluar la capacidad discriminativa de la PRC y la PCT, se realizaron las curvas de ROC (*Receiver Operating Characteristic*) y se compararon las áreas bajo la curva (AUC, por sus siglas en inglés), según el método descrito por DeLong (DeLong *et al.*, 1988). Todo el procesamiento estadístico se realizó en los paquetes Epidat 3.1 y Minitab 15.0, con base de datos importada desde el programa de EXCEL de Microsoft Office 2010.

Para el análisis y procesamiento de los datos se empleó una microcomputadora core 2 Duo. Los datos se expresaron en tablas y figuras para su mejor comprensión y se realizaron en Microsoft Office Word.

4.7. Consideraciones éticas

La información obtenida fue conservada de forma confidencial y sólo se utilizó con fines investigativos. En ningún caso se reveló la identidad de las personas y se garantizó el respeto a los principios éticos básicos: beneficencia, no maleficencia, justicia y autonomía.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el mundo, la infección por el VIH y el consecuente desarrollo del sida, es una importante causa de sufrimiento asociado al desarrollo acumulado por varias décadas en diversos países. Dada la naturaleza de la epidemia, su impacto en la salud, en lo económico, en lo social y en lo político, así como por sus características epidemiológicas, constituye uno de los retos más grandes para la salud pública (Amariles *et al.*, 2006).

La historia natural de la infección por el VIH, experimenta cambios dramáticos en la era de la TARVAE transitando desde su condición fatal hasta la de una enfermedad crónica manejable, pero para la inmensa mayoría de las personas, vivir con el VIH/sida, está lejos de no constituir un problema de salud, sobre todo para los países pobres y de bajos recursos, donde persiste como una afección devastadora para familias, comunidades y sociedades enteras (Hoffmann *et al.*, 2007).

La infección por el VIH sin tratamiento lleva a una inmunodeficiencia progresiva y aumenta la susceptibilidad a las infecciones. Con dicho avance comienza el declive de los linfocitos T CD₄ en número y función. Así, el sistema inmune se vuelve menos hábil para prevenir el crecimiento y la multiplicación de los microorganismos y al final los pacientes padecen del grupo de las enfermedades definitivas del sida (Del Campo *et al.*, 2004).

Las infecciones causadas por bacterias diferentes a las del género *Mycobacterium* son un problema frecuente e importante en el paciente infectado por el VIH, cuya incidencia aumenta en los últimos años. Su importancia radica en la frecuencia, así como en la capacidad para indicar la presencia de inmunodepresión y su importante morbilidad y mortalidad. A ello se añade que las infecciones bacterianas son a menudo un hallazgo de la autopsia, un hecho lamentable por tratarse de entidades potencialmente tratables y curables (Fariñas *et al.*, 1998; Laplumé *et al.*, 2008). Entre los cuadros clínicos más

frecuentes y graves asociados a este tipo de infecciones se encuentran la neumonía y la bacteriemia. La infección del torrente sanguíneo es una complicación, que aparece en el curso de cualquier infección bacteriana, se asocia con un mal pronóstico y es responsable de un elevado número de defunciones anuales, sobre todo, en los pacientes con bajos recuentos de linfocito T CD₄ (Ortega., *et al* 2008).

5.1. Resultados del cultivo microbiológico

Se procesaron un total de 293 muestras de hemocultivos. Las manifestaciones clínicas de los pacientes junto a los resultados obtenidos en el estudio microbiológico permitieron realizar el diagnóstico de BF verdadera en 36 casos (30,5%), entre los cuales uno presentó una bacteriemia polimicrobiana y en 11 pacientes (9,3%) se aislaron microorganismos considerados contaminantes (figura 2).

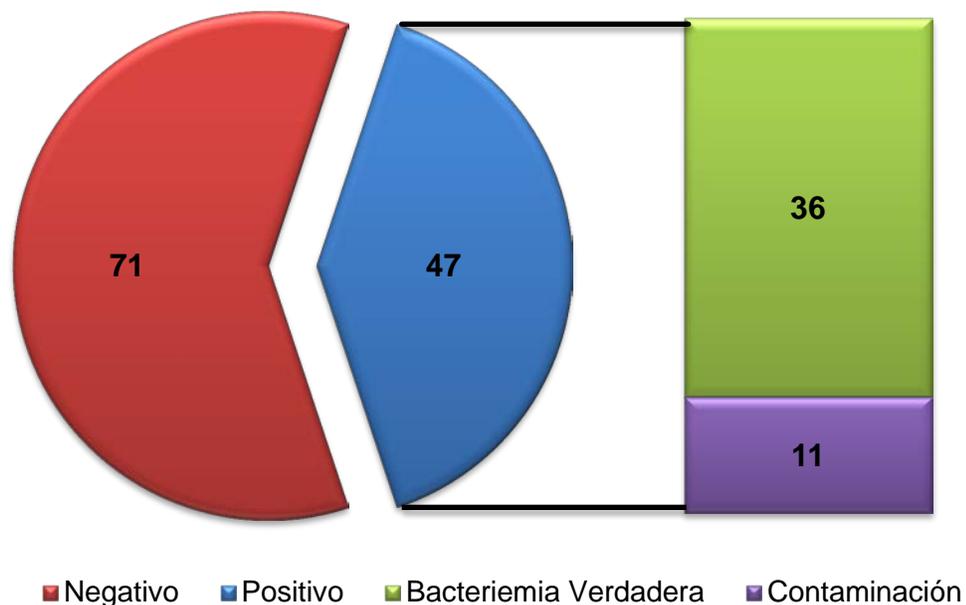


Figura 2. Distribución de los pacientes VIH/sida con sospecha clínica de bacteriemia o fungemia según los resultados del cultivo microbiológico.

La rentabilidad de los hemocultivos en los pacientes adultos varía desde 2 hasta 20%. Dada la relevancia clínica, terapéutica y pronóstica de la BF y la frecuente inespecificidad de los datos clínicos, se justifica un bajo índice de sospecha para solicitar hemocultivos; teniendo en cuenta que su frecuencia aumenta en relación con la gravedad del cuadro clínico, así es que aparece entre 17-31% en los pacientes con sepsis y entre 25-53% en los casos con sepsis grave o choque séptico (Cobo *et al.*, 2006).

Los resultados de este trabajo superaron a los descritos por Varma *et al* (2010), quienes refieren 2,9% de hemocultivos positivos con microorganismos clínicamente significativos. Un porcentaje también inferior (3,9%) señalan Yehia *et al* (2011), en Estados Unidos. Por su parte, Srifuengfung *et al* (2005), en pacientes VIH detectan entre 1996 y 1999 porcentajes similares (24-28%, respectivamente) a los de esta investigación.

En la sensibilidad de un hemocultivo influyen varios factores y entre ellos se incluyen: la correcta selección clínica de los pacientes a los cuales indicarlo, el momento de su obtención, la antisepsia de la piel, el volumen de sangre cultivada, el número de hemocultivos obtenidos, el tipo de frasco utilizado, así como, el tiempo de incubación, el empleo de sistemas automatizados de monitorización continua y la utilización de tratamiento antimicrobiano previo a la toma de la muestra (Pascual, 2003). A pesar de utilizar botellas de hemocultivos con carbón activado para la adsorción de los mismos, un porcentaje elevado de los pacientes investigados tenían tratamiento antes de obtener la muestra, factor que pudo influir en los resultados obtenidos.

En este trabajo, a partir de 11 pacientes, se obtuvieron 11 aislamientos de microorganismos considerados contaminantes, lo que representó 3,7% del total de las muestras analizadas (293). Este índice de contaminación se consideró aceptable, ya que las Normas de la Sociedad Americana de Microbiólogos (Washington *et al.*, 1982), establecen que los índices de contaminación no

deben superar el 3%; sin embargo, las tasas difieren entre las instituciones, pero es común cifras por encima de 7% (Gander *et al.*, 2009).

El mayor número de contaminantes (81,8%) correspondió al grupo de SCN, considerados la principal causa de falsos positivos a nivel mundial. Los datos obtenidos en esta investigación se correspondieron con los descritos por Ge *et al* (2011), en China, quienes señalan 76,8% de aislamientos de SCN como contaminantes. Por su parte Kocoglu *et al* (2005), en Korea, informan 58,3%.

La contaminación de los hemocultivos es frecuente en los laboratorios de microbiología, algunos notifican tasas por encima de 50% (Weinstein *et al.*, 1997; Zwang *et al.*, 2006), resultados que pudieran estar relacionados con el creciente uso de dispositivos intravasculares y la práctica de tomar las muestras a través de las líneas invasoras (Zwang *et al.*, 2006). Si bien la introducción de los sistemas automatizados de hemocultivos disminuye las tasas de contaminación cruzada, la utilización de medios de cultivos más enriquecidos favorece el crecimiento de los contaminantes, aunque estos se encuentren en una baja proporción (Dreyer, 2012).

Durante los últimos años se implementan varias estrategias para disminuir los índices de contaminación y entre ellas se destaca el perfeccionamiento de la técnica de recolección de la sangre mediante la capacitación del personal destinado para ello, aunque se plantea que si bien la antisepsia de la piel puede reducir la carga de contaminación, 20% de los microorganismos se encuentran dentro de la dermis y no se afectan por este proceder (Dreyer, 2012).

5.2. Distribución de los microorganismos identificados como agentes causales de infección del torrente sanguíneo en pacientes VIH/sida

En la presente investigación predominaron los microorganismos gramnegativos, entre estos, las enterobacterias (40,5%). *Klebsiella pneumoniae* fue la especie más frecuente (18,9%) y 27% de los aislamientos pertenecieron al grupo de BNF. Entre los coco grampositivos, prevaleció *Staphylococcus aureus* (13,5%).

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las levaduras se identificaron en un pequeño porcentaje de casos y la única especie correspondió a *Cryptococcus neoformans* (8,1%). [Tabla 1]

Tabla 1. Agentes etiológicos identificados en los pacientes VIH/sida con bacteriemia o fungemia verdadera.

Variable	Género y Especies	N (%)
Enterobacterias	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	7 (18,9)
	<i>Salmonella</i> spp.,	3 (8,1)
	<i>Enterobacter cloacae</i>	3 (8,1)
	<i>Enterobacter aerogenes</i>	1 (2,7)
	<i>Proteus vulgaris</i>	1 (2,7)
Total	15	15 (40,5)
Bacilos no fermentadores	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	3 (8,1)
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	2 (5,4)
	<i>Acinetobacter Iwoffii</i>	2 (5,4)
	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	2 (5,4)
	<i>Acinetobacter junii</i>	1 (2,7)
Total	10	10 (27)
Cocos grampositivos	<i>Staphylococcus aureus</i>	5 (13,5)
	<i>Enterococcus faecium</i>	1 (2,7)
	<i>Streptococcus gallolyticus</i>	1 (2,7)
	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	1 (2,7)
	<i>Rhodococcus equi</i>	1 (2,7)
Total	9	9 (24,3)
Levaduras	<i>Cryptococcus neoformans</i>	3 (8,1)
Total	3	3 (8,1)

n= 37

Cualquier microorganismo puede producir una BF, pero la frecuencia con que lo hacen unos u otros es diferente y ha variado a lo largo del tiempo. Esto se debe, en gran medida, a factores tales como: las características de los pacientes, la zona de hospitalización (medicina, cirugía, cuidados intensivos) y el tipo de hospital, entre otros (Fariñas *et al.*, 1998).

La familia Enterobacteriaceae constituye un grupo heterogéneo de bacterias gramnegativas con una amplia distribución en las plantas, la tierra, el agua e intestinos de los hombres y animales. Desde el punto de vista médico, los miembros de esta familia se hallan entre los agentes biológicos más importantes. Uno de los factores que pudiera explicar su predominio, está

relacionado con su amplia difusión en el ambiente hospitalario, lo que favorece la colonización de la orofaringe, del aparato genitourinario y la piel, elemento que juega un papel importante en la adquisición de una infección asociadas a la asistencia sanitaria (IAAS), favorecida por una prolongada estadía hospitalaria (Ocaña *et al.*, 2007), tal como sucedió en varios de los pacientes incluidos en este trabajo.

Mootsikapun (2007), en Tailandia confirma a las enterobacterias como los principales agentes causales de bacteriemia en los pacientes con sida. En este trabajo *K. pneumoniae* fue la especie más frecuente y a pesar de su reconocimiento como causa de bacteriemia (Ribas *et al.*, 2007; Shanthachol *et al.*, 2012; Jung *et al.*, 2012), no se encontró en la literatura revisada trabajos que la destaquen como la principal enterobacteria causante de bacteriemia en los pacientes con sida.

Salmonella spp., y *Enterobacter cloacae* ocuparon el segundo lugar entre las enterobacterias aisladas en los pacientes investigados. *Salmonella* spp., se reconoce como la principal causa de bacteriemia adquirida en la comunidad en los casos con VIH de los países en vías de desarrollo, así lo corroboran otros autores (Ogunsola *et al.*, 2009; Reddy *et al.*, 2010). Se calcula que su incidencia es desde 20 hasta 100 veces mayor en estos pacientes, entre los cuales, la bacteriemia se presenta con bajos valores de linfocitos T CD₄, y se asocia con una elevada mortalidad en enfermos sin acceso a la TARVAE (Hung *et al.*, 2007).

Enterobacter cloacae es también un reconocido agente causal de infección del torrente sanguíneo y así lo refieren Manfredi *et al* (2001) y Kang *et al* (2004). Se describe como un patógeno potencial que afecta a pacientes con sida severamente inmunodeprimidos, sometidos a procedimientos invasivos (Manfredi *et al.*, 2001).

La frecuencia de BNF identificados en esta investigación, fue baja; no obstante predominaron *S. maltophilia* y *A. baumannii*. *S. maltophilia*, se consideró

durante muchos años de patogenicidad limitada, pero notificaciones recientes la asocian con un aumento de la morbimortalidad, en los pacientes inmunocomprometidos, con una estancia hospitalaria prolongada y antecedentes de tratamiento antimicrobiano de amplio espectro (Senol, 2004; Paez *et al.*, 2008; Falagas *et al.*, 2009; Brooke, 2012). En los pacientes VIH, *S. maltophilia* emerge también como un patógeno importante, así lo afirman Calza *et al* (2003) en Italia, al describir 48 casos de bacteriemia (78,7% del total de casos con infecciones por este agente), asociados a cifras bajas de linfocitos T CD₄. En la serie de casos de esta tesis, *S. maltophilia* mostró un comportamiento similar, aunque con un porcentaje de aislamiento inferior.

En los últimos años, *A. baumannii* se convierte en uno de los patógenos nosocomiales más relevantes en el ámbito mundial. En Latinoamérica alcanza alrededor de 5,3% de todos los aislamientos obtenidos a partir de bacteriemias adquiridas en el hospital y las tasas de mortalidad cruda asociada a bacteriemia se aproxima a 52%. Diversas investigaciones revelan la presencia de cepas resistentes a casi todos los agentes antimicrobianos disponibles, por lo que sus opciones terapéuticas están limitadas (Hart *et al.*, 2008). Los individuos más propensos a la adquisición de infecciones por este microorganismo son los inmunodeprimidos y entre ellos los VIH positivos con cifras de linfocitos T CD₄ bajas. Investigaciones como las de Manfredi *et al* (2001_a), Manfredi *et al* (2001_b), Ntusi *et al* (2012), así lo reafirman.

En relación con los cocos grampositivos, *S. aureus*, constituyó el microorganismo con un mayor número de aislamientos. Diversos autores señalan a los cocos grampositivos como los agentes etiológicos más frecuentes de bacteriemia en la población general y en los pacientes con VIH/sida, en particular. En España, Ortega *et al* (2008) notifican un elevado porcentaje de aislamientos de *S. aureus* como causa de bacteriemia adquirida en la comunidad, así como asociada a la asistencia sanitaria. Datos similares a los de este estudio obtienen Ogunsola *et al* (2009), en Nigeria y Yehia *et al* (2011) en

Estados Unidos, quienes reportan 18,2% y 16% de aislamientos de este microorganismo, respectivamente. Estos autores relacionan la elevada frecuencia de cocos grampositivos como causa de infección del torrente sanguíneo, con los pacientes adictos a drogas endovenosas, pero esta asociación no se consideró en la presente investigación.

S. gallolyticus subps. *gallolyticus* pertenece al biotipo I del complejo *Streptococcus bovis/equinus*, después de la nueva clasificación taxonómica. Se identifica como causa de bacteriemia y endocarditis infecciosa en adultos, y además se reconoce su asociación con el cáncer de colon (Gómez *et al.*, 2012; Romero *et al.*, 2013). Recientemente, la infección por esta subespecie también se vincula con procesos neoplásicos en otras localizaciones del tracto digestivo (páncreas, vesícula biliar, duodeno, etc.), con enfermedades intestinales no tumorales e incluso con neoplasias extradigestivas, como las hematológicas (Romero *et al.*, 2013). Se notifican aislados casos de infección del torrente sanguíneo por *S. bovis* (Manfredi *et al.*, 1999; Moreno *et al.*, 2002), pero no se encontró información acerca de *S. gallolyticus* como causa de bacteriemia en pacientes con sida, esto puede estar en relación con la nomenclatura actual y que la mayoría de los servicios y laboratorios de microbiología informan estos aislamientos como *S. bovis* (Del Campo, 2012).

Las bacterias del género *Leuconostoc* pertenecen a la familia Streptococcaceae. En el ámbito clínico no se consideraban patógenos hasta hace aproximadamente dos décadas, momento en el que fueron aisladas como oportunistas en pacientes inmunocomprometidos. Hasta la fecha se han comunicado casos de bacteriemia, endocarditis, infecciones asociadas al empleo de CVC, del líquido cefalorraquídeo, óseas y de las vías urinarias. Se considera que la presencia de inmunosupresión, junto a la pérdida de integridad de las mucosas, facilita la puerta de entrada (Ballesteros *et al.*, 2010).

Rhodococcus equi, conocido antiguamente como *Corynebacterium equi*, es un cocobacilo aerobio, grampositivo, intracelular, no móvil y débilmente ácido

alcohol resistente, ubicado en estos momentos en el orden Actinomycetales (Silva *et al.*, 2010; Salazar *et al.*, 2011). Esta bacteria es un patógeno ambiental con distribución universal, por lo que se puede encontrar en el aire, el agua y la tierra. Coloniza el intestino de los omnívoros y los herbívoros, principalmente a los caballos. La infección por este microorganismo es más frecuente en las personas, donde existe un compromiso de la inmunidad celular (Pardo *et al.*, 2002). Los pacientes seropositivos para el VIH y principalmente los que presentan valores bajos de linfocitos T CD₄, constituyen los dos tercios de todos los infectados. En la mayoría de los casos, el pulmón es el órgano más afectado. La bacteriemia es más frecuente en los infectados por el VIH (80%) que en quienes no lo están (30%), pero en ambos casos la diseminación bacteriana puede originar abscesos a distancia (Secchi *et al.*, 2006; Chen *et al.*, 2009). En Cuba el mayor número de aislamientos, se observa en pacientes con sida y neumonía, (La Paz *et al.*, 2010).

Cryptococcus neoformans es el agente causal de la criptococosis, la segunda infección micótica oportunista en los pacientes con sida. Antes de la aparición de la TARVAE, la criptococosis afectaba entre 6-10% de los enfermos con sida del mundo occidental, pero en la actualidad, esas tasas son más bajas. Se considera que cuando el VIH produce una disminución de los linfocitos T CD₄, inferior a 200 cel/mm³, los hongos encuentran las condiciones inmunes adecuadas para invadir los tejidos (González *et al.*, 2006; Perfect *et al.*, 2010; Harris *et al.*, 2012). Kiertiburanakul *et al* (2012), así como Garbino *et al* (2001), reconocen a este microorganismo, como la principal causa de fungemia en los pacientes VIH, por ellos seleccionados (20,8% y 37,8%, respectivamente). En esta investigación se mostraron cifras inferiores.

5.3. Susceptibilidad antimicrobiana de los microorganismos gramnegativos identificados

El incremento de la resistencia bacteriana a nivel internacional y la mayor frecuencia en la aparición de cepas multirresistentes, convierten a este

fenómeno en uno de los mayores retos para las unidades asistenciales de salud. En septiembre de 2001, la Organización mundial de la salud (OMS), declara esta situación como un problema y a partir de ese momento, propone realizar una vigilancia sistemática de la misma. Está bien documentado que el aumento y la diseminación de cepas multirresistentes, es proporcional a múltiples factores tales como: el uso y abuso de los antimicrobianos, el incremento de los procedimientos invasivos, un mayor índice de longevidad global, los tratamientos inmunosupresores, un mayor número de pacientes con enfermedades inmunodeficientes, así como la existencia de condiciones económicas adversas. A su vez, las infecciones relacionadas con microorganismos resistentes, se asocian con el fracaso de los regímenes terapéuticos, los mayores índices de mortalidad, la estadía y los costos hospitalarios (Chang *et al.*, 2008; Espinosa, 2011).

En la figura 3, se muestra la resistencia antimicrobiana de los principales bacilos gramnegativos analizados. *K. pneumoniae* fue 100% resistente a la ampicilina y presentó también elevados porcentajes de resistencia a las cefalosporinas de 3ª generación y al aztreonam. Por otro lado, 100% de las cepas de *E. cloacae* fueron resistentes a cefoxitina y 66,6% a cefalosporinas de 3ª generación y al aztreonam. Los dos aislamientos de *A. baumannii* fueron resistentes a múltiples antimicrobianos.

Acorde a los fenotipos de resistencia detectados por el sistema experto que incorpora el VITEK 2 compact, se identificó 71,4% cepas de *K. pneumoniae* presuntivas productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y 66,6% de aislamientos de *E. cloacae*, con fenotipo BLEE y productores de betalactamasas AmpC (datos no mostrados).

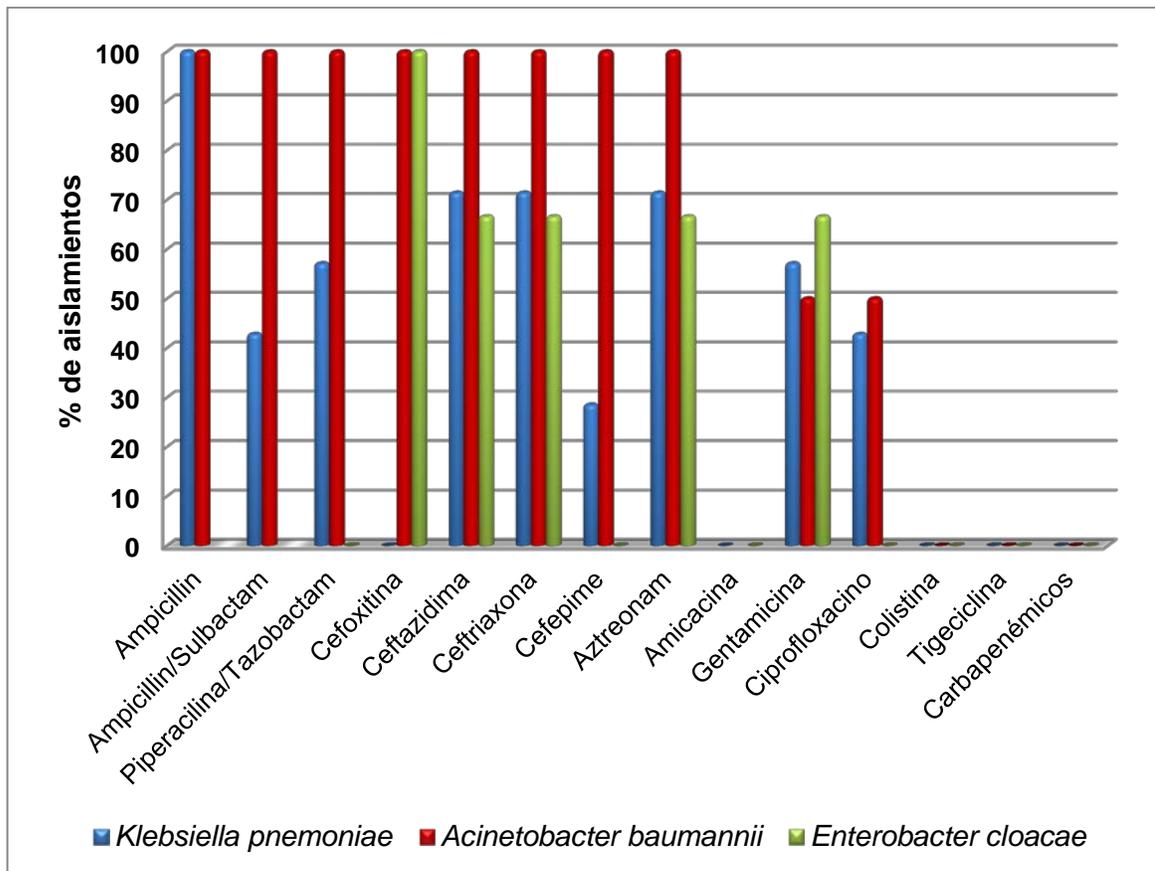


Figura 3. Resistencia antimicrobiana de los principales bacilos gramnegativos identificados en pacientes VIH/sida con bacteriemia.

Los betalactámicos son una amplia familia de antibióticos bactericidas y uno de los grupos más numerosos y de mayor utilización en la práctica médica, que incluye a las penicilinas, cefalosporinas, así como los monobactámicos y carbapenémicos. Aunque la resistencia a los betalactámicos está definida por distintos mecanismos (producción de enzimas, alteraciones de la permeabilidad, alteración de la diana y, presumiblemente, expresión de bombas de expulsión activa), el principal mecanismo de resistencia en enterobacterias es el enzimático, por producción de las betalactamasas (Navarro *et al.*, 2010).

En *K. pneumoniae* se describe un tipo de betalactamasas denominado SHV-1, que si bien en sus inicios fue cromosómica, en estos momentos está codificada, por lo general, en plásmidos transferibles. Estas betalactamasas son capaces

de hidrolizar a las aminopenicilinas (López *et al.*, 2010; Casellas, 2011) y pudieran justificar los altos porcentajes de resistencia detectados para ampicillin, en el presente estudio, aunque no se puede descartar que la presencia de BLEE pudiera explicar también este fenómeno. Resultados similares describen otros autores, por ejemplo, en un estudio sobre la identificación y resistencia antimicrobiana de enterobacterias causantes de infecciones en pacientes con VIH/sida en el IPK, señalan 100% de resistencia a la ampicillin (García *et al.*, 2013).

Los betalactámicos combinados con inhibidores son de gran importancia, ya que tienen como función, inhibir las betalactamasas producidas por múltiples bacterias y en particular por enterobacterias. Una vez inhibidas estas enzimas, el antibiótico puede llegar a las proteínas fijadoras de la penicilina (PBP, por sus siglas en inglés) y ejercer su acción. Los resultados obtenidos en los aislamientos de *K. pneumoniae* ante estos fármacos, fueron similares a los descritos por Suárez *et al* (2012), en un estudio realizado en el Hospital Hermanos Ameijeiras, donde informan 42,6% y 36,1% de resistencia frente a la ampicillin/sulbactam y piperacilina/tazobactam, respectivamente. Se plantean varios mecanismos de resistencia a los inhibidores de betalactamasas, tal vez, algunos de estos pudieron ser los responsables de la resistencia encontrada en este estudio: alteraciones de la permeabilidad, inducción de enzimas OXA e hiperproducción de betalactamasas cromosómicas o plasmídicas, normalmente sensibles a la inhibición. Este último es el mecanismo más frecuente y supone una disminución de la sensibilidad de los microorganismos previamente sensibles, ya que al aumentar la cantidad de enzimas, parte de ellas escapan a la acción del inhibidor e hidrolizan el antibiótico asociado (Zayas, 2012).

En la actualidad, la mayor atención de la resistencia, en *K. pneumoniae*, se centra en las cefalosporinas. Esta familia de antimicrobianos, y en especial las de 3ª generación, son más sensibles a la hidrólisis enzimática, por su estructura, por lo que una correcta aplicación de la política antimicrobiana es un

aspecto a valorar en la formulación de una estrategia para la contención de este problema. Los altos porcentajes de resistencia encontrados en este trabajo para las cefalosporinas de 3ª generación (71,4 % para ceftriaxona y ceftazidima respectivamente), pudieron estar relacionados con la producción de BLEE, corroborado por el bajo índice de resistencia que presentaron estas cepas frente a la cefoxitina. Gaitán *et al* (2009), en Colombia, describen 44,2% de aislamientos resistentes a las cefalosporinas de 3ª generación. En Cuba, González *et al* (2007) notifican 28% de aislamientos de *Klebsiella* spp., resistentes a la cefotaxima. Las diferencias encontradas entre estos trabajos pudieran vincularse con el número total de aislamientos investigados.

Las cefalosporinas de 4ª generación (cefepime, cefpiroma) son compuestos, más estables frente a la hidrólisis de las BLEE y mantienen buena actividad frente a ciertas cepas que las producen, por lo que el uso de cefepime se considera de utilidad en el tratamiento de las infecciones causadas por bacterias productoras de BLEE. Sin embargo, no se recomiendan como antimicrobianos de primera línea para el tratamiento de las infecciones graves, si existe la posibilidad, emplearse un carbapenémico (Suárez *et al.*, 2012). Lo expresado con anterioridad explicaría quizás el bajo porcentaje de resistencia (28,5%), al cefepime. Estudios recientes en Cuba muestran resultados superiores, Suárez *et al* (2012) informan 47,5%.

El aztreonam, es un monobactámico sensible a la hidrólisis de las betalactamasas bacterianas. En este trabajo la resistencia fue elevada (71,4%). Suárez, en el año 2011, informa 41% de resistencia. Mientras que, Cortés *et al* (2006), describen 33% de microorganismos resistentes. Los resultados de la presente tesis pueden obedecer también a la producción de BLEE, ya que en enterobacterias, estas enzimas constituyen el mecanismo más frecuente de resistencia frente al aztreonam.

Los aminoglucósidos en combinación con los betalactámicos, ocupan un lugar relevante en el tratamiento de las infecciones graves por bacilos gramnegativos.

Esta combinación cumple un triple objetivo: 1. Ampliar el espectro de acción del tratamiento empírico; 2. Mejorar la efectividad, basándose en el sinergismo que se observa *in vitro* y 3. Reducir la incidencia de la resistencia. (Falagas *et al.*, 2007). El principal mecanismo de resistencia a los aminoglucósidos es la inactivación enzimática, describiéndose tres tipos de enzimas inactivantes: las acetiltransferasas (AAC) que acetilan un grupo amino del antibiótico, las fosfotransferasas (APH) que fosforilan un grupo hidroxilo y las nucleotidiltransferasas (ANT) que adenilan también un grupo hidroxilo. Cada enzima reconoce un cierto número de aminoglucósidos, lo cual se traduce en un fenotipo de resistencia concreto. Además, una bacteria puede disminuir su sensibilidad a estos antibióticos mediante mutaciones que afectan la difusión pasiva a través de la membrana externa, porinas o estructura del polisacárido. Las cepas con estas alteraciones conllevan a la vez una resistencia cruzada con otras familias de antimicrobianos y tienen poca relevancia clínica (Calvo *et al.*, 2011). Zayas (2012), informa 13,3% y 32,5% de resistencia a la amikacina y gentamicina, respectivamente. Este comportamiento podría asociarse con el hecho de que los aminoglucósidos junto con los betalactámicos son aún los fármacos de elección para los pacientes con infecciones graves y con frecuencia, los plásmidos que contienen las betalactamasas transportan enzimas que los inactivan, sobre todo a la gentamicina (Paul *et al.*, 2008).

Las quinolonas son un grupo de antimicrobianos sintéticos, entre los cuales cabe destacar al ácido nalidíxico y las quinolonas fluoradas, como, la ciprofloxacina. Los principales mecanismos de resistencia descritos son consecuencia de mutaciones en los genes de la ADN girasa y la topoisomerasa IV; mutaciones que afectan a las porinas o el lipopolisacárido, impidiendo la penetración del antimicrobiano al interior de la bacteria o la presencia de bombas de expulsión (Navarro *et al.*, 2010). Cualquiera de estos mecanismos pudo ocasionar la resistencia observada frente a este grupo farmacológico.

Los carbapenémicos son los betalactámicos con un mayor espectro de actividad antimicrobiana. Ellos inhiben la síntesis de la pared celular y activan

autolisinas endógenas, lo que provoca la muerte bacteriana. Su acción se facilita por la estabilidad frente a un gran número de betalactamasas cromosómicas o plasmídicas. En este estudio los aislamientos de *K. pneumoniae* no mostraron resistencia frente a los carbapenémicos, resultados similares describen Zayas (2012), así como por García *et al* (2013). Esto supone un resultado alentador puesto que esta familia de antimicrobianos constituye la principal alternativa terapéutica frente a enterobacterias productoras de BLEE, de origen intrahospitalario.

Todas las cepas de *K. pneumoniae* fueron sensibles a la colistina y la tigeciclina, resultados que pudieran relacionarse con su poco uso en Cuba. Al mismo tiempo, ambos fármacos se consideran la principal opción terapéutica para los bacilos gramnegativos multirresistentes, (Zavascki, 2007) en una era donde no se producen avances significativos, en el desarrollo de nuevos antimicrobianos eficaces (Falagas *et al.*, 2005).

Enterobacter cloacae, mostró frente a las cefalosporinas porcentajes de resistencias (66,6% para ceftriaxona y ceftazidima respectivamente) similares a los descritos por García *et al* (2013). Este patrón pudiera vincularse con la hiperproducción de betalactamasa tipo AmpC inducible, en combinación con BLEE. Se reconoce que la producción de AmpC, en forma inducible, constituye la principal causa de resistencia a las cefalosporinas de 1ª y 2ª generación, incluidas las cefamicinas y, en menor medida, las de 3ª generación (Calvo *et al.*, 2011). La resistencia encontrada para la gentamicina, responden a mecanismos similares a los descritos para *K. pneumoniae* (Calvo *et al.*, 2011).

Acinetobacter baumannii multirresistente pasó de ser un microorganismo de poca relevancia clínica a un patógeno cada vez más frecuente en los pacientes hospitalizados, convirtiéndose en un verdadero paradigma de las infecciones nosocomiales multirresistentes. A pesar de haberse aislado solo dos cepas, resaltan los elevados porcentajes de su resistencia a los betalactámicos. Resultados similares describen en Cuba, Hart *et al* (2008) y Carvajal (2012). Se

sugiere que la sobreexpresión de una cefalosporinasa cromosómica tipo AmpC, es el mecanismo más frecuente de resistencia a los betalactámicos. No se encontró resistencia a los carbapenémicos; sin embargo, Mezzatesta *et al* (2008), así como y Peymani *et al* (2011) encuentran 59 y 56% de resistencia a estos antimicrobianos, respectivamente. Por su parte, Espinosa, en el Hospital Hermanos Ameijeiras, informa cerca de 85% de resistencia al meropenem (Espinosa, 2011). Tampoco se detectó, resistencia a la colistina y la tigeciclina, lo que supone que todavía se cuenta con la disponibilidad de herramientas eficaces para el control de *A. baumannii* multirresistente.

Para las especies de *Salmonella*, (datos no mostrados) se observaron bajos porcentajes de resistencia, con excepción de la cefoxitina, los aminoglucósidos y las quinolonas. Las cefamicinas y los aminoglucósidos son antimicrobianos para los cuales el Comité Internacional de Estandarización de Laboratorio Clínico (CLSI por sus siglas en inglés) recomienda no considerarlos como sensibles (a pesar de ser activos *in vitro*), por no ser efectivos en la práctica clínica, frente a *Salmonella*. (CLSI, 2013). Es importante resaltar que todas las cepas estudiadas fueron sensibles a las cefalosporinas de 3^a generación, fármacos más utilizados en las salmonelosis invasivas. Similares resultados refiere Hernández (2004) en Cuba quien obtiene, 86% de sensibilidad a la cefotaxima. Varios autores notifican también un aumento de la resistencia a las quinolonas, cuyo punto de origen parece estar relacionado con el tratamiento antimicrobiano impuesto al ganado (Hernández, 2004; Cammie *et al.*, 2006).

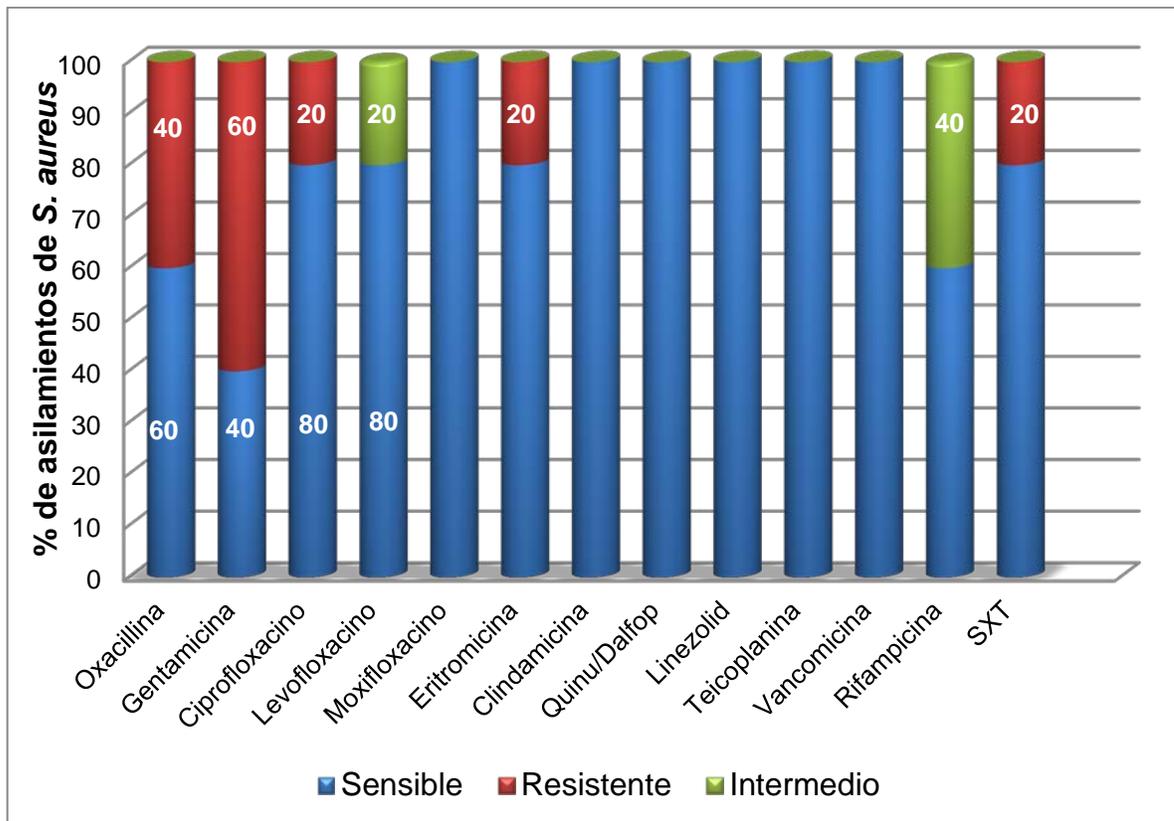
En los otros bacilos gramnegativos (*A. junii*, *A. lwoffii*, *S. maltophilia*, *Sphingomonas paucimobilis*) se identificaron en bajos porcentajes de resistencia, (datos no mostrados). Ninguna de las especies de *Acinetobacter*, mostraron resistencia a los antimicrobianos ensayados. En los últimos años *S. maltophilia*, se reconoce también como un patógeno capaz de desarrollar resistencia. En el presente estudio, el sistema Vitek 2 Compact, aportó los resultados de la susceptibilidad antimicrobiana, de este microorganismo frente a la ampicilina, la ceftriaxona, la ciprofloxacina y la gentamicina, aunque solo

detectó resistencia a la ampicilina (100%). La resistencia de *S. maltophilia* a los betalactámicos está relacionada con la baja permeabilidad de la membrana externa a los antibióticos, debido al bajo número de moléculas de porinas. Sin embargo, también se describen diversos sistemas o bombas de expulsión activa. Otro mecanismo implicado es la producción de enzimas, la betalactamasa cromosómica L-1 dependiente de zinc, presente en la mayoría de las cepas y que posee actividad penicilinasas (Vila *et al.*, 2010).

5.4. Susceptibilidad antimicrobiana de los microorganismos grampositivos identificados

Staphylococcus aureus es un microorganismo con características particulares de virulencia y resistencia a los antibióticos. Por las implicaciones terapéuticas que tiene, su principal impacto se debe a la aparición de cepas resistentes a la meticilina, (Bustos *et al.*, 2006). En los últimos años surgen nuevas circunstancias que recomiendan la realización de estudios de vigilancia sobre la situación actual de su resistencia, entre las que se encuentran: el incremento y la diseminación de *S. aureus* resistente a la meticilina (SARM) en el medio hospitalario, así como, su emergencia en la comunidad, la comunicación de infecciones causadas por cepas con sensibilidad disminuida o con resistencia a los glucopéptidos y la variación en los patrones de resistencia a otros antimicrobianos (Cuevas *et al.*, 2008).

En el presente estudio, se observó una resistencia a la oxacilina de 40% (porcentaje que se correspondió con la detección de cefoxitina aportado por el sistema Vitek 2 Compact), 60% para la gentamicina y 20% de los aislamientos fueron resistentes al trimetropin/sulfametoxazol (SXT) (figura 4). No hubo cepas resistentes a los glucopéptidos.



Leyenda. SXT: trimetropin/sulfametoxazol

Figura 4. Susceptibilidad antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* aislados en pacientes VIH/sida con bacteriemia.

El impacto clínico de la resistencia antimicrobiana requiere del estudio de los mecanismos implicados en la misma, con el fin de contribuir a una adecuación rápida y dirigida del tratamiento, así como para el seguimiento y el control epidemiológico (Morosini *et al.*, 2012). Los pacientes VIH/sida, se reconocen como una población de riesgo para el desarrollo de infecciones por SARM (Morejón, 2012). Según datos reportados en Cuba, Nodarse, en 2009, observa en aislamientos del Hospital Luís Díaz Soto, 26% de cepas pertenecientes al fenotipo SARM, por otra parte, Espinosa *et al* (2012), en el Hospital Hermanos Ameijeiras, detectan un porcentaje mayor (81,3%). Mientras, Freixas *et al* (2012), en España, informan una incidencia SARM entre 24 y 25% durante los años 2008 y 2010 respectivamente. Las diferencias encontradas entre estas

instituciones pudieran estar relacionadas con el número de aislamientos, el tipo de hospital y las características de los pacientes atendidos en los mismos.

En esta tesis, el mayor porcentaje de resistencia se detectó frente a la gentamicina (60%). Mientras que, en España, (Ardanuy *et al.*, 20011) notifican una resistencia a la gentamicina de 8,6% y en el caso de cepas SARM de 20%. La resistencia a la gentamicina debe asociarse con resistencia a todos los aminoglucósidos de utilización clínica (la propia gentamicina, tobramicina, amikacina, netilmicina y además, kanamicina), con la excepción de la estreptomina y se debe a la actividad de la enzima bifuncional AAC (6')-APH(2"). Es importante destacar que la situación opuesta no existe, es decir, no se debe asumir que la sensibilidad a la gentamicina implica también sensibilidad al resto de los aminoglucósidos (Ardanuy *et al.*, 20011).

La resistencia para las quinolonas fue baja, 20% para la ciprofloxacina. La mayor resistencia para este fármaco, pudiera estar relacionada con su mayor disponibilidad y utilización, tanto a nivel hospitalario como en la comunidad. Por otra parte, existen importantes diferencias en la actividad de las distintas fluoroquinolonas frente a la diana o sitio receptor de *Staphylococcus*. No todos los compuestos tienen la misma potencia frente a la ADN-girasa y a la topoisomerasa IV de las bacterias. Las mutaciones responsables de la resistencia suelen ocurrir, de manera habitual, primero en los genes que codifican la diana primaria (para la mayoría de compuestos la topoisomerasa IV) y a continuación la diana secundaria (ADN-girasa), lo que contribuye al incremento del nivel de resistencia, en la medida en que la mayor utilización de cada uno de los antimicrobianos, propicien la selección de cepas mutantes resistentes (Torres *et al.*, 2010). Espinosa *et al* (2012), reportan porcentajes superiores de resistencia (63,33%) a ciprofloxacina.

Se encontró una baja resistencia a la eritromicina y total sensibilidad para las lincosamidas y esteptograminas del grupo B. Esto sugiere que el mecanismo de resistencia a la eritromicina este mediado por una bomba de expulsión activa

(fenotipo MS_B). Otros estudios en Cuba refieren porcentajes superiores de resistencia, por ejemplo Espinosa *et al* (2012), informan 74,7% de resistencia frente a la eritromicina,

Los aislamientos obtenidos mostraron 100% de sensibilidad para el linezolid y los glucopéptidos. Los resultados del último grupo, se correspondieron con los datos publicados en Cuba (Nodarse, 2009; Espinosa *et al.*, 2012), donde tampoco reportan aislamientos resistentes, lo que avala a este grupo farmacológico como la mejor alternativa terapéutica frente a las IAAS en pacientes graves producidas por *S. aureus*. Su utilización debe mantenerse restringida y orientada por las comisiones interdisciplinarias de cada hospital, encaminados al control de cepas multirresistentes.

En *E. faecium* (una cepa aislada, dato no mostrado) se observó resistencia a la ampicilina y a los aminoglucósidos de alta carga. El ampicillin es un antibiótico de primera línea para el tratamiento de la infección enterocócica. La resistencia detectada a este antimicrobiano no constituye hoy un problema terapéutico, sin embargo, es importante mantener la vigilancia. Un estudio realizado por Quiñones *et al* (2011), informan un bajo porcentaje de resistencia para este antimicrobiano en *Enterococcus*. En este microorganismo es frecuente encontrar cepas resistentes al ampicillin, por modificaciones en la PBP tipo 5, bien por un incremento en su expresión o por mutaciones en el gen *pbp5* que implica una menor afinidad por este antimicrobiano. En relación con los aminoglucósidos, el género *Enterococcus* presenta de forma intrínseca un mecanismo de resistencia de bajo nivel a estos antimicrobianos, por un transporte deficiente del aminoglucósido al interior de la bacteria, pero cuando se asocia un aminoglucósido con otro antibiótico que actúe en la pared celular (betalactámico o glucopéptido), se produce un efecto sinérgico útil en el tratamiento de las infecciones graves por este microorganismo. Sin embargo, también se puede presentar un mecanismo de resistencia adquirida a los aminoglucósidos asociado a la producción de enzimas modificantes

(acetiltransferasas [AAC], nucleotidiltransferasas [ANT] o fosfotransferasas [APH]) y que produce una resistencia de alto nivel, perdiéndose el efecto sinérgico en asociación con agentes activos en la pared celular (Torres *et al.*, 2010).

Para *S. gallolyticus*, no se detectó resistencia a los antimicrobianos probados, a los otros cocos grampositivos identificados no se les realizó la prueba de susceptibilidad antimicrobiana, por no existir, en estos momentos, un método estandarizado ni los puntos de corte establecidos para los mismos.

Todos los aislamientos de *C. neoformans*, fueron sensibles a la anfotericina B, tal como se describe en la mayoría de las investigaciones consultadas (Li *et al.*, 2012; Illnait, 2012).

Al analizar y comparar el fenómeno de la resistencia a nivel mundial, con los resultados de esta tesis, se debe considerar que los hallazgos descritos por otros autores pertenecen a trabajos donde el número de casos investigados es mayor, el seguimiento de la resistencia es más prolongado y no todos se realizan en individuos inmunocomprometidos. Todos esos aspectos constituyeron una limitación para esta investigación y pudieran explicar las diferencias encontradas al establecer las comparaciones realizadas. No obstante, conocer los índices de aislamientos y los patrones de susceptibilidad antimicrobiana de los microorganismos aislados de episodios de BF, en un medio hospitalario como en el que se desarrolló esta investigación, permite mantener activa la vigilancia epidemiológica, así como implementar las correspondientes medidas de control, que lleven a un uso más racional y adecuado de los antimicrobianos.

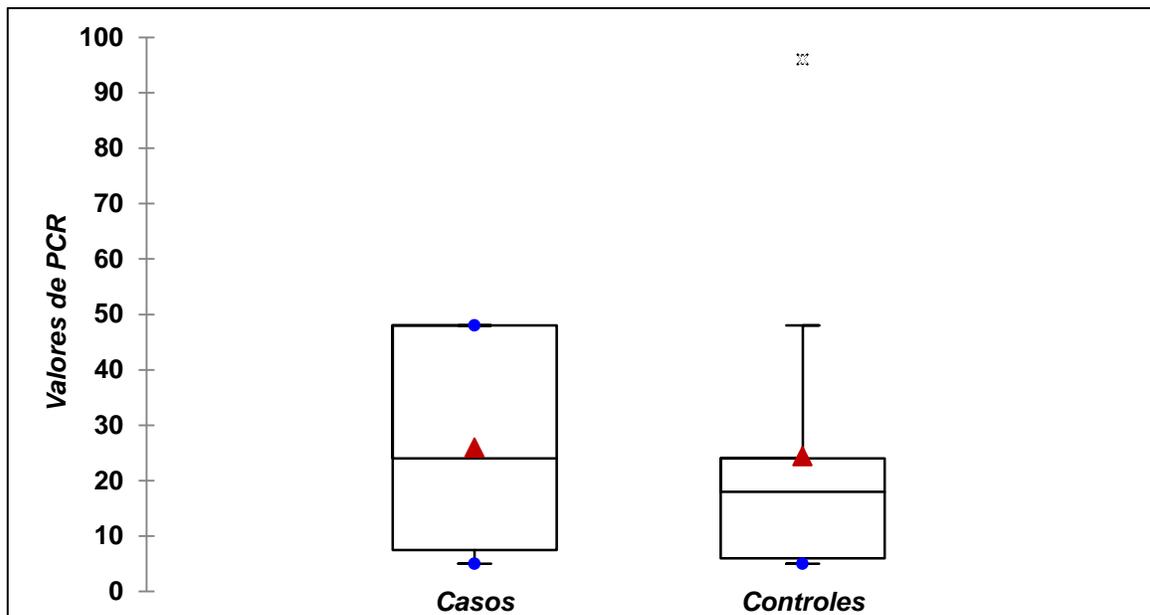
5.5. Utilidad de los biomarcadores para detectar una bacteriemia o fungemia

La reacción del organismo frente a la infección involucra mediadores solubles, células inflamatorias y componentes plasmáticos capaces de originar un

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

proceso local y muchas veces autolimitado que pudiera complicarse y generar una respuesta sistémica. Establecer un diagnóstico precoz y certero de un paciente con BF, es un desafío, ya que la estrategia a desarrollar en la erradicación de la infección, será el eje fundamental para su manejo. Es importante hacer un diagnóstico y evaluación precoz de la efectividad del tratamiento elegido. Para ello es necesario utilizar indicadores sensibles y específicos de la evolución de la enfermedad. Estos deberán modificarse rápido frente al inicio del proceso y responder de la misma forma frente al éxito de la terapéutica instaurada. Los marcadores bioquímicos de la inflamación sistémica más utilizados son la PCR y la PCT (Prat *et al.*, 2004).

En la figura 5 se observa la distribución de los valores de PCR, entre los casos y los controles. No existieron diferencias significativas ($p= 0,79$) en la distribución de los valores de PCR.

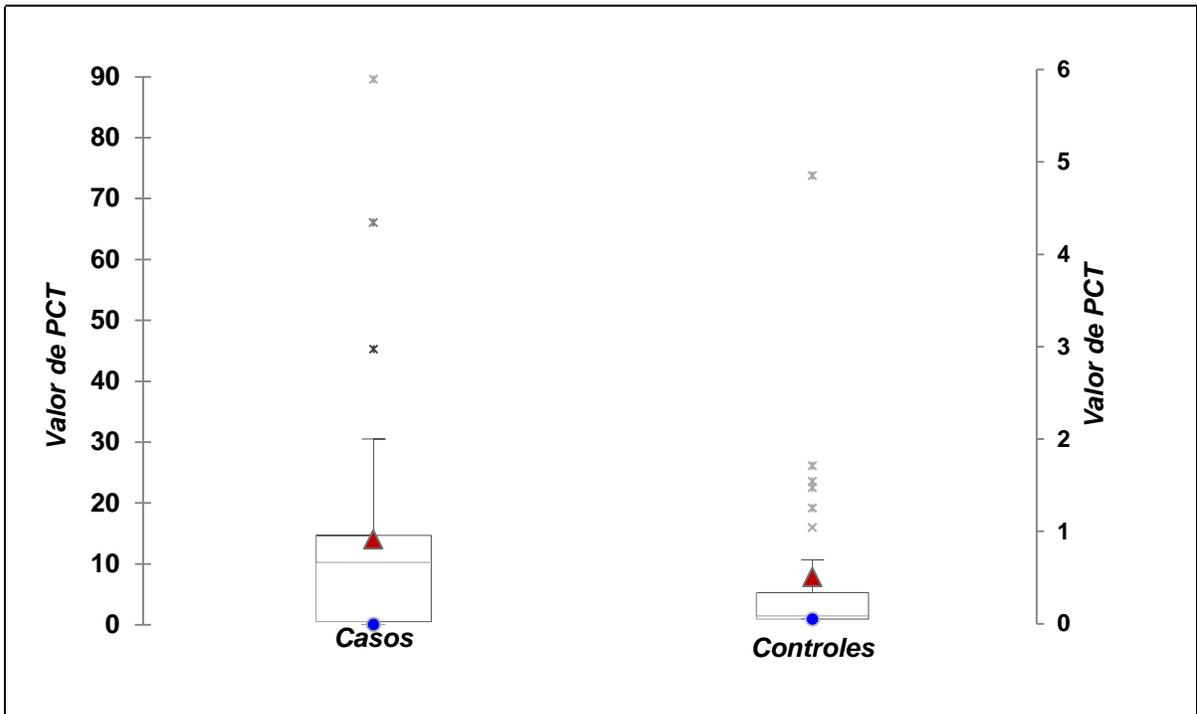


Los triángulos representan los valores de la media. Los asteriscos son los puntos aberrantes (outliers)
 $p = 0,79$

Figura 5. Concentración sérica de la proteína C reactiva entre los casos y los controles.

Se calculó la media de los valores de la PCR, entre ambos grupos y esta fue de 25,9 mg/L para el grupo de casos y 24,3 mg/L para el grupo control, sin encontrarse diferencias entre los mismos. Un trabajo realizado por Aznar *et al* (2010), tampoco detecta diferencias entre los valores de la PCR correspondientes a los pacientes bacteriémicos y no bacteriémicos. Sin embargo, Tromp *et al* (2012), encuentran que las concentraciones de este biomarcador son superiores en el grupo de pacientes con el hemocultivo positivo, detectando un resultado significativo en esta relación. La PCR, es un reactante de fase aguda que puede aumentar en las infecciones leves, por lo que no refleja de forma adecuada la gravedad de la infección, además, carece de especificidad para diferenciar la etiología de la misma. Su máximo nivel se alcanza a las 48 horas y puede permanecer elevada hasta después de solucionado el proceso. Sus valores pueden relacionarse con el proceso subyacente de los pacientes incluidos en esta investigación, los que frecuentemente padecen más de una enfermedad. Todos estos factores pudieron influir en los resultados obtenidos y en las diferencias encontradas entre los diferentes trabajos, ya que en los mismos no se incluyeron pacientes con VIH.

La PCT es uno de los biomarcadores de inflamación más estudiados y aplicados al campo de la infección. En función del contexto clínico, una concentración de PCT superior a 0,1 ng/mL puede indicar la presencia de una infección bacteriana, que necesita tratamiento con antibióticos (Christ *et al.*, 2004). En los pacientes donde se detecte una concentración de PCT superior a 0,5 ng/mL deben considerarse en riesgo de desarrollar una sepsis severa o un choque séptico. En la figura 6 se muestran los valores de la PCT en los casos y controles, evidenciándose valores superiores en el grupo de los casos.



Los triángulos representan los valores de la media. Los asteriscos son los puntos aberrantes (outliers)

$p = 0,00$

Figura 6. Concentración sérica de la procalcitonina entre los casos y los controles.

Para un diagnóstico de laboratorio, la PCT, es un importante indicador que permite la diferenciación específica entre una infección bacteriana y otras causas de reacciones inflamatorias (Harbarth *et al.*, 2001). La media de los valores para el grupo de casos se encontró en 13,9 ng/mL y en el grupo control en 0,5 ng/mL, con significación estadística ($p=0,001$). Los resultados obtenidos permitieron afirmar que la PCT, es un buen marcador para diferenciar los pacientes con bacteriemia o fungemia de aquellos que no la presentaron. Resultados similares plantean Mauro *et al* (2012), al investigar su utilidad para el diagnóstico de bacteriemia en los pacientes inmunodeprimidos. Tromp *et al* (2012) y Koivula *et al* (2011), refieren también valores de PCT significativamente superiores en los pacientes bacteriémicos. Estos datos avalan su valor para distinguir entre los procesos inflamatorios de etiología

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

bacteriana de otros no infecciosos. Esto se refuerza si se tiene en cuenta que varios autores reafirman que el VIH no induce por sí mismo la elevación de la PCT y que esta se mantiene normal en el curso de la infección aún en estado terminal (Name *et al.*, 2002).

La determinación de la capacidad discriminativa de la PCR y la PCT para predecir el desarrollo de una infección del torrente sanguíneo, se realizó mediante las curvas ROC y se calcularon también las respectivas AUC, de cada parámetro. (figura 7).

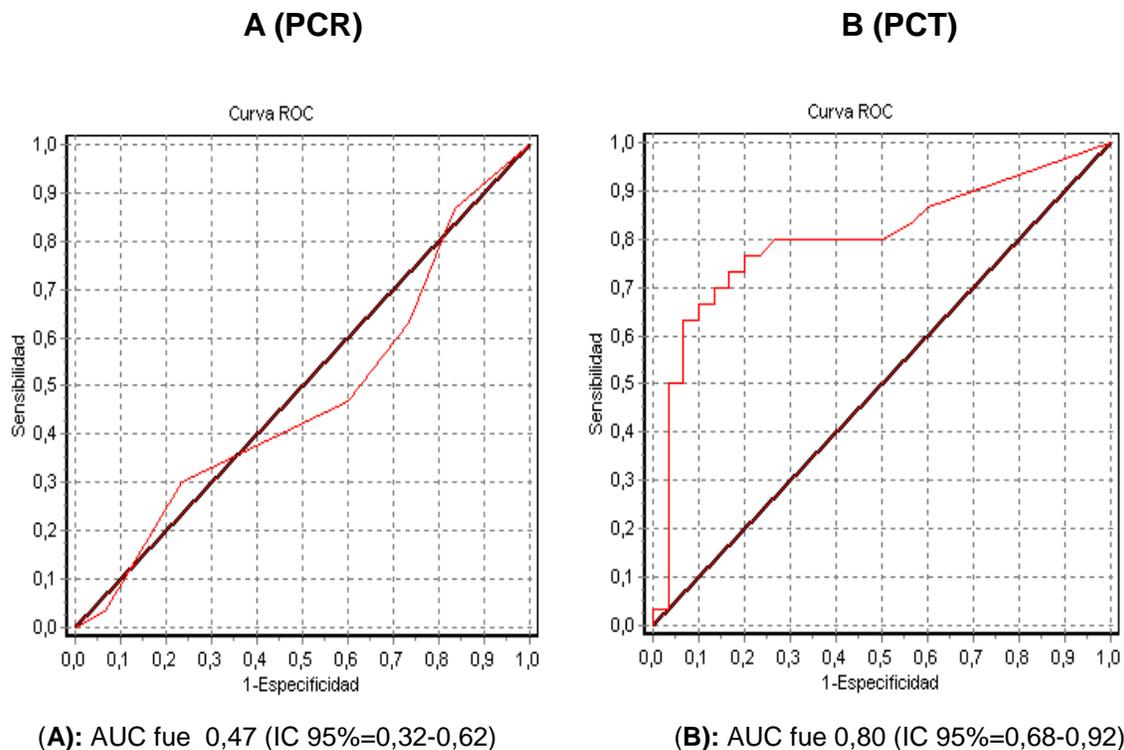


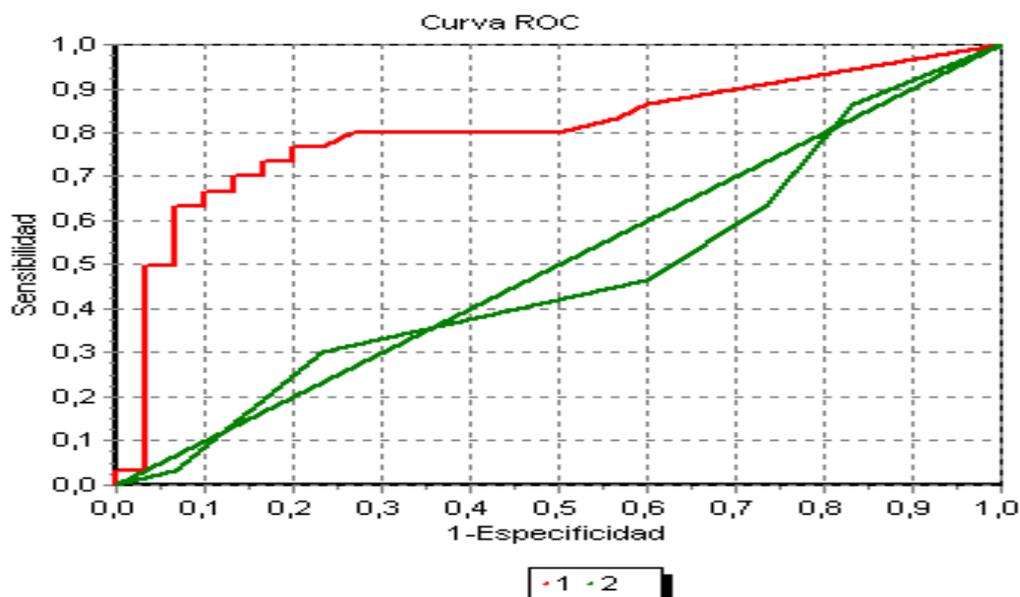
Figura 7. Capacidad discriminativa de la proteína C reactiva y la procalcitonina para predecir la ocurrencia de bacteriemia y fungemia en pacientes con VIH/sida.

A pesar de no existir un valor del AUC, a partir del cual se considere que un método diagnóstico es capaz de discriminar entre pacientes sanos *versus* enfermos, cuando se analizaron los resultados obtenidos se observó que el AUC de la concentración sérica de la PCR fue de 0,47, cifra por debajo de la

diagonal de referencia (o línea de no discriminación), y su intervalo de confianza incluyó el valor de 0,50 (considerado el punto de no discriminación), esto permitió afirmar que la PCR, en los pacientes VIH estudiados, no tuvo la capacidad de discriminar entre bacteriémicos y no bacteriémicos. En la literatura revisada no se halló ningún trabajo donde el AUC de PCR, fuera tan baja como en este estudio. Kim *et al* (2011) describen un AUC de 0,65, Jeong *et al* (2012) de 0,64 y Tsangaris *et al* (2009) de 0,65. Las discrepancias encontradas para este parámetro, pueden estar relacionadas con el hecho de que las técnicas utilizadas para determinar la concentración sérica de PCR fueron diferentes.

El AUC de la PCT fue de 0,80, cercano al valor 1 (considerado el punto de discriminación perfecta), por lo que la PCT sérica en estos casos, constituyó un método diagnóstico con una posibilidad aceptable para la identificación de los pacientes con infección sistémica. Varios estudios señalan resultados similares, por ejemplo, para Riedel *et al* (2011), en su estudio sobre el papel de la PCT para detectar bacteriemia y sepsis en un departamento de urgencias, el AUC corresponde a 0,79; mientras que, Charles *et al* (2008) obtienen un AUC de 0,93 en pacientes críticos. Por su parte Tsangaris *et al* (2009) y Kofoed *et al* (2007) notifican un AUC de 0,85 y 0,84 respectivamente.

Para afirmar que la PCT tuvo una mayor capacidad discriminativa, para determinar de la ocurrencia de BF, se compararon estadísticamente ambas AUC. (figura 8).



Leyenda: Curva 1 (PCT) Curva 2 (PCR)

$p=0,00$

Figura 8. Comparación de la capacidad discriminativa de la proteína C reactiva y la procalcitonina para predecir la ocurrencia de bacteriemia o fungemia.

Como se puede observar, la diferencia entre las AUC fue significativa ($p=0,00$). Este resultado permite afirmar que la PCT tuvo una mayor capacidad discriminativa para el diagnóstico de BF en los pacientes estudiados, demostrando su valor cuando se trata de distinguir entre una infección bacteriana y vírica, una infección sistémica o localizada y entre causas infecciosas o no de inflamación. La mayor parte de los estudios revisados coinciden con esta afirmación por ejemplo, Suberviola, *et al* (2011) en el análisis de curvas *ROC* afirma que la mejor AUC correspondió a la de PCT, superior a los logrados por la PCR, al igual que Kim *et al* (2011) y Jeong *et al* (2012), pero basándose en que el AUC de la PCT, es numéricamente mayor a la de PCR. Si bien la comparación numérica es importante, esto solo permite sugerir, mas no afirmar que un ensayo diagnóstico tenga más capacidad que otro (Cerdeira *et al.*, 2012).

La PCT no es un marcador mágico y aún se discuten algunas de sus limitaciones, pero es sin duda una herramienta valiosa que los médicos deben interpretar en el contexto clínico de cada paciente. Existen algunas situaciones en las que pueden también encontrarse valores elevados, no relacionados con una infección bacteriana sistémica (neonatos < 48 horas de vida (fisiológica), los primeros días tras un trauma importante, una intervención quirúrgica mayor, quemaduras graves, medicamentos que estimulan la emisión de citocinas proinflamatorias, ataques agudos de malaria por *Plasmodium falciparum*, sin dejar de mencionar que los valores bajos no excluyen de manera automática la presencia de una infección bacteriana (Name *et al.*, 2002).

El aumento de la PCT refleja el desarrollo continuo desde un estado saludable hasta las más graves consecuencias de infección. Por ello, los valores de corte óptimos son variables y dependen de factores como el marco clínico, el sitio y el alcance de la infección, así como la presencia de comorbilidades. Según las recomendaciones del fabricante, los valores séricos de PCT mayores de 0,5 ng/mL sugieren que existe un alto riesgo de desarrollar una infección sistémica. Teniendo en cuenta estos criterios, se midieron varios indicadores de desempeño de un método (sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP), valor predictivo negativo (VPN), razón de verosimilitud para resultados positivos (RV+), razón de verosimilitud para resultados negativos (RV-) y el índice de Youden) para diferentes puntos de corte de los valores séricos de PCT (tabla 5).

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 2. Indicadores de desempeño de la procalcitonina con diferentes puntos de corte.

Puntos de corte	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN	RV+	RV-	Índice Youden
1,04 ng/mL	0,73	0,83	0,81	0,75	4,4	0,32	0,56
1,25 ng/mL	0,7	0,86	0,84	0,74	5,25	0,34	0,56
1,54 ng/mL	0,66	0,9	0,86	0,72	6,66	0,37	0,56
2,32 ng/mL	0,63	0,93	0,90	0,71	9,5	0,39	0,56

En general, las concentraciones de PCT menores de 0,5 ng/mL indican que la infección del torrente sanguíneo no es probable. El rango entre 0,5 y 2 ng/mL constituye lo que se podría denominar zona indeterminada o zona gris para el diagnóstico de un proceso infeccioso, con riesgo de consecuencias sistémicas. Al analizar los resultados obtenidos, con los anteriores puntos de corte, se observó que la mayor especificidad fue de 0,93 para, 2,32 ng/mL, con una sensibilidad de 0,63. Si se tiene en cuenta el VPN, y además es el punto con mayor razón de verosimilitud para resultados positivos, cabe afirmar que es el mejor punto de corte para diferenciar a pacientes VIH con y sin infección sistémica. Resultados similares refieren Sinha *et al* (2011), quienes encuentran para valores de este biomarcador superiores a 2 ng/mL, una sensibilidad y especificidad de 86% y 95% respectivamente.

En relación con estos puntos de corte muchos autores obtienen resultados contradictorios. En el trabajo realizado por Bele *et al* (2011), cuando utilizan el punto de corte de 0,5 ng/mL, la idoneidad de la PCT para identificar bacteriemia en pacientes ambulatorios tuvo una sensibilidad de 100% y especificidad de 63%, con una RV+ de 2,70.

Massaro *et al* (2007), al evaluar la capacidad diagnóstica de distintos puntos de corte (0,25 ng/mL, 0,5 ng/mL, 1 ng/mL, 2 ng/mL) de PCT, detectan que para

0,25 ng/mL logran 100% de sensibilidad y para 0,49 ng/mL, obtienen 85 y 50% de sensibilidad y especificidad, respectivamente.

Otros autores como Charles *et al* (2008), en un estudio realizado en pacientes críticos, encuentran que, concentraciones de PCT correspondientes a 16 ng/mL, permiten diferenciar entre bacteriemia por microorganismos gramnegativos y grampositivos, con una sensibilidad de 75% y una especificidad de 82,2% y una RV+ de 4,2.

Estas y otras publicaciones señalan que los puntos de corte aún no están bien definidos y que deberían establecerse teniendo en cuenta los siguientes factores: el ámbito clínico, el lugar, la extensión y la etiología de la infección, la presencia de comorbilidad, el interés clínico y, muy especialmente, la sensibilidad del ensayo utilizado y los VPP y VPN. Es necesario establecer puntos de corte específicos, adaptados a contextos o entidades clínicas determinadas o en grupos concretos de pacientes. Desde el punto de vista clínico, las infecciones son una secuencia de variables y complejas interacciones entre la respuesta inmune, los microorganismos y sus toxinas. Aunque el resultado sea demasiado complejo para reducirse a un simple punto de corte de un marcador de infección, la PCT proporciona una valiosa información en el diagnóstico de las infecciones sistémicas.

En el presente estudio se hizo una descripción general de los principales aspectos relacionados con el desarrollo de una infección del torrente sanguíneo en pacientes con VIH. Cabe resaltar que, no se encontró en la literatura otro estudio realizado en Cuba que evaluara la capacidad de los biomarcadores para determinar la aparición de infección sistémica en estos pacientes. Los resultados obtenidos contribuyen al conocimiento sobre el diagnóstico de esta entidad en pacientes con VIH/sida y constituyen una herramienta útil para el manejo de estos casos.

VI. CONCLUSIONES

- Aunque se notifica a nivel internacional un incremento de bacterias grampositivas como causa de bacteriemia, se obtuvo un predominio de bacilos gramnegativos, lo que ratifica a estos microorganismos como importantes agentes causales de infección del torrente sanguíneo en los pacientes investigados.
- Los patrones de susceptibilidad antimicrobiana detectados, corroboran la necesidad de crear estrategias para el establecimiento de una correcta aplicación de la política antimicrobiana, que contribuya al control de la multirresistencia.
- La procalcitonina es el marcador que muestra una mayor capacidad diagnóstica en los pacientes con VIH/sida que padecen una infección del torrente sanguíneo, de manera que podría utilizarse como parámetro diagnóstico en esta patología.

VII. RECOMENDACIONES.

- Diseñar estudios más amplios, dirigidos extender la búsqueda de otros posibles agentes patógenos causantes de bacteriemia en estos pacientes.
- Implementar el uso de la procalcitonina en los pacientes con sospecha clínica de infección sistémica.
- Realizar estudios que contemplen la determinación seriada de la procalcitonina con la finalidad de conocer su verdadera capacidad diagnóstica y pronóstica.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adams D, Quayum M, Worthington T, Lambert P, Elliott T. Evaluation of a 2% chlorhexidine gluconate in 70% isopropyl alcohol skin disinfectant. *J Hosp Infect.* 2005;61(4):287-90.
- Amariles P, Giraldo N, Henao E. Guía de actuación farmacéutica en pacientes con VIH/sida. [citado el 17 de enero de 2013]. Disponible en: www.humaxph.com
- Ardanuy C, Cercenado E, Morosini M, Torres C. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en grampositivos 2011. En: *Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.* Editores: Cercenado E y Cantón R. Disponible en: <http://www.seimc.org/protocolos/microbiologia>
- Arthur G, Nduba VN, Kariuki SM, Kimari J, Bhatt SM, Gilks CF. Trends in bloodstream infections among human immunodeficiency virus-infected adults admitted to a hospital in Nairobi, Kenya, during the last decade. *Clin Infect Dis.*2001;33:248-56.
- Aznar Oroval E, Sánchez Yepes M, Lorente Alegre P, San Juan Gadea M, Ortiz- Muñoz B, Pérez Ballesteros P, et al. Valor diagnóstico de la procalcitonina, la interleucina 8, la interleucina 6 y la proteína C reactiva en la detección de bacteriemia y fungemia en pacientes con cáncer. *Enferm Infecc Microbiol Clin.*2010;28(5):273–7.
- Ballesteros M, Ruiz C, Fernández C, Gutiérrez M. Bacteriemia y sepsis por *Leuconostoc mesenteroides* [carta]. *Med Clin (Barc).*2010;134(2):87–92 .

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Baron EJ, Weinstein MP, Dunne WM, Yagupsky P, Welch DF, Wilson DM. (2005). Cumitech 1C, Blood Cultures IV. Coordinating ed. EJ Baron. American Society for Microbiology. Washintong. DC.
- Becker KL, Snider R, Nylén ES. Procalcitonin assay in systemic inflammation, infection, and sepsis: Clinical utility and limitations. Crit Care Med. 2008;36:941-52.
- Bele N, Darmon M, Coquet I, Feugeas JP, Legriel S, Adaoui N, et al. Diagnostic accuracy of procalcitonin in critically ill immunocompromised patients. BMC Infect Dis. 2011;11:224.
- Beutz M, Sherman G, Mayfield J, Fraser VJ, Kollef MH. Clinical utility of blood cultures drawn from central vein catheters and peripheral venipuncture in critically ill medical patients. Chest. 2003;123(3):854-61.
- Black S, Kushner I, Samols D. C-reactive protein. J Biol Chem. 2004;279(47):487-90.
- Brooke J. *Stenotrophomonas maltophilia*: an emerging global opportunistic pathogen. Clin Microbiol Rev. 2012;25(1):2-41.
- Bustos J, Hamdan A, Gutiérrez M. *Staphylococcus aureus*: la reemergencia de un patógeno en la comunidad. Rev Biomed. 2006; 17:287-305.
- Calfee DP, Farr BM. Comparison of four antiseptic preparations for skin in the prevention of contamination of percutaneously drawn blood cultures: a randomized trial. J Clin Microbiol. 2002;40(5):1660-5.
- Calvo J, Cantón R, Fernández F, Mirelis B, Navarro F. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en gramnegativos 2011. En: Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Clínica. Editores: Cercenado E y Cantón R. Disponible en: <http://www.seimc.org/protocolos/microbiologia>.

- Calza L, Manfredi R, Chiodo F. *Stenotrophomonas (Xanthomonas) maltophilia* as an emerging opportunistic pathogen in association with HIV infection: a 10-year surveillance study. *Infection*. 2003;31(3):155-61.
- Cammie F. Lesser, Samuel I. Miller. Salmonellosis. En: Kasper L, Braunwald E, Fauc A, Hauser S, Longo D, Jameson L, editores. *Principios de Medicina Interna*. Mexico: McGraw– Hill companies; 2006. p. 897-902.
- Carvajal I. Importancia clínica y susceptibilidad antimicrobiana de *Acinetobacter* spp. causante de infecciones en hospitales cubanos. IPK, 2010-2011. [Tesis de Especialista de Primer Grado en Microbiología]. La Habana: IPK; 2012.
- Casellas JM. Resistencia a los antibacterianos en América Latina: consecuencias para la infectología. *Rev Panam Salud Pública*. 2011;30(6):519–28.
- Cerda J, Cifuentes L. Uso de curvas ROC en investigación clínica. Aspectos teórico-prácticos. *Rev Chil Infect*. 2012;29(2):138-41.
- Chang Dávila D, Arias Torres J, Arroyo Rojas G, Cavenago Arce A, Cavenago Arce E, Málaga Rodríguez G. Perfil de resistencia de las bacterias aisladas de hemocultivos en un Hospital General. *Rev Soc Peru Med Interna*. 2008;21(2):62-5.
- Charles PE, Ladoire S, Aho S, Quenot J,P Doise JM, Prin S. Serum procalcitonin elevation in critically ill patients at the onset of bacteremia caused by either gram negative or gram positive bacteria. *BMC Infect Dis*. 2008;8:38.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Charles P, Ladoire S, Snauwaert A, Prin S, Aho S, Pechinot A, et al. Impact of previous sepsis on the accuracy of procalcitonin for the early diagnosis of blood stream infection in critically ill patients. *BMC Infect Dis.* 2008;8:163.
- Chen XY, Xu F, Xia JY, Cheng YS, Yang Y. Bacteremia due to *Rhodococcus equi*: a case report and review of the literature. *J Zhejiang Univ Sci B.* 2009;10(12):933-6.
- Hung CC, Hung MN, Hsueh PR, Chang SY, Chen MY, Hsieh SM, et al. Risk of recurrent Nontyphoid *Salmonella* bacteremia in HIV-Infected patients in the era of Highly Active Antiretroviral Therapy and an increasing trend of fluoroquinolone resistance. *Clin Infect Dis.* 2007; 45:60–7.
- Christ-Crain M, Jaccard-Stolz D, Bingisser R, Gencay MH, Huber PR, Tamm M, et al. Effect of procalcitonin-guided treatment on antibiotic use and outcome in lower respiratory tract infections: cluster randomised, single-blinded intervention trial. *Lancet.* 2004;363:600-7.
- CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement. CLSI document M100-S23. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2013.
- Cobo J, Pujol M, Rodriguez J, Salavert M. Guías para el diagnóstico y tratamiento del paciente con bacteriemia 2006. En: Guías Clínicas SEIMC. Editores: Aguado J, Fortun J. Disponible en: <http://www.seimc.org/protocolos/microbiologia>
- Cockerill FR, Wilson JW, Vetter EA, Goodman KM, Torgerson CA, Harmsen WS, et al. Optimal testing parameters for blood cultures. *Clin Infect Dis.* 2004;15;38(12):1724-30.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cortés JA, Urdaneta AM, Potdevin G, Cuervo SI, Bermúdez D, Molina CA. Impacto de las betalactamasas de espectro extendido en pacientes con cáncer. *Rev Colombiana Cancerol.* 2006;10(3):183-96.
- Cuenca E. Micosis profundas por otros hongos patógenos humanos. *Medicine.* 2002;8(68):3631-40.
- Cuevas O, Cercenado E, Goyanes M, Vindel A, Trincado P, Boquete T, et al. *Staphylococcus* spp. en España: situación actual y evolución de la resistencia a antimicrobianos (1986-2006). *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2008;26(5):269-77.
- La Paz Bermúdez T de, Portela Ramírez D, Jiménez Pérez N, Dorvigny Scull M, Kitchin Wilson M. Neumonía por *Rhodococcus equi* en pacientes con sida: evolución radiológica en 7 pacientes. *Rev Cubana Med Trop* 2010;62(3):207-11.
- Del Campo L, Sifuentes J. Infecciones oportunistas en el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida: La historia en México a 20 años del inicio de la epidemia. *Rev Invest Clín.*2004;56(2):169 -80.
- Del Campo R. ¿Es necesario identificar correctamente y a nivel de subespecie los aislados del grupo *Streptococcus bovis*? *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2012;30(4):173–4.
- DeLong ER, DeLong DM, Clarke-Pearson DL. Comparing the areas under two or more correlated receiver operating characteristic curves: a nonparametric approach. *Biometrics.*1988;44:837–45.
- Díaz R, Oujo E, Guevara P, Guillén Campuzano E, Marín Soria JL, Muñoz Pérez M, et al. Procalcitonina: utilidad y recomendaciones para su medición en el laboratorio. 2011. En: Documentos de la SEQC. Disponible en: <http://www.seqc.es>

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Dreyer A (2012). Blood Culture Systems: From Patient to Result, Sepsis - An Ongoing and Significant Challenge, Luciano Azevedo (Ed.), ISBN: 978-953-51-0780-4, InTech, DOI: 10.5772/50139. Disponible en: <http://www.intechopen.com/books/sepsis-an-ongoing-and-significant-challenge/blood-culture-systems-from-patient-to-result>
- Dreyer AW, Ismail NA, Nkosi D, Lindeque K, Matthews M, van Zyl DG, et al. Comparison of the VersaTREK blood culture system against the Bactec 9240 system in patients with suspected bloodstream infections. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2011;5:10:4.
- Duque M. Marcadores de infección en pediatría. [tesis doctoral]. Madrid:2009
- Edward TH. CRP as a mediator of disease. *Circulation.* 2004;109:11-4.
- Espinosa F. Patógenos multirresistentes emergentes. Hospital “Hermanos Ameijeiras”. 2009. *Rev Acta Médica.* 2011;13(1):38-45.
- Espinosa Rivera F, López Suárez A, Hart Casares M, Toraño Peraza G. Susceptibilidad antibacteriana de cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas en el hospital Clínico-Quirúrgico Hermanos Ameijeiras de La Habana, Cuba. *La Gaceta de Infectología y Microbiología Clínica Latinoamericana.* 2012;2(2):47-54.
- Falagas ME, Kasiakou SK. Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. *Clin Infect Dis.* 2005;40:1333–41.
- Falagas ME, Kastoris AC, Vouloumanou EK, Dimopoulos G. Community-acquired *Stenotrophomonas maltophilia* infections: a systematic review. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2009;28(7):719-30.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Falagas ME, Matthaiou DK, Karveli EA, Peppas G. Meta-analysis: randomized controlled trials of clindamycin/aminoglycoside vs. beta-lactam monotherapy for the treatment of intra-abdominal infections. *Aliment Pharmacol Ther.* 2007;25:537–56.
- Fariñas M, Fariñas C, García J, González J. Bacteriemia y sepsis. Aspectos etiológicos y patogénicos. Clínica y diagnóstico. *Medicine* 1998;7(73): 3377-83.
- Freixas N, Sopena N, Limón E, Bella F, Matas L, Almirante B, et al. Surveillance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in acute care hospitals. Results of the VINCat Program (2008-2010) *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2012;30:39-42.
- Friedman ND, Kaye KS, Stout JE, McGarry SA, Trivette SL, Briggs JP, et al. Health care–associated bloodstream infections in adults: a reason to change the accepted definition of community-acquired infections. *Ann Intern Med.* 2002;137:791-7.
- Gaitán SL, Espinal PA. Caracterización molecular de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productores de β -lactamasas de espectro extendido en hospitales de la Región Caribe, Colombia. *Rev Chil Infect.* 2009;26(3):239-46.
- Gander RM, Byrd L, De Crescenzo M, Hirany S, Bowen M, Baughman J. Impact of blood cultures drawn by phlebotomy on contamination rates and health care costs in a hospital emergency department. *J Clin Microbiol.* 2009;47(4):1021-4.
- Garbino J, Kolarova L, Lew D, Hirschel B, Rohner P. Fungemia in HIV-infected patients: a 12-year study in a tertiary care hospital. *AIDS Patient Care STDS.* 2001;15(8):407-10.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- García Ordóñez MA, Colmenero Castillo JD. Modelos pronósticos en bacteriemia y sepsis. *An Med Interna (Madrid)*. 2006;23:53-5.
- García T, Salazar D, Castillo F, Rodríguez W, Reyes T. Caracterización fenotípica de enterobacterias aisladas en pacientes con el virus de la inmunodeficiencia humana/sida. *Rev Cubana Med Trop*. 2013; 65(1):66-77.
- Ge Y, Liu XQ, Xu YC, Xu S, Yu MH, Zhang W, et al. Blood collection procedures influence contamination rates in blood culture: a prospective study. *Chin Med J*. 2011;124(23):4002-6.
- Gilbert D. Use of Plasma Procalcitonin Levels as an Adjunct to Clinical Microbiology. *J Clin Microbiol*. 2010;48(7): 2325–9.
- Gómez J, Gil Y, Burillo A, Wilhelmib I, Palomoc M. Cuadros clínicos asociados a bacteriemia causada por las nuevas especies incluidas en el antiguo grupo *Streptococcus bovis*. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2012;30(4):175–9.
- González A, Tobón A. Infecciones micóticas oportunistas en pacientes con VIH/sida. *Infectio*. 2006;10(4):279-88.
- González L, Ramos A, Nadal L, Morffi J, Hernández E, Álvarez AB. Identificación fenotípica y molecular de β -lactamasas de espectro extendido TEM y SHV producidas por *Escherichia coli* y *Klebsiella* spp. aislados clínicos en hospitales . *Rev Cubana Med Trop*. 2007;59(1):52-4.
- Harbarth S, Holeckova K, Froidevaux C, Pittet D, Ricou B, Grau G, et al. Geneva Sepsis Network Diagnostic value of procalcitonin, interleukin-6, and interleukin-8 in critically ill patients admitted with suspected sepsis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;164(3):396-402
- Harris J, Lindsley M, Henchaichon S, Poonwan N, Naorat S, Prapasiri P, et al. High prevalence of Cryptococcal infection among HIV-infected

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

patients hospitalized with pneumonia in Thailand. Clin Infect Dis. 2012;54(5):43-50.

- Hart M, Llanes N, Espinosa F, Halley M, Martínez M, López A. Estudio de la sensibilidad antimicrobiana de la especie *Acinetobacter baumannii* en el Hospital "Hermanos Ameijeiras", año 2006. Rev Cubana Med [revista en la Internet]. 2008 Sep [citado 2013 Mar 10]; 47(3): Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S003475232008000300007&lng=es.
- Hernández Ricardo G. Biotipos, antibiogramas y perfiles plasmídicos en cepas de *Salmonella* aisladas en Cuba en el período 2002-2003. [Tesis de Especialista de Primer Grado en Microbiología]. Ciudad de La Habana: IPK; 2004.
- Hesselink D, Bosmans-Timmerarends H, Burgerhart J, Petit P, van Genderen P. Procalcitonin as a Biomarker for a bacterial infection on hospital admission: a critical appraisal in a cohort of travellers with fever after a stay in (Sub)tropics. Interdiscip Perspect Infect Dis.2009;2009: 137609
- Hoffmann Ch, Rockstroh JK, Kamps BS, editors. HIV Medicine 2007. 15ta.ed. Paris: Flying Publisher; 2007.
- Illnait M. Caracterización genotípica y susceptibilidad a antifúngicos de aislamientos cubanos de *Cryptococcus*. [Tesis Doctoral]. La Habana: IPK; 2012.
- Jamal W, Tamaray G, Pazhoor A, Rotimi VO. Comparative evaluation of BacT/ALERT3D and BACTEC systems for the recovery of pathogens causing bloodstream infections. Med Princ Pract. 2006;15(3):223-7.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Jeong S, Park Y, Cho Y, Kim HS. Diagnostic utilities of procalcitonin and C-reactive protein for the prediction of bacteremia determined by blood culture. *Clin Chim Acta*. 2012;413(21-22):1731-6.
- Jung Y, Lee MJ, Sin HY, Kim NH, Hwang JH, Park J, et al. Differences in characteristics between healthcare-associated and community-acquired infection in community-onset *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection in Korea. *BMC Infect Dis*. 2012;12:239.
- Kang CI, Kim SH, Park WB, Lee KD, Kim HB, Oh MD, et al. Bloodstream infections caused by *Enterobacter* species: predictors of 30-day mortality rate and impact of broad-spectrum cephalosporin resistance on outcome. *Clin Infect Dis*. 2004;39(6):812-8.
- Kiertiburanakul S, Watcharatipagorn S, Chongtrakool P, Santanirand P. Epidemiology of Bloodstream Infections and Predictive Factors of Mortality among HIV-Infected Adult Patients in Thailand in the Era of Highly Active Antiretroviral Therapy. *Jpn. J. Infect. Dis*. 2012;65:28-32.
- Kim DY, Lee YS, Ahn S, Chun YH, Lim KS. The Usefulness of procalcitonin and c-reactive protein as early diagnostic markers of bacteremia in cancer patients with febrile neutropenia. *Cancer Res Treat*. 2011;43(3):176-80.
- Kim MH, Lim G, Kang SY, Lee WI, Suh JT, Lee HJ. Utility of Procalcitonin as an Early Diagnostic Marker of Bacteremia in Patients with Acute Fever. *Yonsei Med J*. 2011;52(2):276-81.
- Kocoglu M, Bayram A, Balci I. Evaluation of Negative Results of BacT/Alert 3D Automated Blood Culture System. *J. Microbiol*. 2005;43(3):257-9.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Kofoed K, Andersen O, Kronborg G, Tvede M, Petersen J, Eugen-Olsen J, et al. Use of plasma C-reactive protein, procalcitonin, neutrophils, macrophage migration inhibitory factor, soluble urokinase-type plasminogen activator receptor, and soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in combination to diagnose infections: a prospective study. *Crit Care*. 2007;11(2):R38.
- Koivula I, Hämäläinen S, Jantunen E, Pulkki K, Kuittinen T, Nousiainen T, et al. Elevated procalcitonin predicts Gram-negative sepsis in haematological patients with febrile neutropenia. *Scand J Infect Dis*. 2011;43:471-8.
- Laplumé H, Aguilar L, Daciuk L, Torales G. Infecciones bacterianas en pacientes con VIH-sida. *La Gaceta de Infectología y Microbiología Clínica* 2008;2(2):13-5.
- Lee A, Mirrett S, Reller LB, Weinstein MP. Detection of bloodstream infections in adults: how many blood cultures are needed? *J Clin Microbiol*. 2007;45(11):3546-8.
- Li M, Liao Y, Chen M, Pan W, Weng L. Antifungal susceptibilities of *Cryptococcus* species complex isolates from AIDS and non-AIDS patients in Southeast China. *Braz J Infect Dis*. 2012; 16(2):175-9.
- Limper M, de Kruif M, Ajubi N, van Zanten A, Brandjes D, et al, Procalcitonin as a potent marker of bacterial infection in febrile Afro-Caribbean patients at the emergency department. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2011;30(7):831–6.
- López J, Echeverri L. *K. pneumoniae*: ¿la nueva "superbacteria"? Patogenicidad, epidemiología y mecanismos de resistencia. *Iatreia*. 2010;23(2):157-65

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Loza E, Planes A, Rodríguez M. 3a. Hemocultivos 2003. En: Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Editores: Cercenado E y Cantón R. Disponible en: <http://www.seimc.org/protocolos/microbiologia>
- Manfredi R, Nanetti A, Ferri M, Chiodo F. *Enterobacter* spp. infections complicating the course of HIV disease. J Chemother. 2001;13(2):195-201.
- Manfredi R, Nanetti A, Valentini R, Chiodo F. *Acinetobacter* infections in patients with human immunodeficiency virus infection: microbiological and clinical epidemiology. Chemotherapy. 2001;47(1):19-28.
- Manfredi R, Nanetti A, Valentini R, Chiodo F. Pathogenic role of *Acinetobacter* spp during HIV infection. Infez Med. 2001;9(1):43-51.
- Manfredi R, Tadolini M, Calza L, Chiodo F. *Streptococcus bovis* as an opportunistic pathogen during advanced HIV disease. Infez Med. 1999;7(3):187-91.
- Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M. The Epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. N Engl J Med. 2003;348:1546-54.
- Massaro KS, Costa SF, Leone C, Chamone D. Procalcitonin (PCT) and C - reactive protein (CRP) as severe systemic infection markers in febrile neutropenic adults. BMC Infect Dis. 2007;7:137.
- Mauro M, Cavalcantia P, Peruginia D, Notob A, Sperlic D, Giralidia C. Diagnostic utility of LightCycler SeptiFast and procalcitonin assays in the diagnosis of bloodstream infection in immunocompromised patients. Diagn Microbiol Infect Dis. 2012;73(4):308-11.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Meisner M, Lohs T, Huettemann E, Schmidt J, Hueller M, Reinhart K. The plasma elimination rate and urinary secretion of procalcitonin in patients with normal and impaired renal function. *Eur J Anaesthesiol.* 2001;18:79-87.
- Mezzatesta L, Trovato G, Gona F, Nicolosi M, Nicolosi D, Carattoli A, et al. In vitro activity of tigecycline and comparators against carbapenem-susceptible and resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates in Italy. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.*2008;7:4.
- Mirrett S, Hanson KE, Reller LB. Controlled clinical comparison of VersaTREK and BacT/ALERT blood culture systems. *J Clin Microbiol.* 2007;45(2):299-302.
- Mootsikapun P. Bacteremia in adult patients with acquired immunodeficiency syndrome in the northeast of Thailand. *Int J Infect Dis.* 2007;11(3):226-31.
- Morejón M. *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. Un problema actual. *Dermatol Perú.* 2012;22 (1) 29.
- Moreno A, Bolaños M, Buceta E, Hernández M, Frances A, Pérez-Arellano JL. *Streptococcus bovis* bacteremia from a venous access port in a patient with AIDS. *Scand J Infect Dis.* 2002;34(10):764-6.
- Morosini M, Cercenado E, Ardanuy C, Torresd C. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en microorganismos grampositivos. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2012;30(6):325–32.
- Name Bayona O, Fernández López A, Luaces Cubells C. Procalcitonina: una nueva herramienta diagnóstica en la infección bacteriana. *Med Clin (Barc).* 2002;119(18):707-14.
- Navarro F, Miró, Mirelis B. Lectura interpretada del antibiograma de enterobacterias. *Enferm Infecc Microbiol Clin.*2010;28(9):638–45.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Nodarse R. Detección de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina mediante disco de cefoxitina. Rev Cub Med Mil. [revista en la Internet]. 2009 Dic [citado 2012 Dic 28]; 38(3-4): Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572009000300004&lng=es.
- Ntusi NB, Badri M, Khalfey H, Whitelaw A, Oliver S, Piercy J, et al. ICU associated *Acinetobacter baumannii* colonisation/infection in a high HIV-prevalence resource-poor setting. PLoS One. 2012;7(12):e52452.
- Ocaña A, Rocchi M, Gasparotto A, Conrero I, Navarro M, Factorovich S, et al. Bacteriemia por enterobacterias en adultos en un hospital universitario: análisis de cinco años. Rev Argent Microbiol. 2007;39(1):38-43.
- Ogunsola F, Arewa D, Akinsete I, Oduyebo O, Akanmu A, Odugbemi T. Aetiology of bacteremia among adult AIDS patients attending Lagos University Teaching Hospital (LUTH), Lagos, Nigeria. Niger Postgrad Med J. 2009;16(3):186-92.
- Ortega M, Almela M, Soriano A, Marco F, Martínez JA, Muñoz A, et al. Bloodstream infections among human immunodeficiency virus-infected adult patients: epidemiology and risk factors for mortality. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2008;27(10):969-76.
- Paez J, Costa S. Risk factors associated with mortality of infections caused by *Stenotrophomonas maltophilia*: a systematic review. J Hosp Infect. 2008; 70(2):101-8.
- Pardo Mateu L, Faubel Serra M, Llaveró Segovia Mt, et al. Laringitis por *Rhodococcus equi* en paciente con sida. Acta Otorrinolaringol Esp. 2002;53: 783-8.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Pascual A. Hemocultivos y líquido cefalorraquídeo. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2003;21(Supl. 2):37-43.
- Paul M, Soares-Weiser K, Grozinsky S, Leibovici L. Betalactámico versus tratamiento de combinación de betalactámico + aminoglucósido en pacientes oncológicos con neutropenia (Revisión Cochrane traducida). En: *La Biblioteca Cochrane Plus*, 2008 Número 4. Oxford: Update Software Ltd. Disponible en: <http://www.update-software.com>.
- Pazos R, Fernández R, Paz I, Tinajas A, Cantón I, Abel V, et al. Factores pronósticos de la bacteriemia: estudio prospectivo. *An.Med. Interna.* 2001;18(8):415-20.
- Perfect J, Dismukes W, Dromer F, Goldman D, Graybill J, Hamill R, et al. Clinical practice guidelines for the management of Cryptococcal disease: 2010 update by the infectious diseases society of America. *Clin Infect Dis.* 2010;50(3):291-322.
- Petrosillo N, Viale P, Nicastrì E, Arici C, Bombana E, Casella A, et al. Nosocomial bloodstream infections among human immunodeficiency virus-infected patients: incidence and risk factors. *Clin Infect Dis.* 2002;34:677-85.
- Peymani A, Nahaei M., Farajnia S, Hasani A, Mirsalehian A, Sohrabi N, et al. High Prevalence of Metallo- β -Lactamase- Producing *Acinetobacter baumannii* in a Teaching Hospital in Tabriz, Iran. *Jpn J Infect Dis.* 2011;64(1):69-71.
- Póvoa P, Coelho L, Almeida E, Fernández A, Mealha R, Moreira P, et al. Early identification of intensive care unit-acquired infections with daily monitoring of C-reactive protein: a prospective observational study. *Crit Care.* 2006;10(2):63.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Prat C, Domínguez J. Procalcitonina y marcadores de infección. Ed Cont Lab Clín. 2004;7:38-43.
- Quiñones Pérez D, Abreu Capote M, Marrero D, Alvarez AB, Ortiz C, Salomé F, et al. Susceptibilidad antimicrobiana y bases genéticas de la resistencia de cepas de *Enterococcus* causantes de infecciones en Cuba. Rev Panam Salud Pública. 2011;30(6):549–54.
- Rahkonen M, Luttinen S, Koskela M, Hautala T. True bacteremias caused by coagulase negative *Staphylococcus* are difficult to distinguish from blood culture contaminants. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2012;31.
- Reddy E, Shaw A, Crump J. Community-acquired bloodstream infections in Africa: a systematic review and meta-analysis. Lancet Infect Dis. 2010;10(6):417–32.
- Ribas RM, Freitas C, Gontijo Filho PP. Nosocomial bloodstream infections: organisms, risk factors and resistant phenotypes in the Brazilian University Hospital. Braz J Infect Dis. 2007;11(3):351-4.
- Riedel S, Bourbeau P, Swartz B, Brecher S, Carroll KC, Stamper PD, et al. Timing of specimen collection for blood cultures from febrile patients with bacteremia. J Clin Microbiol. 2008;46(4):1381-5.
- Riedel S, Melendez J, An A, Rosenbaum J, Zenilman J. Procalcitonin as a marker for the detection of bacteremia and sepsis in the emergency department. Am J Clin Pathol. 2011;135:182-9.
- Roberts W, Schwarz E, Allanan S, Rifai N. Performance characteristics of a point of care C-reactive protein assay. Clin Chim Acta. 2001;314:255-9.
- Romero B, Del Campo R, Cantón R. *Streptococcus bovis*, situación taxonómica, relevancia clínica y sensibilidad antimicrobiana. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2013;31:14-9.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Sabatier C, Peredoy R, Valdes J. Bacteriemia en el paciente crítico. *Med Intensiva*. 2009;33(7):336–45.
- Salazar D, Reyes T, Rodríguez F, Bandera F, Reyes A, Medina V, et al. *Rhodococcus equi* en paciente VIH/sida: primera detección molecular en Cuba. *Rev Cubana Med Trop*. 2011;63(3):253-6.
- Schuetz P, Albrich W, Mueller B. Procalcitonin for diagnosis of infection and guide to antibiotic decisions: past, present and future. *BMC Medicine*. 2011;9:107.
- Secchi C, Pereira F, Rodrigues L, Alves P, da Silva S. Bacteremia due to *Rhodococcus equi* in a patient with acquired immunodeficiency syndrome: case report. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2006;39(6):570-2.
- Senol E. *Stenotrophomonas maltophilia*: the significance and role as a nosocomial pathogen. *J Hosp Infect*. 2004;57(1):1-7.
- Shanthachol T, Nilgate S, Suankratay C. A comparative study to determine the recovery rate of microorganisms of bloodstream infections: two versus three blood culture specimens. *J Med Assoc Thai*. 2012;95(8):1053-8.
- Siegman-Igra Y, Fourer B, Orni-Wasserlauf R, Golan Y, Noy A, Schwartz D, et al. Reappraisal of community acquired bacteremia: a proposal of a new classification for the spectrum of acquisition of bacteremia. *Clin Infect Dis*. 2002;34:1431-9.
- Silva P, Miyata M, Sato DN, Santos AC, Mendes NH, Leite CQ. *Rhodococcus equi* isolation from sputum of patients with suspected tuberculosis. *Mem Ins Oswaldo Cruz*. 2010;105:199-202.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Simon L, Gauvin F, Amre D, Saint-Louis P, Lacroix J. Serum procalcitonin and C - reactive protein levels as markers of bacterial infection: a systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis.* 2004;39:206–17.
- Sinha M, Desai S, Mantri S, Kulkarni A. Procalcitonin as an adjunctive biomarker in sepsis. *Indian J Anaesth.* 2011;55(3):266-70.
- Srifuengfung S, Chokephaibulkit T, Yungyuen T, Tribuddharat Ch. Bacteremia and antimicrobial susceptibilities in HIV-infected patients at Siriraj hospital. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2005;36(2):347-51.
- Suárez B, Hart M, Espinosa F, Salazar D. Detección de mecanismos de resistencia en aislamientos clínicos de *Klebsiella pneumoniae* multidrogosresistentes. *Rev Cubana Med.* 2012;51(3): 228-38.
- Suárez B. Detección de fenotipos de resistencia en aislamientos clínicos de *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*. [Tesis de Especialista de Primer Grado en Microbiología]. La Habana: IPK; 2011.
- Suberviola B, Castellanos Ortega A, González Castro A, García Astudillo LA, Fernández Miret B. Valor pronóstico del aclaramiento de procalcitonina, PCR y leucocitos en el shock séptico. *Med Intensiva.* 2011. doi:10.1016/j.medin.2011.09.008
- Tokars JI. Predictive value of blood cultures positive for coagulase-negative staphylococci: implications for patient care and health care quality assurance. *Clin Infect Dis.* 2004;39(3):333-41.
- Torres C, Cercenado E. Lectura interpretada del antibiograma de cocos gram positivos. *Enferm Infecc MicrobiolClin.*2010;28(8):541–53.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Torres Tortosa M, Caballero Granada F. Bacteriemia en pacientes infectados por el VIH [citado 20 de enero 2012] Disponible en: <http://saei.org/hemero/libros/c16.pdf>
- Tromp M, Lansdorp B, Bleeker C, Klein J, Kullberg B, Pickkers P. Serial and panel analyses of biomarkers do not improve the prediction of bacteremia compared to one procalcitonin measurement. *Journal of Infection*. 2012;65: 292-301.
- Tsangaris I, Plachouras D, Kavatha D, Gourgoulis GM, Tsantes A, Kopterides P, et al. Diagnostic and prognostic value of procalcitonin among febrile critically ill patients with prolonged ICU stay. *BMC Infect Dis*. 2009;9: 213–21.
- Varma JK, McCarthy KD, Tasaneeyapan T, Monkongdee P, Kimerling ME, Buntheoun E, et al. Bloodstream Infections among HIV-Infected Outpatients, Southeast Asia. *Emerg Infect Dis*. 2010;16(10):1569-75.
- Vila J, Marco F. Lectura interpretada del antibiograma de bacilos gramnegativos no fermentadores. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2010;28(10):726–36.
- Washington JA, Cumitech IA. Blood cultures II. In: Reller LB, Murray PR, MacLowry JO, editors. *American Society for Microbiology*; 1982.
- Wayne P. Principles and procedures for Blood Cultures; Approved Guideline, CLSI document M47-A. *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)*; 2007.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Weinstein MP, Towns ML, Quartey SM, Mirrett S, Reimer LG, Parmigiani G, et al. The clinical significance of positive blood cultures in the 1990s: a prospective comprehensive evaluation of the microbiology, epidemiology, and outcome of bacteremia and fungemia in adults. *Clin Infect Dis.* 1997;24(4):584-602.
- Weinstein MP. Blood culture contamination: persisting problems and partial progress. *J Clin Microbiol.* 2003;41(6):2275-7.
- Weinstein MP. Current blood culture methods and systems: clinical concepts, technology, and interpretation of results. *Clin Infect Dis.* 1996;23(1):40-6.
- Whicher J, Bienvenu J, Monneret G. Procalcitonin as an acute phase marker. *Ann Clin Biochem.* 200;38:483-93.
- Yehia B, Fleishman J, Wilson L, Hicks P, Gborkorquellie T, Gebo K. Incidence of and risk factors for bacteraemia in HIV-infected adults in the era of highly active antiretroviral therapy. *HIV Medicine.* 2011;12:535–43.
- Zavascki AP. Polymyxin B for the treatment of multidrug-resistant pathogens: a critical review. *J Antimicrob Chemother.* 2007;60:1206–15.
- Zayas A. Caracterización microbiológica de *Klebsiella pneumoniae* aisladas en hospitales cubanos. [tesis de Maestría en Bacteriología-Micología]. La Habana:IPK; 2012.
- Zwang O, Albert RK. Analysis of strategies to improve cost effectiveness of blood cultures. *J Hosp Med.* 2006;1(5):272-276.

ANEXO 1

PROCEDIMIENTOS DEL LABORATORIO DIAGNÓSTICO DE MICROBIOLOGÍA

Identificación utilizando el sistema Vitek 2 compact: A partir de un cultivo puro de 18-24 horas de incubación se siguieron los siguientes pasos.

- 1- Introducir los datos de los pacientes en el sistema computarizado.
- 2- Seleccionar dos tubos de poliestireno por microorganismo uno para identificación y otro para susceptibilidad. Añadir a cada uno 3 mL de solución salina 0.45%
- 3- Preparar en el primer frasco una suspensión del microorganismo verificando un patrón de turbidez entre 0.5-0.63 de la escala de McFarlan, utilizando para ello el Densicheck, de obtenerse una densidad menor al límite de turbidez se adicionan colonias, de sobrepasar el valor máximo se desecha el tubo.
- 4- A partir del primer tubo se inoculan 145 μ L(en caso de microorganismos gramnegativos) o 280 μ L (en caso de microorganismo grampositivos o levaduras), destinados a la susceptibilidad.
- 5- Colocar las tarjetas de identificación y susceptibilidad en los tubos correspondientes.
- 6- Introducir los datos de cada casete en el sistema computarizado.
- 7- Introducir los casetes en el equipo.

Determinación de la Proteína C Reactiva: A partir de las muestras de suero conservadas a menos 20°C se siguieron los siguientes pasos:

Prueba cualitativa:

- 1- Atemperar los reactivos y las muestras a temperatura ambiente.

- 2- Depositar 50 μ L de la muestra a ensayar y una gota (50 μ L) de cada uno de los controles positivo y negativo, sobre círculos distintos de un porta.
- 3- Homogenizar suavemente el reactivo de PCR-látex. Depositar una gota (50 μ L) junto a cada una de las gotas anteriores.
- 4- Mezclar las gotas con palillo, procurando extender la mezcla por toda la superficie interior del círculo. Emplear palillos distintos para cada muestra.
- 5- Rotar por 2 minutos.
- 6- Examinar macroscópicamente la presencia o ausencia de aglutinación

Interpretación:

- ✓ Positivo: La presencia de aglutinación indica una concentración de PCR igual o superior a 6 mg/L
- ✓ Negativo: La ausencia de aglutinación indica un nivel de PCR más bajo de 6 mg/L en la muestra dentro de la gama normal.

Prueba semicuantitativa:

- 1- Realizar diluciones dobles de la muestra en solución salina (NaCl 0,9%): 1/2, 1/4, 1/8 etc.
- 2- Proceder para cada dilución como en la prueba cualitativa.

Interpretación:

- ✓ El título se define como la dilución mayor que da resultado positivo
- ✓ La concentración aproximada de PCR en la muestra del paciente se obtuvo aplicando la siguiente fórmula: 6x título de PCR.

Para la determinación de la Procalcitonina, se siguieron los siguientes pasos:

1. Extraer los reactivos necesarios del refrigerador.
2. Usar un cartucho "PCT" y un cono "PCT" para cada muestra, control o calibrador que se vaya a analizar.
3. La prueba se identifica con el código "PCT" en el sistema. Se deben identificar los calibradores como "S1" y "S2", y analizarlos por duplicado. Si fuese necesario analizar los controles, deben identificarse como C1 y C2, y valorarse en simple.
4. Agitar los calibradores y/o controles con un agitador tipo vórtex.
5. Colocar en el instrumento los conos "PTC" y los cartuchos "PTC". Comprobar que el color de la etiqueta y del código de la prueba de los conos y los cartuchos de los reactivos coincidan.
7. Iniciar inmediatamente la determinación. El equipo lleva a cabo todas las etapas de la prueba de forma automática.
8. Cerrar los viales y retórnarlos a la temperatura adecuada tras pipetear.
9. La duración de la prueba es de aproximadamente 20 minutos. Una vez completada la prueba, retirar los conos y los cartuchos del equipo.
10. Eliminar los conos y cartuchos usados usando un recipiente apropiado.

INTERPRETACIÓN

Una vez finalizada la determinación, los resultados se analizaron automáticamente por el sistema informático mediante el uso de dos curvas de calibración memorizadas en el equipo; las concentraciones se expresaron en ng/mL

ANEXO 2

GUÍA PARA LA REVISIÓN DE HISTORIAS CLÍNICAS.

No. _____

Nombre y apellidos: _____ HC. _____

Hemocultivo I

Resultado: Positivo___ Negativo___

Microorganismo aislado: _____

Sensible a _____

Resistente a _____

Hemocultivo II

Resultado: Positivo___ Negativo___

Microorganismo aislado: _____

Sensible a _____

Resistente a _____

Hemocultivo III

Resultado: Positivo___ Negativo___

Microorganismo aislado: _____

Sensible a _____

Resistente a _____

Resultado: Positivo___ Negativo___

Valor de procalcitonina: _____ Valor de Proteína C reactiva_____