

# Procedimiento de Microbiología Clínica

Recomendaciones de la Sociedad Española de  
Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica



15a.

## Diagnóstico microbiológico de las infecciones asociadas a catéteres intravasculares

### Editores

Emilia Cercenado Mansilla  
Rafael Cantón Moreno

### Coordinador

María Guembe Ramírez

### Autores

Carmen Aldea Mansilla  
Irene Gracia Ahufinger  
María Guembe Ramírez  
José Martínez Alarcón



ISBN: 978-84-09-03388-1

**EDITORES:**

Emilia Cercenado Mansilla. Servicio de Microbiología. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.  
Rafael Cantón Moreno, Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Ramón y Cajal e Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria (IRYCIS). Madrid.

**SUGERENCIA DE CITACIÓN:**

Aldea Mansilla C, Martínez-Alarcón J, Gracia Ahufinger I, Guembe Ramírez M. Diagnóstico microbiológico de las infecciones asociadas a catéteres intravasculares. 2018. 15a. Guembe Ramírez M (coordinador). Procedimientos en Microbiología Clínica. Cercenado Mansilla E, Cantón Moreno R (editores). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 2018.

**AVISO:**

Reservados todos los derechos. Los documentos SEIMC o cualquiera de sus partes no podrán ser reproducidos, almacenados, transmitidos, distribuidos, comunicados públicamente o transformados mediante ningún medio o sistema sin la previa autorización de sus responsables, salvo excepción prevista por la ley. Cualquier publicación secundaria debe referenciarse incluyendo “Este documento ha sido elaborado por la SEIMC (Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica) y su contenido puede encontrarse en la página web [www.seimc.org](http://www.seimc.org)”

# Procedimientos en Microbiología Clínica

Recomendaciones de la Sociedad Española de  
Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

## Editores:

Emilia Cercenado Mansilla  
Rafael Cantón Moreno

# 15a. Diagnóstico microbiológico de las infecciones asociadas a catéteres intravasculares. 2018

## Coordinador:

María Guembe Ramírez<sup>1</sup>

## Autores:

Carmen Aldea Mansilla<sup>2</sup>  
Irene Gracia Ahufinger<sup>3</sup>  
María Guembe Ramírez<sup>1</sup>  
José Martínez Alarcón<sup>4</sup>



<sup>1</sup>Servicio de Microbiología y Enfermedades Infecciosas, Hospital General Universitario Gregorio Marañón (Madrid); <sup>2</sup>Servicio de Microbiología, Hospital de Soria (Castilla y León); <sup>3</sup>Servicio de Microbiología, Hospital Reina Sofía (Córdoba); <sup>4</sup>Sección de Microbiología, Hospital General Nuestra Señora del Prado, Talavera de la Reina (Toledo).

## ÍNDICE DEL DOCUMENTO CIENTÍFICO

1.	Introducción.....	5
2.	Epidemiología.....	6
3.	Etiopatogenia.....	6
4.	Definiciones.....	7
5.	Diagnóstico microbiológico de las infecciones relacionadas con catéteres (IRC) .....	8
5.1.	Procedimientos microbiológicos de diagnóstico realizados sobre catéteres retirados.....	8
5.1.1.	Métodos diagnósticos.....	9
5.1.1.1.	Cultivo para detección de colonización extraluminal.....	9
5.1.1.2.	Cultivo para detección de colonización intraluminal.....	10
5.1.1.3.	Cultivo para detección de colonización extra e intraluminal.....	10
5.1.1.4.	Técnicas de diagnóstico rápido de la IRC con retirada del catéter.....	11
5.1.2.	Identificación de los microorganismos aislados.....	11
5.1.3.	Recomendaciones específicas para el diagnóstico microbiológico de las IRC.....	12
5.2.	Procedimientos de diagnóstico microbiológico manteniendo el catéter.....	13
5.2.1.	Métodos diagnósticos.....	13
5.2.1.1.	Cultivos superficiales semicuantitativos.....	13
5.2.1.2.	Cultivo y tinciones de sangre aspirada por el catéter.....	14
5.2.1.3.	Técnicas basadas en la velocidad de crecimiento de hemocultivos.....	15
5.2.1.4.	Técnicas moleculares de sangre extraída por el catéter.....	16
5.2.2.	Recomendaciones para el uso de procedimientos diagnósticos conservadores.....	17
6.	Conclusiones.....	17
7.	Bibliografía.....	18

## DOCUMENTOS TÉCNICOS

PNT-CIV-01. Cultivo semicuantitativo de catéter (técnica de Maki con y sin apertura del catéter)

PNT-CIV-02. Cultivo cuantitativo de catéter (técnica de Brun-Buisson)

PNT-CIV-03. Cultivo cuantitativo de catéter (técnica de sonicación tras fragmentación)

PNT-CIV-04. Cultivo de dispositivos totalmente implantables

PNT-CIV-05. Cultivos superficiales (piel, conexiones/conectores)

PNT-CIV-06. Hemocultivos cuantitativos mediante el método de lisis-centrifugación

## 1. INTRODUCCIÓN

La utilización de catéteres intravasculares (CIV) con fines diagnósticos o terapéuticos es muy frecuente, especialmente en pacientes en situación crítica o con patologías agudas o crónicas graves. Según el Estudio de Prevalencia de las Infecciones Nosocomiales en España (EPINE), hasta el 70% de los pacientes ingresados en los hospitales españoles son portadores de un catéter en algún momento del ingreso. Las infecciones locales o sistémicas representan una de las principales

complicaciones asociadas a estos dispositivos, siendo la principal causa de bacteriemia nosocomial, y están relacionadas con una alta morbilidad y mortalidad. Existen numerosos tipos de catéteres o dispositivos intravasculares con características y finalidades diferentes (**Tabla 1**). Los catéteres venosos centrales (CVC) son la causa del 90% de las bacteriemias relacionadas con el catéter (BRC), aunque cada vez más los catéteres periféricos están teniendo mayores tasas de infección.

**Tabla 1.** Tipos de catéteres intravasculares más utilizados en clínica

	Tipo	Comentarios
Corta duración	Catéter venoso periférico	Se inserta fundamentalmente en venas del brazo. Es el catéter más utilizado. Las complicaciones infecciosas han ido aumentando durante los últimos años.
	Catéter arterial periférico	Se usa para evaluar el estado hemodinámico durante periodos cortos. Riesgo de infección similar al CVC.
	CVC no tunelizado	Es el CVC más utilizado. Produce el 90% de las complicaciones infecciosas asociadas a catéteres.
	Catéter arterial pulmonar	Se mantiene por periodos no superiores a 3 días. Suele estar recubierto de heparina, lo que disminuye los fenómenos trombóticos y la colonización bacteriana.
	CVC insertado por vía periférica	Es la alternativa al CVC normal. Se inserta a través de vía periférica en la vena cava. Presenta menos complicaciones que los CVC normales.
Larga duración	CVC tunelizado	CVC implantado quirúrgicamente (Hickman, Broviac, etc). Tiene un trayecto subcutáneo con un manguito de dacrón en el punto de salida cutánea que impide la entrada de microorganismos del exterior. Se usa para quimioterapia prolongada, terapia ambulatoria o hemodiálisis.
	Reservorios totalmente implantables	Reservorio subcutáneo con una membrana que permite el acceso con aguja desde el exterior. Bajo riesgo de infección.

**CVC\*:** catéter venoso central.

## 2. EPIDEMIOLOGÍA

Según datos del EPINE de 2016, el uso de CIV es un claro factor de riesgo para desarrollar una infección nosocomial. El 15-30% de las infecciones nosocomiales son bacteriemias, siendo la prevalencia de BRC en el medio hospitalario de 1,18 episodios por 1.000 ingresos.

Se sabe que, aproximadamente, el 70% de los pacientes ingresados en el hospital son portadores de un CIV, correspondiendo más del 80% a catéteres venosos periféricos (de corto periodo de utilización, pero cada vez con más uso y asociados a un aumento progresivo de la infección, especialmente por *Staphylococcus aureus*) y el 20% restante a CVC (que debido a su largo periodo de utilización tienen mayor riesgo de infecciones locales o sistémicas, que varían según el tipo de catéter y su composición). Se ha descrito una incidencia de 0,5 episodios por cada 1.000 pacientes/día de utilización de un catéter venoso periférico y de 2,7 episodios por cada 1.000 pacientes/día de utilización de un CVC.

Según datos del Estudio Nacional de Vigilancia de la Infección Nosocomial en Servicios de Medicina Intensiva (ENVIN) de 2017, el 63,4% de los pacientes son portadores de un CVC y el 11,3% de los pacientes sufren una BRC, siendo la incidencia de BRC de 1,1 episodios/1.000 días de uso del catéter. Cada vez hay más estudios de prevalencia de BRC en unidades de pacientes no críticos, si bien en las unidades donde no se registran los días de uso de catéter, las cifras han de extrapolarse de datos de nº de episodios BRC/1.000 ingresos. En España, se ha observado un incremento de las BRC por catéteres venosos periféricos entre el año 2007 y 2017 en las unidades de Medicina Interna, variando la incidencia de 0,11-0,18 episodios/1.000 ingresos a 1,64 episodios /1.000 ingresos.

A pesar de que en la última década la incidencia de BRC ha descendido gracias a las medidas preventivas y campañas aplicadas por los profesionales sanitarios, continúa siendo una infección asociada a una alta mortalidad (12-25%), con elevados costes (una media de 15.151 euros por episodio) y que alarga la estancia hospitalaria; por lo que deben mantenerse de forma continuada las medidas preventivas educacionales e intervencionistas para conseguir el objetivo de “tolerancia cero”.

## 3. ETIOPATOGENIA

Los microorganismos que producen con más frecuencia las infecciones asociadas a CVC son aquellos que forman parte de la microbiota de la piel, como las especies de estafilococos, que corresponden aproximadamente al 60% de las infecciones. Otros microorganismos Gram-positivos también causantes de infección relacionada con catéter (IRC), aunque en menor frecuencia, son los enterococos. A los Gram-positivos les siguen en frecuencia los bacilos Gram-negativos y diferentes especies del género *Candida*. En la **tabla 2** se presentan como ejemplo la etiología de las BRC del Hospital General Universitario Gregorio Marañón de Madrid en el periodo 2003-2010. En ella, los estafilococos coagulasa negativa (ECN) correspondieron al 43,3% de las BRC, seguidos de *Staphylococcus aureus*, correspondiente con el 17,3% de los casos. Los bacilos Gram-negativos constituyeron el 17%, seguidos muy de cerca por las levaduras (16%), de las cuales en los últimos años se ha observado un incremento. Otros microorganismos involucrados en las infecciones asociadas a CVC son *Corynebacterium* spp., *Bacillus* spp., e incluso especies anaerobias como *Propionibacterium acnes*.

La vía que utilizan los microorganismos para alcanzar la superficie del catéter varía en función del tiempo de permanencia del mismo. La mayoría de los catéteres (70-90%) se colonizan por microorganismos de la piel, ya que éstos migran hasta alcanzar la superficie intravascular del catéter a través de la fibrina extraluminal que se constituye tras la inserción del catéter. Esto ocurre generalmente en catéteres de corta duración (<7 días), sin embargo, en los catéteres de larga duración (>7 días), es la vía endoluminal a través de la cual acceden las bacterias desde las conexiones del catéter hasta el interior del mismo (10-50%), ya que hay mayor manipulación. No obstante, la vía extraluminal puede ser causante de infección en catéteres de larga duración hasta en un 25% de los casos. Por último, con mucha menor frecuencia puede ocurrir que el catéter se colonice a través de siembra hematógena (3-10%) o por el uso de fluidos contaminados (<3%). La vía hematógena adquiere mucha mayor relevancia en el caso de pacientes ingresados en UCI, a pesar de seguir siendo poco frecuente.

**Tabla 2.** Principales microorganismos productores de bacteriemias relacionadas con catéter. Datos de del Hospital General Universitario Gregorio Marañón de Madrid (2003-2010).

Microorganismos	Nº (incidencia por 1.000 ingresos)
Gram (+)	831 (1,73)
ECN*	534 (1,11)
<i>Staphylococcus aureus</i>	213 (0,44)
<i>Staphylococcus aureus-SM</i>	102 (0,21)
<i>Staphylococcus aureus-RM</i>	111 (0,23)
<i>Enterococcus</i> spp.	79 (0,16)
Otros	16 (0,03)
Gram (-)	209 (0,44)
<i>E. coli</i>	29 (0,06)
<i>Klebsiella</i> spp.	40 (0,08)
<i>Enterobacter</i> spp.	39 (0,08)
<i>Serratia</i> spp.	25 (0,05)
<i>Proteus</i> spp.	13 (0,03)
<i>Pseudomonas</i> spp.	35 (0,07)
Levaduras	194 (0,40)
<i>Candida</i> spp.	190 (0,40)
<i>C. albicans</i>	83 (0,17)
<i>C. parapsilosis</i>	80 (0,17)
<i>C. glabrata</i>	13 (0,03)
<i>C. tropicalis</i>	9 (0,02)

**ECN:** Estafilococo coagulasa negativa;  
**SM:** sensible a meticilina;  
**RM:** resistente a meticilina

## 4. DEFINICIONES

**Colonización del catéter:** crecimiento significativo de al menos un microorganismo en un cultivo cuantitativo o semicuantitativo de una punta de catéter, de un segmento subcutáneo o de una conexión.

**Flebitis:** Induración o eritema con calor y dolor en el trayecto de una vena cateterizada actual o recientemente.

**Infección del punto de entrada, definición microbiológica:** crecimiento significativo de al menos un microorganismo en los cultivos del exudado el punto de entrada, con o sin bacteriemia concomitante.

**Infección del punto de entrada, definición clínica:** Induración o eritema con calor y dolor en el punto de entrada o en una zona separada hasta dos centímetros, con o sin bacteriemia concomitante, pero asociada a otros síntomas de infección, como fiebre o exudado purulento.

**Infección del trayecto tunelizado:** Induración o eritema con calor y dolor en una zona más allá de dos centímetros desde el punto de entrada, con o sin bacteriemia concomitante.

**Infección del bolsillo:** Infección del fluido del bolsillo subcutáneo que aloja el reservorio, frecuentemente asociado con dolor, induración o eritema de zona, rotura espontánea con drenado, o necrosis cutánea local, con o sin bacteriemia concomitante.

**Bacteriemia o fungemia asociada al líquido de infusión:** aislamiento del mismo microorganismo en el líquido de infusión y en el hemocultivo extraído percutáneamente, sin otro foco identificable de infección.

**BRC o fungemia relacionada con catéter:** presencia de al menos un hemocultivo positivo obtenido por vía periférica, en un paciente con un CIV con signos clínicos de infección (fiebre, escalofríos o hipotensión) sin otro foco identificable de infección distinto del catéter y que cumpla además al menos uno de los siguientes criterios:

- Aislamiento significativo del mismo microorganismo en el cultivo cuantitativo o semicuantitativo de la punta del catéter.
- Hemocultivos cuantitativos positivos obtenidos simultáneamente por el catéter y por una vena

periférica y con una relación de unidades formadoras de colonia (ufc) por mililitro de al menos 3:1 a favor del primero.

- Diferencia del tiempo de positividad de hemocultivos de al menos 2 horas en sistemas automáticos obtenidos simultáneamente por el catéter y por vena periférica, con un volumen de sangre equivalente y siendo el hemocultivo obtenido por el catéter el más rápido en positivizar.

## 5. DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE LAS INFECCIONES RELACIONADAS CON CATÉTERES

El diagnóstico de las IRC se basa inicialmente en la sospecha clínica ante signos locales o generales de infección, pero los síntomas clínicos son muchas veces inespecíficos, por lo que se necesita la utilización de técnicas microbiológicas para tener un diagnóstico de certeza de IRC. En la mayoría de los casos, el diagnóstico de IRC conlleva la decisión terapéutica de retirar el catéter, sin embargo, muchos estudios han demostrado que en más del 70% de los catéteres retirados por sospecha de infección, el cultivo fue negativo por lo que su retirada no estaba justificada. Además en pacientes críticos o pediátricos, con accesos vasculares difíciles, la retirada del catéter puede ser una decisión comprometida y por ello es importante la búsqueda de métodos conservadores de diagnóstico de IRC, que no obliguen su retirada "a priori".

### 5.1. PROCEDIMIENTOS MICROBIOLÓGICOS DE DIAGNÓSTICO REALIZADOS SOBRE CATÉTERES RETIRADOS

Ante una sospecha de IRC, y siempre que pueda ser retirado, el cultivo de la punta de catéter, en combinación con otros métodos microbiológicos, aporta el diagnóstico de certeza. Sin embargo, el cultivo del catéter no debe ser realizado rutinariamente, sólo en caso de sospecha de IRC. El catéter puede ser retirado cuando se de alguna de las siguientes circunstancias:

- Catéteres de los que ya se puede prescindir.
- Catéteres fáciles de sustituir.
- Catéteres en pacientes con bacteriemia

que persiste pese a tratamiento antimicrobiano correcto.

- Catéteres con infección en el túnel subcutáneo.
- Catéteres causantes de émbolos pulmonares o en la circulación mayor.
- Catéteres causantes de endocarditis.
- Catéteres infectados por microorganismos difíciles de erradicar sin retirada de los mismos.

La muestra a procesar será el segmento final del catéter, concretamente los últimos 5 centímetros. Segmentos más cortos pueden implicar que se pierda el final de alguna luz en los catéteres multilumen. Si el segmento enviado fuera más largo, debe ser recortado antes de su procesamiento. En el caso de catéteres arteriales pulmonares, la muestra más representativa es el introductor. En el caso especial de reservorios totalmente implantables, se debe cultivar el reservorio, adicionalmente a la punta.

La punta de catéter, introducida en un envase seco estéril y debidamente identificada, debe ser enviada inmediatamente al laboratorio, donde o bien se procesará a su llegada, o bien se mantendrá refrigerada. Teniendo presente que los microorganismos implicados en infecciones relacionadas con catéteres son mayoritariamente flora normal o transitoria de la piel, no especialmente lábiles a las bajas temperaturas ni a la falta de humedad, la refrigeración durante varios días es una opción aceptable. Se ha demostrado la obtención de resultados válidos en puntas de catéter refrigeradas hasta 6 días.

Los catéteres recubiertos de antisépticos o antibióticos pueden afectar el resultado del cultivo, subestimando notablemente la carga bacteriana y se ha de tener en cuenta este hecho a la hora de interpretar los resultados. En los casos de recubrimientos con sulfadiazina argéntica o clorhexidina se puede minimizar este efecto añadiendo neutralizantes al medio de cultivo, que sin embargo no son útiles en recubrimientos con antibióticos. En la tabla 3 se muestra un ejemplo de caldo neutralizante descrito por Schmitt y cols. en 1996 para emplear en técnicas descritas más adelante como sonicación o Brun-Buisson con este tipo de catéteres.



**Tabla 3.** Medio neutralizante para cultivo de catéteres recubiertos con clorhexidina o sulfadiazina argéntica

Componente	Concentración final
Caldo tripticasa soja (TSB)	30 g/L
Triptona	1 g/L
Oleato sódico	6 g/L
Tiosulfato sódico	5 g/L
Polisorbato (Tween) 80	5% (v/v)
Lecitina	1 g/L

### 5.1.1. Métodos diagnósticos

Los procedimientos microbiológicos para las puntas de catéter pueden clasificarse en tres tipos: cualitativos, cuantitativos y semicuantitativos.

Los cultivos cualitativos se basan en introducir la punta de catéter en un tubo con caldo de cultivo, incubar y comprobar su positividad mediante turbidez. En los tubos positivos se realiza un subcultivo en medios sólidos para proceder a la identificación y antibiograma. Su sencillez los hace muy atractivos en laboratorios con pocos recursos, pero por su falta de valor predictivo positivo se desaconseja su uso, ya que impide conocer el grado de colonización.

Los métodos cuantitativos y semicuantitativos, detallados más adelante, permiten conocer el grado de carga microbiana de la muestra. En función de un umbral establecido, se puede establecer si el resultado es significativo o no y por lo tanto determinar si la colonización del catéter es presumiblemente la causa de la infección.

Otro modo de clasificarlos es en función de si detectan colonización en el exterior del catéter, en el interior de la luz o en ambos (sin diferenciar). Un catéter recientemente insertado (<7 días) es más probable que se colonice por flora de piel a lo largo de su superficie externa, por lo que un procedimiento para la detección de colonización ex-

traluminal, como la técnica de Maki, sería lo más adecuado. Sin embargo, la probabilidad de diseminación intraluminal desde las conexiones hasta el torrente sanguíneo va creciendo con el tiempo. Así, en casos de catéteres que lleven insertados más de 7 días se recomienda el empleo de un método que tenga en cuenta además la colonización intraluminal, como la técnica de sonicación.

A continuación se describen cada uno de los métodos en base a esta última clasificación.

#### 5.1.1.1. Cultivo para detección de colonización extraluminal

El cultivo semicuantitativo de la punta del catéter descrito por Maki y cols. en 1977 es un método sencillo y rápido para cultivar la superficie externa de la punta del catéter. La técnica consiste en rodar la punta del catéter tres o cuatro veces sobre la superficie de una placa de agar sangre. Cuando en el cultivo crecen  $\geq 15$  ufc por placa, se considera que el catéter está colonizado. El criterio de positividad ( $\geq 15$  ufc) fue elegido porque la mayoría de los pacientes con recuentos inferiores no presentaban datos sugestivos de infección, mientras que todos los casos que cursaban con bacteriemia tuvieron recuentos superiores a 15 ufc y con frecuencia las colonias fueron incontables. La especificidad de esta técnica fue del 76%. Este método, por su sencillez ha sido aceptado por la mayoría de los laboratorios de microbiología y es la técnica de referencia.

Diversos estudios con CVC han demostrado la existencia de casos de sepsis asociados a recuentos inferiores a 15 ufc o incluso negativos por esta técnica, particularmente si la sepsis es de origen endoluminal. La disminución del criterio de positividad de 15 a 5 ufc puede mejorar la sensibilidad de la prueba, pero disminuye su especificidad. Por otro lado, un cultivo de catéter positivo por la técnica de Maki tiene escaso valor predictivo positivo para el diagnóstico de BRC. Aunque la simplicidad técnica de esta prueba diagnóstica ha generalizado su uso, no hay que olvidar que existe alrededor de un 15% de bacteriemias de origen endoluminal, especialmente en catéteres de larga duración, que podrían no ser diagnosticadas si sólo se realiza el cultivo semicuantitativo. La combinación de la técnica de Maki con la de sonicación o técnicas de rajado del catéter, descritas más adelante, pueden solventar este hecho.

Otra limitación de este método es que emplea un único medio y condiciones de cultivo. Aunque ideales para la mayoría de microorganismos generalmente implicados en las IRC, en caso de sospecha de infecciones por microorganismos más exigentes este método no sería el adecuado. Martín-Rabadán y cols. afirmaron en 2008 que, prolongando la incubación de las placas en condiciones anaeróbicas después de su incubación estándar, se podían recuperar hasta un 3,9% de casos de colonización por *P. acnes*. En caso de sospecha de infección por otros microorganismos exigentes se deben plantear otros métodos que permitan unos medios y una incubación adecuada.

Sin embargo, a pesar de estas críticas y limitaciones teóricas, tanto Bouza y cols. en 2005 como Slobbe y cols. en 2009 y Guembe y cols. en 2012 demostraron que incluso en catéteres de larga duración la técnica de Maki no fue inferior a las técnicas cuantitativas de sonicación de y Brun-Buisson, que tienen en cuenta también la colonización intraluminal.

#### 5.1.1.2. Cultivo para detección de colonización intraluminal

En 1985 Liñares y cols. describen una modificación de la técnica de Cleri de 1980 para cuantificar microorganismos que colonizan la luz del catéter. Consiste en lavar tres veces la luz del catéter con 2 mililitros de caldo TSB con la ayuda de una aguja y una jeringuilla. Posteriormente, se realiza el recuento del número de bacterias del caldo por siembra de 0,1 mL de las diluciones 1:10 y 1:100, sobre placas de agar sangre. El umbral de positividad se establece en 1.000 ufc/mL.

Al ser una técnica que requiere mucha manipulación y por lo tanto es susceptible de contaminaciones, no es frecuentemente empleada, aunque es útil cuando es necesario determinar el origen concreto de la IRC.

#### 5.1.1.3. Cultivo para detección de colonización extra e intraluminal

En 1990, Brun-Buisson y cols. simplifican la técnica de Cleri introduciendo el segmento del catéter en un tubo con 1 mL de agua destilada estéril y tras un minuto de agitación en un vórtex siembran 0,1 mL de la suspensión en una placa de agar sangre. En este caso la vía de colonización es indistinguible,

ya que se recuperan microorganismos tanto del interior como del exterior de la superficie del catéter. Los autores utilizan el mismo punto de corte de Cleri ( $>10^3$  ufc/mL) y obtienen una sensibilidad del 97,5% y una especificidad del 88% en los catéteres de pacientes con signos clínicos de infección, parámetros que alcanzan el 100% cuando se considera el subgrupo de catéteres que producen bacteriemia.

Otra de las técnicas más comúnmente utilizadas que detectan simultáneamente colonización intra y extraluminal es la sonicación, descrita en 1990 por Sherertz y cols. Esta técnica cuantitativa se basa en el uso de un baño de ultrasonidos que facilita la recuperación de los microorganismos en un caldo de cultivo, los cuales estaban adheridos a la superficie del catéter (tanto interna como externa). Inicialmente la metodología consistía en sonicar durante un minuto la punta del catéter sumergida en 10 mL de caldo de enriquecimiento (TSB o BHI). Posteriormente se sembraba 0,1 mL del caldo original así como 0,1 mL de sus diluciones 1:10 y 1:100 en placas de agar sangre para cuantificar la colonización tras incubación. Con un número de 100 ufc/mL como umbral, permitía diagnosticar la IRC y distinguir infección de colonización con una sensibilidad del 93% y una especificidad del 94%, y VPP y valor predictivo negativo (VPN) del 72% y 99%, respectivamente. Este método fue utilizado en estudios posteriores por estos mismos autores y encontraron que la sonicación fue más sensible que el método semicuantitativo en la detección de la colonización del catéter. Sin embargo, el hallazgo más importante cuando compararon tres métodos (semicuantitativo, lavado de la luz del catéter y sonicación) es que ninguno de ellos estudiados individualmente tuvo una sensibilidad superior al 58% en la detección de una colonización significativa del catéter. La sonicación detectó el 80% de la colonización intraluminal, mientras que el método semicuantitativo sólo lo hizo en el 57%. Por el contrario, este último método fue más sensible que los otros para detectar la colonización extraluminal.

Recientemente, Guembe y cols. han sugerido una optimización y simplificación del procedimiento mediante la aplicación de la sonicación sobre la punta de catéter previamente fragmentada (fragmentos de 2-5 mm) e introduciendo los fragmentos en caldo de enriquecimiento. Tras la sonicación, se siembran 0,1 mL del caldo en placa de agar sangre y, una vez incubada, se realiza el recuento de ufc, considerándose como recuento significativo aquel

con  $\geq 100$  ufc/mL. Con este método se obtuvieron mayores valores de validez que con la técnica de Maki (a pesar de haberse procesado secuencialmente) en CVC de adultos, siendo la sensibilidad y el VPN para colonización de 83,3% y 97,6%, respectivamente, y para BRC del 100% en ambos.

Un reciente hallazgo diagnóstico de relevancia para la población pediátrica ha sido la demostración por Martín-Rabadán y cols. que, en los catéteres centrales de inserción periférica (PICCs) comúnmente utilizados en neonatos y compuestos de silicona, la técnica de Maki no es rentable, puesto que este tipo de catéteres tienen una alta carga microbiana en el interior. Por ello, tras varios estudios, proponen una alternativa de optimización diagnóstica basada en un corte longitudinal previa realización de la técnica de Maki. En estos estudios detectaron colonización en aproximadamente el doble de catéteres que la detectada sólo con la técnica convencional de Maki.

Por último, en el caso especial de reservorios totalmente implantables, se ha demostrado que el cultivo de la punta no es suficiente. Varios autores han demostrado que únicamente cultivando la punta se pueden llegar a perder hasta la mitad de los diagnósticos. Se debe cultivar adicionalmente el reservorio mediante sonicación para detectar colonización del bolsillo, y mediante apertura de la membrana para detectar colonización en el interior.

#### 5.1.1.4. Técnicas de diagnóstico rápido de la IRC con retirada del catéter

Todas las técnicas de diagnóstico de la IRC tras su retirada descritas hasta el momento necesitan como mínimo de 18 a 24 horas para conocer el resultado del cultivo microbiológico. Sin embargo, existen técnicas rápidas basadas en la tinción de la punta del catéter o en métodos moleculares que pueden ayudar en el diagnóstico:

**1. Tinción de Gram de la punta del catéter:** su principal dificultad radica en la necesidad de que los catéteres sean translúcidos, e incluso en ocasiones es necesario disponer de microscopios especiales debido a la dificultad de enfoque con el objetivo de inmersión, por lo que es una técnica prácticamente en desuso y no existe consenso en cuanto al criterio de positividad. El mejor criterio es el descrito por Cooper et al., que proponen la observación de al menos un microorganismo por 20 campos observados con objetivo

de inmersión siendo el VPN del 100%. Por ello, su principal utilidad podría ser como método de descarte de BRC.

**2. Tinción de Gram de improntas de la superficie externa de la punta del catéter:** En este caso se hace rotar el catéter sobre un portaobjetos ligeramente cubierto con suero fisiológico para, posteriormente al secado, proceder a la tinción de gram. A pesar de que tampoco existe criterio universal de positividad, con el descrito por Cooper et al., Collignon et al. obtuvieron también valores de especificidad y VPN elevados (95% y 94%, respectivamente) en comparación con el cultivo semicuantitativo.

**3. Tinción con naranja de acridina:** A pesar de que reduce el tiempo de observación respecto a la tinción de gram, su principal desventaja es que se necesita un microscopio de fluorescencia y actualmente está en desuso por su toxicidad.

**4. Técnicas moleculares:** Se han descrito algunos estudios en tipologías específicas de catéter donde la aplicación de técnicas como la PCR 16s o el MALDI-TOF podrían suponer de cierta utilidad en el diagnóstico precoz de BRC sobre dispositivos retirados. Sin embargo, se necesita seguir profundizando en el uso de estas nuevas herramientas diagnósticas.

A pesar de su rapidez diagnóstica, estas técnicas no sustituyen al cultivo, ya que no permiten la identificación del microorganismo y su relación con los microorganismos aislados en los hemocultivos, y tampoco permiten la realización de estudios de susceptibilidad. Asimismo, su aplicación rutinaria en todos los catéteres supone una gran carga de trabajo para el laboratorio de microbiología y sólo deberían realizarse en casos con alta sospecha de BRC.

#### 5.1.2. IDENTIFICACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS AISLADOS

El diagnóstico de certeza de las IRC exige que el mismo microorganismo esté presente en las diferentes muestras obtenidas (catéter, hemocultivo, cultivos de piel y de las conexiones del catéter y/o en el líquido de perfusión).

El método más sencillo y asequible para todos los laboratorios es cotejar la identificación bioquímica

(biotipo) y el patrón de sensibilidad antibiótica (antibiotipo) de los aislados obtenidos de las diferentes muestras. Las diferentes técnicas automatizadas y manuales de identificación y antibiograma (especialmente las técnicas rápidas) disponibles actualmente en el mercado son útiles para la mayoría de los microorganismos causantes de IRC (*S. aureus*, enterobacterias, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*,...) y los mecanismos de resistencia más importantes. Sin embargo, pueden no ser suficientemente discriminativas cuando el agente causante de la infección es parte de la microbiota cutánea habitual, como los ECN, lo que ocurre en el 50% de los casos, y los estreptococos. Hay que procurar llegar a una identificación fiable, incluso utilizando diferentes técnicas diagnósticas, y procurar estudiar varios morfotipos de colonias. El estudio de diferentes morfotipos de ECN puede ayudar a encontrar la similitud entre los aislamientos de las diferentes muestras, llegando al diagnóstico de certeza, siempre y cuando no sea demasiado gravoso en el trabajo de rutina del laboratorio.

La irrupción en el mercado de la espectrometría de masas (MALDI-TOF, *matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight*) ha supuesto una revolución en la identificación de microorganismos por la inmediatez de los resultados (pocos minutos) y por la exactitud de la identificación para la mayoría de los grupos bacterianos y los hongos. Dicha rapidez permite realizar el estudio de varias colonias de microorganismos sospechosos de ser causa de la infección relacionada con el catéter, objetivo para establecer una correlación precisa.

Por último, las técnicas moleculares serían las más fiables a la hora de establecer similitud entre las distintas cepas aisladas de las muestras relacionadas con la infección relacionada con el catéter. Existen varios estudios que han utilizado la electroforesis en campo pulsado (PFGE), marcadores moleculares microsatélites y la PCR del 16S ARNr y su posterior análisis, si bien sólo se han empleado en estudios de investigación, en grupos de pacientes concretos (pacientes con terapia antibiótica, hematológicos, neonatos prematuros, oncológicos...), con algunos microorganismos (ECN, *Candida* spp...) y algunos tipos de catéteres o muestras de la IRC. Hoy en día, las técnicas moleculares no pueden sustituir al cultivo, pero tienen un gran potencial, y su rápido desarrollo está suponiendo que se mejore el

diagnóstico de las IRC.

### 5.1.3. RECOMENDACIONES ESPECÍFICAS PARA EL DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE LAS IRC

Las siguientes recomendaciones deben siempre tenerse en cuenta para un correcto diagnóstico microbiológico de las IRC:

- No deben enviarse para cultivo las puntas de catéter retiradas sin sospecha de infección.
- Ante una sospecha de IRC, y siempre que pueda ser retirado, el cultivo de la punta de catéter, en combinación con otros métodos microbiológicos, aporta el diagnóstico de certeza.
- En caso de reservorios totalmente implantables, además de la punta, se debe enviar el reservorio entero para su cultivo.
- Si se sospecha IRC, se debe enviar la punta para cultivo por el método semicuantitativo y extraer al menos dos hemocultivos con técnica aséptica antes de iniciar tratamiento antibiótico.
- Si existen signos de infección local, se debe enviar un frotis del exudado para realizar tinción de Gram y cultivo.
- Las técnicas disponibles en el laboratorio se basan en la detección de colonización extraluminal (técnica de Maki), intraluminal (técnica de Cleri) o ambas simultáneamente (técnicas de Brun-Buisson, de sonicación y de Maki con previa apertura longitudinal en PICCs de silicona en neonatos).

Como conclusión, es importante resaltar que no existe un método ideal para el diagnóstico de la IRC. Los métodos cuantitativos tienen mayor sensibilidad, pero son más laboriosos que el método semicuantitativo de Maki, por lo que éste continúa siendo la técnica de referencia en la mayoría de los laboratorios de microbiología. Cuando no se puedan realizar cultivos cuantitativos, se recomienda el semicuantitativo de la punta del catéter conjuntamente con la realización de las tinciones de Gram y los cultivos de la piel peri-catéter y de la conexión/conectores. Son técnicas sencillas y rápidas al alcance de cualquier laboratorio de microbiología. El cultivo de la conexión/conectores nos ofrece información sobre la colonización endoluminal y el método semicuantitativo sobre la colonización de la superficie externa del catéter.

## 5.2. PROCEDIMIENTOS DE DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO MATENIENDO EL CATÉTER

La sospecha o confirmación diagnóstica de la IRC ha conllevado, en la mayor parte de los casos, a la retirada innecesaria del mismo. Sin embargo, diversos estudios han demostrado que más del 70% de los catéteres retirados por sospecha de infección son estériles y que por lo tanto se retiran innecesariamente. Además, la retirada del CVC puede ser una decisión comprometida en pacientes críticos, en niños pequeños, en pacientes con acceso difícil al espacio intravascular (p.ej. hemodiálisis), y en otras circunstancias (p.ej. quemados). Asimismo, la mayor frecuencia en el recambio de catéter conlleva mayor riesgo de complicaciones, tanto mecánicas como infecciosas.

Asimismo, en ocasiones se acepta la posibilidad de erradicar a corto o más largo plazo algunas infecciones asociadas a CVC permitiendo completar el periodo terapéutico programado y prolongar la vida eficiente del mismo. Por todo lo anterior, es importante la búsqueda de métodos diagnósticos de IRC que podríamos denominar como “conservadores” y que deben basarse en estrategias que no obliguen a disponer de la punta ni de fragmentos del catéter para su estudio. Estos métodos permiten anticipar la colonización de la punta del catéter e identificar los pacientes con riesgo de BRC, pudiendo descartar el catéter como foco de la bacteriemia y evitando así la retirada innecesaria del catéter.

### 5.2.1. Métodos diagnósticos

#### 5.2.1.1. Cultivos superficiales semicuantitativos

Este método se basa en la aplicación del conocimiento de las dos vías principales de acceso de los microorganismos a la punta del catéter, la piel circundante al punto de entrada (vía extraluminal) y la conexión como vía de acceso a una progresión endoluminal. La técnica consiste en la detección de microorganismos en cualquiera de los dos puntos en recuento “significativo”.

Snydman y cols. propusieron en 1982 la utilización de los cultivos cutáneos para conocer el grado de colonización de catéteres para nutrición parenteral. En su experiencia, la sensibilidad de este método

fue del 100% y la especificidad de un 84%. El VPN y VPP de los cultivos de la piel fueron respectivamente del 98% y 61%. Otros autores no lograron reproducir estos resultados, pero al igual que Snydman y su grupo no tuvieron en cuenta la posibilidad de la vía endoluminal de contaminación. Liñares y cols. estudiaron 135 catéteres venosos centrales y compararon los métodos cuantitativo y semicuantitativo modificado. Realizaron cultivos de los segmentos intravascular, subcutáneo y conexión, así como un frotis cutáneo de la zona que rodea el punto de inserción del catéter. En 20 pacientes con BRC, la sensibilidad del procedimiento semicuantitativo para la infección de la punta fue del 90%. La ausencia de datos para los catéteres sin sepsis impide valorar la especificidad en este estudio. Otros autores, trabajando también con catéteres de nutrición parenteral, demostraron que el VPP del cultivo de la piel asociado al cultivo de la conexión fue del 44% y el VPN del 93%.

En 1990, el estudio de Cercenado y cols. incluía todo tipo de catéteres, y se acuñó el término “cultivos superficiales”, consistente en frotar con una torunda la piel que rodea la puerta de entrada del catéter en un área de aproximadamente 1-2 cm de radio. En la conexión o conexiones se introduce una torunda de menor tamaño que se hace circular 2 ó 3 veces por el interior de la misma. Ambas torundas deben cultivarse rápidamente sobre placas de agar sangre para recuento semicuantitativo, extendiéndolas sobre el total de la superficie de las mismas. Se considera que una piel o una conexión son positivas en este recuento semicuantitativo cuando el número de bacterias de una especie determinada por placa es  $\geq 15$  ufc. La sensibilidad y especificidad de esta técnica fueron del 97% y 68%, respectivamente, destacando el alto VPN que asciende al 99% cuando tanto la piel como la conexión no alcanzan valores críticos. El VPP fue del 34%. Dichos resultados han sido también confirmados en poblaciones especiales como pacientes con catéteres tunelizados de hemodiálisis y oncohematológicos con reservorios.

Fortún y cols. intentaron mejorar el VPP y la especificidad de los cultivos superficiales en un estudio prospectivo sobre 124 catéteres venosos centrales no “tunelizados”. Añadieron a la técnica previa un cultivo del primer segmento subcutáneo del catéter tras tirar hacia el exterior unos 2 cm. La especificidad y VPP del segmento subcutáneo fueron mejores que los de la piel (94% y 88,5%) con lo que la

pareja ideal de cultivos superficiales, cuando sea posible retraer algo el catéter, son la conexión y los primeros 2 cm subcutáneos del mismo.

Debido a que la toma de muestras del interior de las conexiones podría conllevar un riesgo de dispersión del biofilm hacia la sangre tras la manipulación, Pérez-Granda y cols. han valorado la posibilidad de sustituir el cultivo del interior de las conexiones por el cultivo de los conectores cerrados de cada luz. Para ello describen una metodología basada en la instilación de 0,1 mL de medio de enriquecimiento a través del conector con posterior cultivo, lo que detectaría exclusivamente colonización intraluminal. A pesar de que los estudios han sido realizados sólo en pacientes críticos sometidos a cirugía cardíaca, describen una sensibilidad >80% y un VPN >90% cuando se combinan los cultivos de piel con los cultivos de los conectores, siendo ligeramente superior a los valores obtenidos con los cultivos superficiales convencionales de piel y conexiones (66,7% y 96,3%, respectivamente). Adicionalmente, plantean la posibilidad de detectar colonización extraluminal mediante la sonicación del conector que pudiera anticipar y predecir una futura colonización intraluminal.

Existen pocos trabajos que hayan evaluado las tinciones de Gram de los frotis del punto de inserción en la piel y de la conexión como método rápido y a la vez conservador, en el diagnóstico de BRC. En algunos de ellos la sensibilidad de la tinción de Gram fue del 80%, la especificidad del 82%, el VPP del 35% y el VPN del 97%. Una tinción de Gram negativa de los frotis de piel y conexión, prácticamente descartaría al catéter como origen de la infección. Aunque la tinción de Gram presenta escaso VPP, aporta información inmediata de gran utilidad en los casos en que la tinción es positiva, ya que la visualización de morfotipos concretos puede hacer que el clínico decida modificar la pauta terapéutica del paciente. Los resultados de dichas tinciones superficiales se confirman a las 24 horas, al examinar los cultivos correspondientes.

En resumen, los cultivos y tinciones de muestras superficiales tienen un elevado VPN. El VPP aumenta considerablemente tanto si se cultivan los primeros dos centímetros subcutáneos del catéter como si las muestras se toman en la proximidad del momento de la retirada del mismo y en pacientes con sospecha de BRC. Se recomienda este procedimiento como un método de aproximación sencillo

y barato al diagnóstico conservador de la infección de la punta del catéter.

### 5.2.1.2. Cultivo y tinciones de sangre aspirada por el catéter

Los cultivos de sangre aspirada por un catéter supuestamente infectado, comparados con los cultivos de sangre extraída por una vena periférica del mismo paciente, permiten determinar con certeza si existe una BRC y evitar la retirada del catéter innecesariamente. Se basan en que el número de ufc/mL de bacterias es mayor en la sangre extraída por el catéter que en la extraída por la vena periférica.

La metodología es laboriosa y relativamente cara, requiriendo un tratamiento previo de la muestra antes de su procesamiento. La extracción de hemocultivos ha de realizarse según las recomendaciones convencionales, salvo que el volumen de sangre, 10 mL, ha de inocularse en un frasco específico de lisis-centrifugación, que puede contener diferentes detergentes para realizar la lisis de los hematíes. Después de mezclar y agitar bien el frasco, se centrifuga, sembrándose la capa rica en leucocitos en placas de diferentes medios de cultivo (el procesamiento de la muestra ha de realizarse entre los 20-30 minutos de inoculación de la sangre en el tubo). La diferencia en el número de colonias, de 3 veces superior, en la muestra obtenida a través del catéter que en la obtenida a través de la vena periférica es indicativa de BRC, a pesar de presentar baja especificidad y bajo VPP. El cultivo cuantitativo de los hemocultivos puede optimizarse con el método de vertido en placa (*"pour plate method"*), que utiliza menos mL de sangre. El método consiste en mezclar 3 mililitros de las muestras de sangre, obtenidas a través del catéter y a través de la vena periférica, con 20 mL de agar infusión cerebro-corazón derretido a 56°C en placas de Petri. Las placas se incuban aeróbicamente a 35-37° C durante 4 días y se aplica el mismo punto de corte en el recuento de colonias.

Diversos estudios han demostrado que el método del hemocultivo cuantitativo no es útil para el diagnóstico de BRC si éste es un CVC de corta duración, pero sí en CVC de larga duración. Actualmente se recomienda obtener muestras de sangre extraídas a través de todas las luces del catéter, a fin de no perder el diagnóstico en casi un 30% de los episodios de BRC. Debido a su complejidad y

al requerimiento de procesamiento inmediato por parte del laboratorio de Microbiología, no es un método de rutina, si bien se ha empleado con buenos resultados en pacientes de unidades de críticos, hematológicos, oncológicos y pediátricos.

### 5.2.1.3. Técnicas basadas en la velocidad de crecimiento de hemocultivos

Esta técnica utiliza la ventaja de los nuevos sistemas automatizados para el procesamiento de hemocultivos que determinan el tiempo transcurrido desde el inicio de la incubación de los frascos hasta el momento en que se detecta crecimiento significativo (tiempo hasta positividad del hemocultivo o tiempo de crecimiento). Teóricamente, los hemocultivos que parten de un mayor inóculo bacteriano (los obtenidos a través de la luz del catéter) deben tener un crecimiento más rápido (tiempo hasta positividad más corto) que los inoculados con sangre periférica. Se ha probado que existen diferencias entre los tiempos de positividad de los hemocultivos extraídos de un catéter en pacientes con y sin BRC. Además, existe correlación entre el tiempo de positividad de los hemocultivos de catéter y el número de hemocultivos periféricos positivos.

Las diferencias en tiempo de crecimiento entre hemocultivos simultáneamente tomados por el catéter y de una vena periférica (tiempo diferencial de positividad entre los hemocultivos) se considera un método diagnóstico preciso para el diagnóstico de BRC, evitando la retirada innecesaria del catéter. El método permite el uso de hemocultivos ordinarios cualitativos y no requiere maniobras especiales en el laboratorio para su procesamiento.

Blot y cols. establecieron en 120 minutos la diferencia de crecimiento significativa entre las muestras pareadas, con una sensibilidad del 94% y una especificidad del 91% en el diagnóstico de BRC (con bacterias) y ha sido propuesto para el uso rutinario en la práctica en hospitales que dispongan de sistemas automatizados para la detección de bacteriemia. Otros estudios han obtenido porcentajes similares, siendo la mayoría, estudios de catéteres de larga duración retirados en UCI, donde la vía endoluminal de infección es mayoritaria. En el caso de BRC en portadores de catéter de corta duración, el tiempo diferencial de positividad tiene una sensibilidad entre el 80-96%, especificidad del 90-99%, VPP del 92% y VPN del 98%. Los principales inconvenientes de la técnica son:

- Dificultad en diferenciar falsos positivos y verdaderas infecciones en los hemocultivos.
- Es importante que los hemocultivos obtenidos de las diferentes luces del catéter estén correctamente identificados.
- El volumen de sangre es un factor clave en la rentabilidad de un hemocultivo. En el caso de emplear el tiempo diferencial de positividad entre cultivos pareados, el volumen de sangre extraído para cada hemocultivo debe ser igual.
- Además es importante recoger los primeros mililitros de sangre extraídos del catéter, ya que se presume contienen la mayor cantidad de bacterias.
- Rapidez de envío e inicio de incubación de los hemocultivos desde su extracción.
- Imposibilidad de aplicar este método en infecciones polimicrobianas. Sin embargo, la mayoría de los cultivos son positivos en las primeras 24h. Esto permitiría retirar el catéter rápidamente en casos de cultivos polimicrobianos, y no sería fiable el uso del tiempo diferencial de positividad.
- Imposibilidad de aplicar este método en infecciones por levaduras.

Se deben obtener hemocultivos a través de todas las luces del catéter, ya que de no hacerlo una importante proporción de BRC no se diagnosticaría. Sin embargo, el número de hemocultivos obtenidos de vena periférica no parece aumentar el diagnóstico de BRC.

El uso combinado de varias técnicas conservadoras aumenta la sensibilidad y especificidad en el diagnóstico de la IRC, que podrían ser útiles como screening. Posteriormente, el empleo del tiempo diferencial de positividad para el diagnóstico de BRC sería útil como método confirmatorio, al menos en los pacientes procedentes de UCI. La probabilidad de BRC es baja en casos de hemocultivos negativos extraídos del catéter en las primeras 24h, y se recomienda el uso de esta técnica incluso en pacientes críticos portadores de catéteres de corta duración.

Cuando un hemocultivo es positivo en un paciente estable, se podría esperar hasta que todos los cultivos sean positivos, calculando entonces el tiempo diferencial de positividad, y aconsejando la retirada del catéter si éste es superior a 2h. En el caso de que los hemocultivos pareados sean positivos al mismo microorganismo, pero el tiempo diferencial

de positividad sea inferior a 2h o, cuando el hemocultivo del catéter sea negativo (sugiriendo que no existe BRC) no sería necesaria la retirada del catéter.

#### 5.2.1.4. Técnicas moleculares de sangre extraída por el catéter

El diagnóstico de IRC por técnicas moleculares, sin retirada del mismo, se ha estudiado mayoritariamente en muestras de sangre (extraída a través del catéter y extraída por vena periférica), bien con la sangre completa o desde el hemocultivo crecido. Además, los estudios se han ceñido a grupos muy concretos de pacientes (hematológicos o neutropénicos). Existen pocos estudios sobre el uso de técnicas moleculares en muestras diferentes a la sangre. En el procedimiento nº 62 de la SEIMC, “Diagnostico microbiológico de la bacteriemia y la fungemia: hemocultivos y métodos moleculares. 2017”, se trata ampliamente este tema, haciéndose constar aquí un resumen.

Por un lado, las técnicas aplicadas sobre los hemocultivos positivos permiten tener una información más rápida que la aportada por métodos fenotípicos. Entre ellas destacan:

- Técnicas de amplificación: GenomEra (Abacus) para detectar *S. aureus* y *Streptococcus pneumoniae*; GeneXpert (Cepheid) y BD GenOhm (Becton-Dickinson) para detectar *S. aureus*. En los últimos años se han desarrollado plataformas de PCR múltiples, como el sistema Film Array (bioMérieux) que utiliza diversas PCRs múltiples anidadas o los sistemas Verigene (Nanosphere) y Prove-it Sepsis (Mobidiag) que utilizan PCRs múltiples con hibridación en panel de microarrays.
- Técnicas de amplificación isotérmica (LAMP, *loop-mediated isothermal amplification*), como Eazyplex MRSA (Amplex Byosystems GmbH), que detecta *S. aureus* y ECN.
- Técnicas de hibridación “in situ” con sondas fluorescentes (FISH), en concreto la técnica PNA-FISH (Pathogen-Specific Methods Peptide nucleic acid, AdvanDx) emplea sondas que se unen a los genes 16S ARNr de las bacterias y 18S ARNr en levaduras. Permite la identificación de *S. aureus*, SCN, *E. faecalis*, *Enterococcus* spp., *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parasilopsis* y *C. tropicalis*.

- Técnicas con sondas, como el sistema AccuProbe system (Gen probe), que utiliza sondas de ADN específicas para detectar *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *Enterococcus* spp. y *Streptococcus* de los grupos A y B; o el sistema mixto Sepsis Flow Chip (SFC, Master Diagnostica) basado en una PCR múltiple seguida de hibridación automática en membrana con sondas de ADN específicas mediante la tecnología DNA-Flow (hybriSpot HS24).

Por otro lado, las técnicas aplicadas directamente sobre la sangre del paciente, sin incubación previa, presenta varios problemas como la baja carga de microorganismos en sangre (1-10 ufc/mL), la variedad de microorganismos a estudio, la presencia de inhibidores (ión hierro e inmunoglobulinas en la muestra, heparina en la extracción) y las interferencias con el genoma humano, ADN contaminante o la persistencia de ADN procedente de microorganismos muertos. Además, en estas técnicas hay que considerar el “número de copias genómicas” de un microorganismo, incluyendo ADN de bacterias muertas o capturadas por células fagocíticas circulantes, lo que en muchas ocasiones las hace incomparables con los métodos de cultivo, hoy por hoy el “gold” estándar. Entre las metodologías más desarrolladas encontramos:

- Técnicas basadas en PCR: a) PCR a tiempo real, SepsitTest (Molzym GmbH), detecta 345 agentes patógenos utilizando las dianas 16S ARNr bacteriano y 18S ARNr de hongos o Magicplex Sepsits Real-Time (Seegene), detecta 85 especies bacterianas y 6 hongos; b) PCR múltiple, como VYOO (SIRS-Lab), detecta 34 especies bacterianas y 7 de hongos; Light Cyclor Septifast (Roche diagnostics), PCR múltiple a tiempo real en combinación con sondas FRET, detecta 25 especies bacterianas, 5 levaduras y *Aspergillus fumigatus*; o IRIDICA BAC-BSI Assay (Abbott Molecular), una PCR múltiple asociada a un sistema de espectrometría de masas.
- Técnicas de nanotecnología basada en la resonancia magnética, T2MR (T2 Biosystems), para detección de especies de *Candida* spp.
- Técnicas basadas en secuenciación. Todavía en evaluación, iDTECT DxBlood (Pathoquest) secuencia el genoma completo de 800 especies bacterianas y 400 virus; y LiDia BSI test (DNAe), técnica que captura el ADN microbiano con bolas inmunomagnéticas realizando en un microchip una secuenciación basada en tecnología de semiconduc-



tores (*ion-sensitive field effect transistors, ISFETs*)

Muchas de estas técnicas permiten además detectar genes de resistencia:

- Gen *mecA* y/o *mecC* de resistencia a meticilina en *S. aureus* (GenomEra, Film Array, Sepsis Flow, GeneXpert, Verigene, BD Gene Ohm StaphSR, BD-MAX StaphSR Assay, GenoType Blood, MagicPlex Sepsis Test, Prove-it sepsis).
- Genes *vanA/B* de resistencia a la vancomicina en *Enterococcus* spp. (Film Array, Sepsis Flow, Verigene, MagicPlex Sepsis).
- Genes de producción de betalactamasas de espectro extendido (BLEEs) en enterobacterias (Sepsis Flow, Verigene, Eazyplex, AID, MyCycler, Check-MD).
- Genes de producción de carbapenemasas (Film Array, Sepsis Flow, GeneXpert, Verigene, Eazyplex, AID, LightMix, Check-Direct, MyCycler, Check-MD).

Todavía no hay suficiente información para reemplazar al cultivo tradicional ni para recomendar la implantación de las técnicas moleculares para el diagnóstico de IRC en la práctica clínica. Previsiblemente, en un futuro próximo, se diseñen nuevos métodos que resuelvan los problemas actuales de estas técnicas, sobre todo con los grandes avances que se están produciendo en las técnicas de secuenciación masiva y nanotecnología. Los artículos publicados demuestran que aportan información clínicamente relevante, reduciendo el tiempo de diagnóstico de las IRC. Por ello, la opción más sensata sería emplear los métodos tradicionales, con apoyo de los moleculares, en aquellos laboratorios con capacidad para implantarlos, y valorar los resultados en función de la situación clínica del paciente.

### 5.2.2. Recomendaciones para el uso de procedimientos diagnósticos conservadores

- El primer abordaje diagnóstico conservador más sencillo y con alto VPN son los cultivos superficiales, que combinan cultivos de piel peri-catéter y conexiones (o conectores), ya que permiten descartar la presencia de BRC con alta fiabilidad.
- En pacientes con sospecha de BRC, debe extraerse sangre por todas luces del catéter y por una vena periférica.
- Los hemocultivos diferenciales de tiempo, basados en que aquellos extraídos por el catéter

deben tener un crecimiento más rápido que los extraídos por una vena periférica, pueden orientar en el diagnóstico de BRC, excepto en el caso de levaduras.

- Los cultivos de lisis-centrifugación están prácticamente en desuso, puesto que los hemocultivos diferenciales de tiempo han demostrado ser de utilidad similar y de fácil obtención.
- La aplicación de técnicas moleculares sobre la sangre extraída por el catéter no tiene todavía el sustrato científico suficiente como para recomendarse rutinariamente.
- No se recomienda el uso de procedimientos basados en el cepillado intraluminal.

## 6. CONCLUSIONES

Acorde con las nuevas guías sobre el diagnóstico y tratamiento de las infecciones relacionadas con catéter elaboradas conjuntamente entre la SEIMC y la SEMICYUC en el año 2017 se detallan las siguientes conclusiones en cuanto al diagnóstico de infección relacionada con el catéter:

- Deben enviarse al Laboratorio de Microbiología para cultivo sólo las puntas de catéteres procedentes de los pacientes con signos y síntomas de infección. Los cultivos sistemáticos de vigilancia no se consideran indicados.
- Las muestras de los pacientes con BRC grave y en situación crítica, demandan una atención de urgencia por parte del microbiólogo.
- En los pacientes en los que se retira el catéter por sospecha de sepsis, se deben tomar al menos, mediante técnica aséptica, dos parejas de hemocultivos de sangre periférica antes de iniciar el tratamiento antibiótico.
- El procedimiento semicuantitativo de Maki sigue siendo un estándar válido en el uso cotidiano. Otras técnicas que detecten la presencia de colonización intraluminal o extra e intraluminal, simultáneamente, se consideran alternativas adecuadas para situaciones especiales.
- No deben realizarse cultivos cualitativos de catéteres.
- Se recomienda la identificación de los microorganismos relacionados con la IRC, a nivel de

género y especie, determinación del biotipo y el estudio del patrón de sensibilidad a los antimicrobianos. Las técnicas de tipificación molecular quedan reservadas para estudios de investigación.

- En los pacientes, en los que se pretende conservar el catéter, se recomienda el estudio semicuantitativo de piel y conexiones/conectores por su alto VPN.
- Si existen signos de infección local, la tinción de Gram y cultivo del frotis del exudado puede ser de utilidad.
- En los pacientes críticos con sospecha de sepsis, la tinción de Gram de piel y conexiones permiten, por su VPN, ofrecer una información más rápida para la toma de decisiones. Los resultados deben confirmarse con el cultivo.
- Los hemocultivos cuantitativos diferenciales de sangre, tomada por todas las luces del catéter y por una vena periférica, son un procedimiento recomendable en la investigación de la BRC en las vías que se desean conservar.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

1. Blot F, Nitenberg G, Chachaty E, Raynard B, Germann N, Antoun S, *et al.* Diagnosis of catheter-related bacteraemia: a prospective comparison of the time to positivity of hub-blood versus peripheral-blood cultures. *Lancet* 1999;354(9184):1071-7.
2. Bouza E, Alvarado N, Alcalá L, Sánchez-Conde M, Pérez MJ, Muñoz P, *et al.* A prospective, randomized, and comparative study of 3 different methods for the diagnosis of intravascular catheter colonization. *Clin Infect Dis* 2005;40(8):1096-100.
3. Brun-Buisson C, Abrouk F, Legrand P, Huet Y, Larabi S, Rapin M. Diagnosis of central venous catheter-related sepsis. Critical level of quantitative tip cultures. *Arch Intern Med* 1987;147(5):873-7.
4. Cercenó E, Ena J, Rodríguez-Creixems M, Romero I, Bouza E. A conservative procedure for the diagnosis of catheter-related infections. *Arch Intern Med* 1990;150(7):1417-20.
5. Cleri DJ, Corrado ML, Seligman SJ. Quantitative culture of intravenous catheters and other intravascular inserts. *J Infect Dis* 1980;141(6):781-6.
6. Collignon P, Chan R, Munro R. Rapid diagnosis of intravascular catheter-related sepsis. *Arch Intern Med* 1987;147(9):1609-12.
7. Cooper GL, Hopkins CC. Rapid diagnosis of intravascular catheter-associated infection by direct Gram staining of catheter segments. *N Engl J Med* 1985;312(18):1142-7.
8. Douard MC, Arlet G, Longuet P, Troje C, Rouveau M, Ponscarne D, *et al.* Diagnosis of venous access port-related infections. *Clin Infect Dis* 1999;29(5):1197-202.
9. Fortun J, Pérez-Molina JA, Asensio A, Calderón C, Casado JL, Mir N, *et al.* Semiquantitative culture of subcutaneous segment for conservative diagnosis of intravascular catheter-related infection. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2000;24(4):210-4.
10. Guembe M, Martín-Rabadan P, Cruces R, Pérez Granda MJ, Bouza E. Sonicating multi-lumen sliced catheter tips after the roll-plate technique improves the detection of catheter colonization in adults. *J Microbiol Methods* 2016;122:20-2.
11. Guembe M, Martín-Rabadan P, Cruces R, Pérez Granda MJ, Bouza E. Roll-Plate Alone Does Not Demonstrate Colonization In Silicone Neonatal Catheters. *Pediatr Infect Dis J* 2016;35(3):351-3.
12. Guembe M, Martín-Rabadan P, Echenagusia A, Camunez F, Rodríguez-Rosales G, Simo G, *et al.* How should long-term tunneled central venous catheters be managed in microbiology laboratories in order to provide an accurate diagnosis of colonization? *J Clin Microbiol* 2012;50(3):1003-7.
13. Liñares J, Sitges-Serra A, Garau J, Pérez JL, Martín R. Pathogenesis of catheter sepsis: a prospective study with quantitative and semi-quantitative cultures of catheter hub and segments. *J Clin Microbiol* 1985;21(3):357-60.
14. Maki DG, Weise CE, Sarafin HW. A semi-quantitative culture method for identifying intravenous-catheter-related infection. *N Engl J Med* 1977;296(23):1305-9.
15. Martín-Rabadan P, Gijón P, Alcalá L, Rodríguez-Creixems M, Alvarado N, Bouza E. Propionibacterium acnes is a common colonizer of intravascular catheters. *J Infect* 2008;56(4):257-60.
16. Pérez-Granda MJ, Guembe M, Cruces R, Barrio JM, Bouza E. Assessment of central ve-

- nous catheter colonization using surveillance culture of withdrawn connectors and insertion site skin. *Crit Care* 2016;20:32.
17. Schmitt SK, Knapp C, Hall GS, Longworth DL, McMahon JT, Washington JA. Impact of chlorhexidine-silver sulfadiazine-impregnated central venous catheters on in vitro quantitation of catheter-associated bacteria. *J Clin Microbiol* 1996;34(3):508-11.
  18. Sherertz RJ, Raad, II, Belani A, Koo LC, Rand KH, Pickett DL, *et al.* Three-year experience with sonicated vascular catheter cultures in a clinical microbiology laboratory. *J Clin Microbiol* 1990;28(1):76-82.
  19. Slobbe L, El Barzouhi A, Boersma E, Rijn- ders BJ. Comparison of the roll plate method to the sonication method to diagnose catheter colonization and bacteremia in patients with long-term tunnelled catheters: a randomized prospective study. *J Clin Microbiol* 2009;47(4):885-8.

Servicio / Unidad de Microbiología Hospital.....	Cultivo semicuantitativo de catéter (técnica de Maki con y sin apertura del catéter)	PNT-CIV-01	
		Edición N° 02	Página 1 de 5

## PNT-CIV-01

### Cultivo semicuantitativo de catéter (Técnica de Maki con y sin apertura del catéter)

ELABORADO		REVISADO Y APROBADO	
Nombre / Firma	Fecha	Nombre / Firma	Fecha

EDICIÓN	FECHA	ALCANCE DE LAS MODIFICACIONES
01	2004	Edición inicial
02	2008	Incorporación del procedimiento de apertura longitudinal en catéteres silásticos (7.2)

COPIA REGISTRADA N°.....ASIGNADA A.....

Este documento es propiedad del Servicio de Microbiología del Hospital/Centro.....  
La información en él contenida no podrá reproducirse total ni parcialmente sin autorización escrita del Responsable de su elaboración. Las copias no registradas no se mantienen actualizadas a sus destinatarios.

Servicio / Unidad de Microbiología Hospital.....	Cultivo semicuantitativo de catéter (técnica de Maki con y sin apertura del catéter)	PNT-CIV-01	
		Edición N° 02	Página 2 de 5

## 1. PROPÓSITO Y ALCANCE

Descripción de la sistemática de procesamiento, lectura e interpretación de cultivos de las puntas de catéteres vasculares para el diagnóstico microbiológico de colonización de las vías vasculares y el estudio de las infecciones asociadas a dichos catéteres.

En este documento se describe el procedimiento a seguir para el diagnóstico y caracterización microbiológica de la colonización de puntas de catéteres intravasculares mediante el método semicuantitativo de Maki con y sin apertura longitudinal previa del catéter.

## 2. FUNDAMENTO

La contaminación de los dispositivos intravasculares es una causa frecuente y grave de infección hospitalaria. El cultivo de dichos catéteres tiene como objetivo identificar la causa de una bacteriemia/candidemia y puede ayudar al clínico a determinar si ésta es debida al catéter y actuar en consecuencia. Dado que la colonización del catéter se puede originar por vía extra o intraluminal, existen distintas técnicas para determinar su origen. Para detectar colonización extraluminal se realiza la técnica semicuantitativa de Maki, para detectar colonización intraluminal se realiza la técnica modificada de Cleri, y para detectar ambas, se pueden realizar la técnica de Brun-Buisson, la sonicación, o la técnica de Maki con la apertura longitudinal previa del catéter (sólo en catéteres de silicona procedentes de neonatos). Cada uno de los procedimientos se podrá elegir en función de las características del paciente/catéter. En este documento se detalla específicamente la técnica de Maki con (en catéteres de silicona procedentes de neonatos) y sin apertura longitudinal previa.

## 3. DOCUMENTOS DE CONSULTA

1. Alados Arboledas JC, Gómez García de la Pedrosa E, Leiva León J, Pérez Sáenz JL, Rojo Molinero E. Seguridad en el laboratorio de Microbiología Clínica. 10a. Pérez Sáenz JL (coordinador). Procedimientos en Microbiología Clínica. Cercenado Mansilla E, Cantón Moreno R (editores). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 2014. Disponible en <http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia10a.pdf>
2. García-Lechuz Moya JM, González López JJ, Orta Mira N, Sánchez Romero MI. Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el Laboratorio de Microbiología. 2017. 1b. Sánchez Romero MI (coordinadora). Procedimientos en Microbiología Clínica. Cercenado Mansilla E, Cantón Moreno R (editores). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 2017. Disponible en <http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia1b.pdf>
3. Del Pozo León JL, Díez Aguilar M, Guinea Ortega J, Maciá Romero MD, Diagnóstico microbiológico de las infecciones relacionadas con la formación de biopelículas. 60. Maciá Romero, MD (coordinadora). Procedimientos en Microbiología Clínica. Cercenado Mansilla E, Cantón Moreno R (editores). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 2017. Disponible en <http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia60.pdf>

Servicio / Unidad de Microbiología Hospital.....	Cultivo semicuantitativo de catéter (técnica de Maki con y sin apertura del catéter)	PNT-CIV-01	
		Edición N° 02	Página 3 de 5

4. Diagnosis and Treatment of Catheter-Related Bloodstream Infection: Clinical Guidelines of the Spanish Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (SEIMC) and the Spanish Society of Intensive Care Medicine and Coronary Units (SEMICYUC). 2017. Disponible en [http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/guiasclinicas/seimc-guiasclinicas-2017-Catheter-Related\\_Bloodstream\\_Infection.pdf](http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/guiasclinicas/seimc-guiasclinicas-2017-Catheter-Related_Bloodstream_Infection.pdf)

5. Documentos de instrucciones correspondientes a aquellos sistemas comerciales para identificación y antibiograma que se utilicen.

## 4. MUESTRAS

La muestra a procesar es el segmento distal del catéter intravascular donde se incluyan todas las luces de salida (aproximadamente 5 cm) en pacientes con sospecha de infección sistémica. Este segmento debe enviarse al laboratorio de Microbiología en un frasco o tubo estéril. Si el segmento del catéter recibido fuese de una longitud superior, debe cortarse con un bisturí o tijeras estériles en el momento de proceder a su cultivo para descartar el segmento sobrante.

La muestra debe ir acompañada de un volante o petición electrónica donde se detalle el tipo de catéter y la localización anatómica.

En caso de no poder procesar la muestra inmediatamente, ésta se puede refrigerar a 4°C durante un tiempo no superior a 6 días.

## 5. MEDIOS DE CULTIVO, REACTIVOS Y PRODUCTOS

### Medios de cultivo:

Agar Columbia con 5-10% de sangre de carnero

## 6. APARATOS Y MATERIAL

- Estufa de cultivo a 35°C  $\pm$ 2°C con control de temperatura
- Asa de siembra
- Pinzas estériles
- Placa de Petri estéril
- Bisturí n° 22
- Envase de desechos biológicos

## 7. PROCEDIMIENTO

### 7.1. REALIZACIÓN DE LA TÉCNICA DE MAKI SIN APERTURA (ver vídeo 1a)

**Siembra:** con la ayuda de un asa de siembra se rueda el segmento del catéter hacia delante y atrás 3 o 4 veces sobre la superficie de una placa de agar sangre.

**Incubación:** incubar la placa sembrada a una temperatura de 35°C en condiciones de aerobiosis durante no menos de 48 h y, opcionalmente hasta 96 h.

Servicio / Unidad de Microbiología Hospital.....	Cultivo semicuantitativo de catéter (técnica de Maki con y sin apertura del catéter)	PNT-CIV-01	
		Edición N° 02	Página 4 de 5

## 7.2. REALIZACIÓN DE LA TÉCNICA DE MAKI CON APERTURA (ver vídeo 1b)

**Siembra:** sobre una placa de Petri estéril y con un bisturí se corta el catéter silástico en segmentos longitudinales y con la ayuda de un asa de siembra se frota los segmentos sobre la superficie de una placa de agar sangre.

**Incubación:** incubar la placa sembrada a una temperatura de 35°C en condiciones de aerobiosis durante no menos de 48 h y, opcionalmente hasta 96 h.

## 7.3. LECTURA PARA AMBOS PROCEDIMIENTOS

Examinar la placa de agar sangre diariamente.

Si existe crecimiento de colonias efectuar su recuento.

Tanto si existe como si no crecimiento bacteriano prolongar la incubación al menos durante 24 h más y, opcionalmente hasta 96 h, realizando lecturas diarias.

En aquellos cultivos en los que se obtiene un crecimiento del mismo morfotipo de unidades formadoras de colonias (ufc)  $\geq 15$  por placa se efectuará la identificación de género y especie según los procedimientos de identificación del laboratorio. El estudio de sensibilidad a los antimicrobianos se realizará según el PNT correspondiente.

## 8. OBTENCIÓN Y EXPRESIÓN DE RESULTADOS

El nombre de la prueba se indicará como “Cultivo semicuantitativo de punta de catéter según técnica de Maki” o “Cultivo semicuantitativo de punta de catéter según técnica de Maki con apertura de catéter” para catéteres de tipo PICCs de silicona de neonatos.

Si en el cultivo no se observa crecimiento de microorganismos, informar como: negativo.

Si en el cultivo se observa crecimiento de microorganismos  $< 15$  ufc, informar como: recuento no significativo.

Si en el cultivo hay crecimiento de microorganismos, informar como: recuento significativo, y especificar el número exacto o aproximado (si éste es muy elevado) de ufc y las especies bacterianas aisladas, valorando sólo aquellos recuentos  $\geq 15$  ufc/placa.

## 9. RESPONSABILIDADES

Básicamente serán las siguientes:

Área de recogida y procesamiento de muestras: recepción, identificación y procesamiento de las muestras.

Rechazo de las muestras remitidas en condiciones defectuosas y adopción de medidas correctoras.

Personal técnico: lectura de las placas e identificación presuntiva de los microorganismos. Registro de resultados. Archivo de hojas de trabajo.

Facultativo responsable: Supervisión del trabajo y de los resultados, resolución de dudas técnicas, interconsultas, adopción de medidas correctoras de errores cometidos, firma de informes de resultados.

Servicio / Unidad de Microbiología Hospital.....	Cultivo semicuantitativo de catéter (técnica de Maki con y sin apertura del catéter)	PNT-CIV-01	
		Edición N° 02	Página 5 de 5

## 10. ANOTACIONES AL PROCEDIMIENTO

Cualquier microorganismo que se cultive en cantidad suficiente ( $\geq 15$  ufc/placa) se considerará como potencialmente patógeno y se deberá identificar con género y especie.

El punto de corte de 15 ufc/placa es estimado y, por tanto, aquellos recuentos bajos cercanos a 15 ufc, deberán ser interpretados en el contexto del paciente, especialmente, en el caso de levaduras. Opcionalmente se puede informar el número de ufc, ya que se puede asumir que existe una relación proporcional entre el número de microorganismos y el riesgo de infección.

## 11. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Con la realización de este procedimiento no se detectan las infecciones asociadas a catéteres por microorganismos de crecimiento lento (por ejemplo, micobacterias no tuberculosas). Asimismo, no se detectan las infecciones asociadas a catéteres causadas por microorganismos que no crecen en las condiciones establecidas (*Malassezia* spp., microorganismos del género *Corynebacterium* lipofílicos, *Haemophilus* spp., *Propionibacterium* spp.). En caso de alta sospecha de colonización por alguno de estos microorganismos se pueden añadir medios de cultivos y condiciones y tiempos de incubación específicos.

La técnica de Maki sin apertura sólo detecta colonización extraluminal.

El tratamiento antimicrobiano previo a la obtención de la muestra puede alterar los resultados de los cultivos, especialmente si se ha administrado a través de ese catéter.

## 12. BIBLIOGRAFÍA

1. Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, Tenover FC, Tenover FC. Manual of Clinical Microbiology. Murray PR (Eds). 9ª Ed. ASM Press. Washington DC. 2007.
2. Guembe M, Martín-Rabadán P, Cruces R, Pérez Granda MJ, Bouza E. Slicing silicone neonatal vascular catheter tips improves colonization detection by the roll-plate technique. Clin Microbiol Infect 2017;23:410.e1-410.e3.
3. Guembe M, Martín-Rabadán P, Cruces R, Pérez Granda MJ, Bouza E. Roll-plate alone does not demonstrate colonization in silicone neonatal catheters. Ped Infect Dis J 2016; 35: 351-3.
4. Maki DG, Weise CE, Sarafin HW. A semiquantitative culture method for identifying intravenous catheter related infection. N Eng J Med 1977; 296:1305-1309.
5. Martín-Rabadán P, Gijón P, Alcalá L, Rodríguez-Créixems M, Alvarado N, Bouza E. Propionibacterium acnes is a common colonizer of intravascular catheters. J Infect. 2008; 56:257-60.
6. Mermel LA, Allon M, Bouza E, Craven DE, Flynn P, O'Grady NP, Raad II, Rijnders BJ, Sherertz RJ, Warren DK. Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of intravascular catheter-related infection: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis 2009; 49:1-45.
7. Ysenberg HD. Clinical Microbiology Procedures Handbook. (4ª Ed). ASM Press. Washington D.C. 2016.



Servicio / Unidad de Microbiología Hospital.....	Cultivo cuantitativo de catéter (Técnica de Brun-Buisson)	PNT-CIV-02	
		Edición N° 02	Página 1 de 5

## PNT-CIV-02

### Cultivo cuantitativo de catéter (Técnica de *Brun-Buisson*)

ELABORADO		REVISADO Y APROBADO	
Nombre / Firma	Fecha	Nombre / Firma	Fecha

EDICIÓN	FECHA	ALCANCE DE LAS MODIFICACIONES
01	2004	Edición inicial
02	2018	Actualización

COPIA REGISTRADA N°.....ASIGNADA A.....

Este documento es propiedad del Servicio de Microbiología del Hospital/Centro.....  
La información en él contenida no podrá reproducirse total ni parcialmente sin autorización escrita del Responsable de su elaboración. Las copias no registradas no se mantienen actualizadas a sus destinatarios.

Servicio / Unidad de Microbiología Hospital.....	Cultivo cuantitativo de catéter (Técnica de Brun-Buisson)	PNT-CIV-02	
		Edición N° 02	Página 2 de 5

## 1. PROPÓSITO Y ALCANCE

Descripción de la sistemática de procesamiento, lectura e interpretación de cultivos de las puntas de catéteres vasculares para el diagnóstico microbiológico de colonización de las vías vasculares y el estudio de las infecciones asociadas a dichos catéteres.

En este procedimiento se describe el método a seguir para el diagnóstico y caracterización microbiológica de la colonización intra y extraluminal de puntas de catéteres intravasculares mediante el método cuantitativo de Brun-Buisson.

## 2. CAMPO DE APLICACIÓN Y FUNDAMENTO

La contaminación de los dispositivos intravasculares es una causa frecuente y grave de infección hospitalaria. El cultivo de dichos catéteres tiene como objetivo identificar la causa de una bacteriemia/candidemia y puede ayudar al clínico a determinar si ésta es debida al catéter y actuar en consecuencia. Dado que la colonización del catéter se puede originar por vía extra o intraluminal, existen distintas técnicas para determinar su origen. Para detectar colonización extraluminal se realiza la técnica semicuantitativa de Maki, para detectar colonización intraluminal se realiza la técnica modificada de Cleri, y para detectar ambas, se pueden realizar la técnica de Brun-Buisson, la sonicación, o la técnica de Maki con la apertura longitudinal previa del catéter (sólo en catéteres de silicona procedentes de neonatos). Cada uno de los procedimientos se podrá elegir en función de las características del paciente/catéter. En este documento se detalla específicamente la técnica de Brun-Buisson, que se basa en introducir la punta de catéter en un caldo, agitar el caldo con un agitador vórtex para desprender los microorganismos de la superficie y de la luz del catéter, y sembrar ese caldo en medios de cultivo habituales.

## 3. DOCUMENTOS DE CONSULTA

1. Alados Arboledas JC, Gómez García de la Pedrosa E, Leiva León J, Pérez Sáenz JL, Rojo Molinero E. Seguridad en el laboratorio de Microbiología Clínica. 10a. Pérez Sáenz JL (coordinador). Procedimientos en Microbiología Clínica. Cercenado Mansilla E, Cantón Moreno R (editores). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 2014. Disponible en <http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia10a.pdf>
2. García-Lechuz Moya JM, González López JJ, Orta Mira N, Sánchez Romero MI. Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el Laboratorio de Microbiología. 2017. 1b. Sánchez Romero MI (coordinadora). Procedimientos en Microbiología Clínica. Cercenado Mansilla E, Cantón Moreno R (editores). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 2017. Disponible en <http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia1b.pdf>
3. Del Pozo León JL, Díez Aguilar M, Guinea Ortega J, Macià Romero MD. Diagnóstico microbiológico de las infecciones relacionadas con la formación de biopelículas. 60. Macià Romero, MD (coordinadora). Procedimientos en Microbiología Clínica. Cercenado Mansilla E, Cantón Moreno R (editores). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 2017. Disponible en <http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia60.pdf>

Servicio / Unidad de Microbiología Hospital.....	Cultivo cuantitativo de catéter (Técnica de Brun-Buisson)	PNT-CIV-02	
		Edición N° 02	Página 3 de 5

4. Diagnosis and Treatment of Catheter-Related Bloodstream Infection: Clinical Guidelines of the Spanish Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (SEIMC) and the *Spanish Society of Intensive Care Medicine and Coronary Units* (SEMICYUC). 2017. Disponible en [http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/guiasclinicas/seimc-guiasclinicas-2017-Catheter-Related\\_Bloodstream\\_Infection.pdf](http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/guiasclinicas/seimc-guiasclinicas-2017-Catheter-Related_Bloodstream_Infection.pdf)

5. Documentos de instrucciones correspondientes a aquellos sistemas comerciales para identificación y antibiograma que se utilicen.

## 4. MUESTRAS

La muestra a procesar es el segmento distal del catéter intravascular donde se incluyan todas las luces de salida (aproximadamente 5 cm) en pacientes con sospecha de infección sistémica. Este segmento debe enviarse al laboratorio de Microbiología en un frasco o tubo estéril. Si el segmento del catéter recibido fuese de una longitud superior, debe cortarse con un bisturí o tijeras estériles en el momento de proceder a su cultivo para descartar el segmento sobrante.

La muestra debe ir acompañada de un volante o petición electrónica donde se detalle el tipo de catéter y la localización anatómica.

En caso de que no se pueda procesar la muestra inmediatamente, ésta se puede refrigerar a 4°C durante un tiempo no superior a 6 días.

## 5. MEDIOS DE CULTIVO, REACTIVOS Y PRODUCTOS

### Medios de cultivo:

- Brain Heart Infusion (BHI) o Tryptic Soy Broth (TSB) en tubo de 1 mL
- Agar Columbia con 5-10% de sangre de cordero

## 6. APARATOS Y MATERIAL

- Pinzas estériles
- Bisturí nº 22 o tijeras estériles
- Micropipeta de 200 µL
- Puntas estériles de 200 µL
- Asa de siembra
- Estufa de cultivo a 35°C ±2°C con control de temperatura
- Agitador vórtex
- Cronómetro
- Envase de desechos biológicos

## 7. PROCEDIMIENTO (Ver vídeo 2)

### 7.1. REALIZACIÓN DE LA TÉCNICA

**Preparación:** sobre una placa de Petri estéril y con un bisturí se cortan aproximadamente los 5 cm distales de la punta (incluyendo todas las luces de salida) y se introduce en un tubo estéril con 1 mL de BHI. Agitar el tubo con un vórtex a máxima velocidad durante 1 minuto.

Servicio / Unidad de Microbiología Hospital.....	Cultivo cuantitativo de catéter (Técnica de <i>Brun-Buisson</i> )	PNT-CIV-02	
		Edición N° 01	Página 4 de 5

**Siembra:** con una micropipeta se siembran 100 µL del caldo en una placa de agar sangre y con el asa de siembra se realiza cultivo en modo cuantitativo por toda la superficie de la placa.

**Incubación:** incubar la placa sembrada a una temperatura de 35°C en condiciones de aerobiosis durante no menos de 48 h y, opcionalmente hasta 96 h.

## 7.2. LECTURA

Examinar la placa de agar sangre diariamente.

Si existe crecimiento de colonias, realizar su recuento. Los recuentos se expresarán como unidades formadoras de colonias (ufc)/mL mediante la multiplicación del nº ufc/placa por 10.

Tanto si existe como si no existe crecimiento bacteriano, prolongar la incubación al menos durante 24 h más y, opcionalmente hasta 96 h, realizando lecturas diarias.

En aquellos cultivos en los que se obtiene un crecimiento del mismo morfotipo de ufc  $\geq 1.000$  por mL se efectuará la identificación de género y especie según los procedimientos de identificación del laboratorio. El estudio de sensibilidad a los antimicrobianos se realizará según el PNT correspondiente.

## 8. OBTENCIÓN Y EXPRESIÓN DE RESULTADOS

El nombre de la prueba se indicará como “*Cultivo de punta de catéter según técnica de Brun-Buisson*”.

Si en el cultivo no se observa crecimiento de microorganismos, informar como: negativo.

Si en el cultivo se observa crecimiento de microorganismos  $< 1.000$  ufc/mL, informar como: recuento no significativo.

Si en el cultivo hay crecimiento de microorganismos  $\geq 1.000$  ufc/mL, informar como: recuento significativo, y especificar el número exacto o aproximado (si éste es muy elevado) de ufc/mL y las especies bacterianas aisladas, valorando sólo aquellos recuentos  $\geq 1.000$  ufc/mL.

## 9. RESPONSABILIDADES

Básicamente serán las siguientes:

Área de recogida y procesamiento de muestras: recepción, identificación y procesamiento de las muestras. Rechazo de las muestras remitidas en condiciones defectuosas y adopción de medidas correctoras. Personal técnico: lectura de las placas e identificación presuntiva de los microorganismos. Registro de resultados. Archivo de hojas de trabajo.

Facultativo responsable: supervisión del trabajo y de los resultados, resolución de dudas técnicas, interconsultas, adopción de medidas correctoras de errores cometidos, firma de informes de resultados.

Servicio / Unidad de Microbiología Hospita- tal.....	Cultivo cuantitativo de catéter (Técnica de <i>Brun-Buisson</i> )	PNT-CIV-02	
		Edición N° 01	Página 5 de 5

## 10. ANOTACIONES AL PROCEDIMIENTO

Durante la agitación en vórtex se ha de tener especial cuidado en asegurar que el caldo alcanza la totalidad de la punta de catéter.

Cualquier microorganismo que se cultive en cantidad suficiente ( $\geq 1.000$  ufc/mL) se considerará como potencialmente patógeno y se deberá identificar con género y especie.

El punto de corte de 1.000 ufc/mL es estimado y, por tanto, aquellos recuentos bajos cercanos a 1.000, se deberán interpretar en el contexto del paciente, especialmente, en el caso de levaduras. Opcionalmente se puede informar el número de ufc, ya que se puede asumir que existe una relación proporcional entre el número de microorganismos y el riesgo de infección.

## 11. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Con la realización de este procedimiento no se detectan las infecciones asociadas a catéteres por microorganismos de crecimiento lento (por ejemplo, micobacterias no tuberculosas). Asimismo, no se detectan las infecciones asociadas a catéteres causadas por microorganismos que no crecen en las condiciones establecidas (*Malassezia* spp., microorganismos del género *Corynebacterium* lipofílicos, *Haemophilus* spp., *Propionibacterium* spp.). En caso de alta sospecha de colonización por alguno de estos microorganismos se pueden añadir medios de cultivos y condiciones y tiempos de incubación específicos.

Este método no diferencia entre colonización de la superficie y de la luz del catéter. En caso de que esta información fuera relevante para caracterizar la infección, se puede combinar con la técnica de Maki, realizando la técnica de *Brun-Buisson* después.

El tratamiento antimicrobiano previo a la obtención de la muestra puede alterar los resultados de los cultivos, especialmente si se ha administrado a través de ese catéter.

## 12. BIBLIOGRAFÍA

1. Bouza E, Guembe M, Gómez H, Martín-Rabadán P, Rivera M, Alcalá L. Are central venous catheter tip cultures reliable after 6-day refrigeration? *Diagn Microbiol Infect Dis* 2009; 64:241-6.
2. Brun-Buisson C, Abrouk F, Legrand P, Huet Y, Larabi S, Rapin M. Diagnosis of central venous catheter-related sepsis. Critical level of quantitative tip cultures. *Arch Intern Med* 1987;147:873-7.
3. Jorgensen, J.H., et al., *Manual of clinical microbiology*. 11a edición, 2015.
4. Leber, A.L., *Clinical microbiology procedures handbook*. 4a edición, 2016.
5. Mermel LA, Allon M, Bouza E, Craven DE, Flynn P, O'Grady NP, Raad II, Rijnders BJ, Sherertz RJ, Warren DK. Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of intravascular catheter-related infection: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2009;49:1-45.
6. Murray P.R., Baron, E.J. Jorgensen J. H., Tenover F. C., Tenover F. C., Tenover F. C. *Manual of Clinical Microbiology*. (Eds). 9ª Edición. ASM Press. Washington D.C. 2007.
7. Ysenberg H. D. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. (4º Ed). ASM Press. Washington D.C. 2016.

Servicio / Unidad de Microbiología Hospital.....	Cultivo cuantitativo de catéter (Técnica de sonicación tras fragmentación)	PNT-CIV-03	
		Edición N° 01	Página 1 de 5

## PNT-CIV-03

### Cultivo cuantitativo de catéter (Técnica de sonicación tras fragmentación)

ELABORADO		REVISADO Y APROBADO	
Nombre / Firma	Fecha	Nombre / Firma	Fecha

EDICIÓN	FECHA	ALCANCE DE LAS MODIFICACIONES
01	2018	Edición inicial

COPIA REGISTRADA N°.....ASIGNADA A.....

Este documento es propiedad del Servicio de Microbiología del Hospital/Centro.....  
La información en él contenida no podrá reproducirse total ni parcialmente sin autorización escrita del Responsable de su elaboración. Las copias no registradas no se mantienen actualizadas a sus destinatarios.

Servicio / Unidad de Microbiología Hospital.....	Cultivo cuantitativo de catéter (Técnica de sonicación tras fragmentación)	PNT-CIV-03	
		Edición N° 01	Página 2 de 5

## 1. PROPÓSITO Y ALCANCE

Descripción de la sistemática de procesamiento, lectura e interpretación de cultivos de las puntas de catéteres vasculares para el diagnóstico microbiológico de colonización de las vías vasculares y el estudio de las infecciones asociadas a dichos catéteres.

En este procedimiento se describe el método a seguir para el diagnóstico y caracterización microbiológica de la colonización intra y extraluminal, simultáneamente, de puntas de catéteres intravasculares mediante el método cuantitativo de sonicación con fragmentado previo del catéter.

## 2. FUNDAMENTO

La contaminación de los dispositivos intravasculares es una causa frecuente y grave de infección hospitalaria. El cultivo de dichos catéteres tiene como objetivo identificar la causa de una bacteriemia/candidemia y puede ayudar al clínico a determinar si ésta es debida al catéter y actuar en consecuencia. Dado que la colonización del catéter se puede originar por vía extra o intraluminal, existen distintas técnicas para determinar su origen. Para detectar colonización extraluminal se realiza la técnica semicuantitativa de Maki, para detectar colonización intraluminal se realiza la técnica modificada de Cleri, y para detectar ambas, se pueden realizar *la técnica de Brun-Buisson*, la sonicación, o la técnica de Maki con la apertura longitudinal previa del catéter (sólo en silásticos). Cada uno de los procedimientos se podrá elegir en función de las características del paciente/catéter. En este documento se detalla específicamente la técnica de sonicated con fragmentado previo del catéter.

## 3. DOCUMENTOS DE CONSULTA

- Alados Arboledas JC, Gómez García de la Pedrosa E, Leiva León J, Pérez Sáenz JL, Rojo Molinero E. Seguridad en el laboratorio de Microbiología Clínica. 10a. Pérez Sáenz JL (coordinador). Procedimientos en Microbiología Clínica. Cercenado Mansilla E, Cantón Moreno R (editores). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 2014. Disponible en <http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia10a.pdf>
- García-Lechuz Moya JM, González López JJ, Orta Mira N, Sánchez Romero MI. Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el Laboratorio de Microbiología. 2017. 1b. Sánchez Romero MI (coordinadora). Procedimientos en Microbiología Clínica. Cercenado Mansilla E, Cantón Moreno R (editores). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 2017. Disponible en <http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia1b.pdf>
- Del Pozo León JL, Díez Aguilar M, Guinea Ortega J, Macià Romero MD. Diagnóstico microbiológico de las infecciones relacionadas con la formación de biopelículas. 60. Macià Romero, MD (coordinadora). Procedimientos en Microbiología Clínica. Cercenado Mansilla E, Cantón Moreno R (editores). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 2017. Disponible en <http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia60.pdf>
- Diagnosis and Treatment of Catheter-Related Bloodstream Infection: Clinical Guidelines of the Spanish Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (SEIMC) and the Spanish Society of Intensive Care Medicine and Coronary Units (SEMICYUC). 2017. Disponible en [http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/guiasclinicas/seimc-guiasclinicas-2017-Catheter-Related\\_Bloodstream\\_Infection.pdf](http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/guiasclinicas/seimc-guiasclinicas-2017-Catheter-Related_Bloodstream_Infection.pdf)

Servicio / Unidad de Microbiología Hospital.....	Cultivo cuantitativo de catéter (Técnica de sonicación tras fragmentación)	PNT-CIV-03	
		Edición N° 01	Página 3 de 5

5. Documentos de instrucciones correspondientes a aquellos sistemas comerciales para identificación y anti-biograma que se utilicen.

#### 4. MUESTRAS

La muestra a procesar es el segmento distal del catéter intravascular donde se incluyan todas las luces de salida (aproximadamente 5 cm) en pacientes con sospecha de infección sistémica. Este segmento debe enviarse al laboratorio de Microbiología en un frasco o tubo estéril. Si el segmento del catéter recibido fuese de una longitud superior, debe cortarse con un bisturí o tijeras estériles en el momento de proceder a su cultivo para descartar el segmento sobrante.

La muestra debe ir acompañada de un volante o petición electrónica donde se detalle el tipo de catéter y la localización anatómica.

En caso de no poder procesar la muestra inmediatamente, ésta se puede refrigerar a 4°C durante un tiempo no superior a 6 días.

#### 5. MEDIOS DE CULTIVO, REACTIVOS Y PRODUCTOS

##### Medios de cultivo:

Agar Columbia con 5-10% de sangre de carnero

##### Medios de enriquecimiento:

Brain Heart Infusion (BHI) o Tryptic Soy Broth (TSB) en tubo de 1 mL

#### 6. APARATOS Y MATERIAL

- Estufa de cultivo a 35°C ±2°C con control de temperatura
- Baño de ultrasonidos (sonicador)
- Agitador vórtex
- Asa de siembra
- Pinzas estériles
- Placa de Petri estéril
- Micropipeta de 200 µL
- Puntas estériles de 200 µL
- Bisturí n° 22
- Envase de desechos biológicos

#### 7. PROCEDIMIENTO

##### 7.1. REALIZACIÓN DE LA TÉCNICA (ver video 3)

**Preparación:** encender el baño de ultrasonidos unos minutos antes de realizar la técnica. Sobre una placa de Petri estéril y con un bisturí se cortan aproximadamente los 5 cm distales de la punta (incluyendo todas las luces de salida) en fragmentos de aproximadamente 2-5 mm y se introduce en un tubo estéril con 1 mL de BHI.

**Sonicación:** agitar en vórtex unos segundos el tubo e introducirlo en baño de ultrasonidos. Sonicar durante 1 min a 35.000 Hz y 125 W seguido de 15 segundos de vórtex vigoroso.



Servicio / Unidad de Microbiología Hospital.....	Cultivo cuantitativo de catéter (Técnica de sonicación tras fragmentación)	PNT-CIV-03	
		Edición N° 01	Página 4 de 5

**Siembra:** con una micropipeta se siembran 100 µL del sonicado en una placa de agar sangre y con el asa de siembra se realiza cultivo en modo cuantitativo por toda la superficie de la placa.

**Incubación:** incubar la placa sembrada a una temperatura de 35°C en condiciones de aerobiosis durante no menos de 48 h y, opcionalmente hasta 96 h.

## 7.2. LECTURA

Examinar la placa de agar sangre diariamente.

Si existe crecimiento de colonias efectuar su recuento. Los recuentos se expresarán como unidades formadoras de colonias (ufc)/mL mediante la multiplicación del n° ufc/placa por 10.

Tanto si existe como si no crecimiento bacteriano prolongar la incubación al menos durante 24 h más y, opcionalmente hasta 96 h, realizando lecturas diarias.

En aquellos cultivos en los que se obtiene un crecimiento del mismo morfotipo de ufc  $\geq 100$  por mL se efectuará la identificación de género y especie según los procedimientos de identificación del laboratorio. El estudio de sensibilidad a los antimicrobianos se realizará según el PNT correspondiente.

## 8. OBTENCIÓN Y EXPRESIÓN DE RESULTADOS

El nombre de la prueba se indicará como “Cultivo cuantitativo de punta de catéter según técnica de sonicación”.

Si en el cultivo no se observa crecimiento de microorganismos, informar como: negativo.

Si en el cultivo se observa crecimiento de microorganismos  $< 100$  ufc/mL, informar como: recuento no significativo.

Si en el cultivo hay crecimiento de microorganismos  $\geq 100$  ufc/mL, informar como: recuento significativo, y especificar el número exacto o aproximado (si éste es muy elevado) de ufc/mL y las especies bacterianas aisladas, valorando sólo aquellos recuentos  $\geq 100$  ufc/mL.

## 9. RESPONSABILIDADES

Básicamente serán las siguientes:

Área de recogida y procesamiento de muestras: recepción, identificación y procesamiento de las muestras.

Rechazo de las muestras remitidas en condiciones defectuosas y adopción de medidas correctoras.

Personal técnico: lectura de las placas e identificación presuntiva de los microorganismos. Registro de resultados. Archivo de hojas de trabajo.

Facultativo responsable: supervisión del trabajo y de los resultados, resolución de dudas técnicas, interconsultas, adopción de medidas correctoras de errores cometidos, firma de informes de resultados.

## 10. ANOTACIONES AL PROCEDIMIENTO

Cualquier microorganismo que se cultive en cantidad suficiente ( $\geq 100$  ufc/mL) se considerará como potencialmente patógeno y se deberá identificar con género y especie.

El punto de corte de 100 ufc/mL es estimatorio y, por tanto, aquellos recuentos bajos cercanos a 100, se deberán interpretar en el contexto del paciente, especialmente, en el caso de levaduras. Opcionalmente se puede informar el número de ufc, ya que se puede asumir que existe una relación proporcional entre el número de microorganismos y el riesgo de infección.

Servicio / Unidad de Microbiología Hospital.....	Cultivo cuantitativo de catéter (Técnica de sonicación tras fragmentación)	PNT-CIV-03	
		Edición N° 01	Página 5 de 5

## 11. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Este procedimiento no detecta las infecciones asociadas a catéteres por microorganismos de crecimiento lento (por ejemplo, micobacterias no tuberculosas). Asimismo, no detecta las infecciones asociadas a catéteres causadas por microorganismos que no crecen en las condiciones establecidas (*Malassezia* spp., microorganismos del género *Corynebacterium* lipofílicos, *Haemophilus* spp., *Propionibacterium* spp.). En caso de alta sospecha de colonización por alguno de estos microorganismos se pueden añadir medios de cultivos y condiciones y tiempos de incubación específicos.

El tratamiento antimicrobiano previo a la obtención de la muestra puede alterar los resultados de los cultivos, especialmente se ha administrado a través de ese catéter.

## 12. BIBLIOGRAFÍA

1. Guembe M, Martín-Rabadán P, Cruces R, Pérez Granda MJ, Bouza E. Sonicating multi-lumen sliced catheter tips after the roll-plate technique improves the detection of catheter colonization in adults. *J Microbiol Methods* 2016; 122:20-2.
2. Martín-Rabadán P, Gijón P, Alcalá L, Rodríguez-Créixems M, Alvarado N, Bouza E. *Propionibacterium acnes* is a common colonizer of intravascular catheters. *J Infect.* 2008; 56:257-60.
3. Mermel LA, Allon M, Bouza E, Craven DE, Flynn P, O'Grady NP, Raad II, Rijnders BJ, Sherertz RJ, Warren DK. Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of intravascular catheter-related infection: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2009;49:1-45.
4. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC. *Manual of Clinical Microbiology*. (Eds). 9ª Ed. ASM Press. Washington DC. 2007.
5. Raad II, Sabbagh MF, Rand KH, Sherertz RJ. Quantitative tip culture methods and the diagnosis of central venous catheter-related infections. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1992;15:13-20.
6. Ysenberg HD. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. (4ª Ed). ASM Press. Washington DC. 2016.

Servicio / Unidad de Microbiología Hospital.....	Cultivo de dispositivos totalmente implantables	PNT-CIV-04	
		Edición N° 01	Página 1 de 5

## PNT-CIV-04

### Cultivo de dispositivos totalmente implantables

ELABORADO		REVISADO Y APROBADO	
Nombre / Firma	Fecha	Nombre / Firma	Fecha

EDICIÓN	FECHA	ALCANCE DE LAS MODIFICACIONES
01	2018	Edición inicial

COPIA REGISTRADA N°.....ASIGNADA A.....

Este documento es propiedad del Servicio de Microbiología del Hospital/Centro.....  
La información en él contenida no podrá reproducirse total ni parcialmente sin autorización escrita del Responsable de su elaboración. Las copias no registradas no se mantienen actualizadas a sus destinatarios.

Servicio / Unidad de Microbiología Hospital.....	Cultivo de dispositivos totalmente implantables	PNT-CIV-04	
		Edición N° 01	Página 2 de 5

## 1. PROPÓSITO Y ALCANCE

Descripción de la sistemática de procesamiento, lectura e interpretación de cultivos de los reservorios totalmente implantables (Port-A-Cath) para el diagnóstico microbiológico de colonización y de infecciones asociadas a estos dispositivos.

Este procedimiento es aplicable en todos los laboratorios de Microbiología que realicen este tipo de procesamiento.

## 2. FUNDAMENTO

La contaminación de los dispositivos totalmente implantables es una causa común de bacteriemia/candidemia, lo que conduce en numerosas ocasiones a la retirada del mismo, con las dificultades y riesgos que esto conlleva, sobre todo teniendo en cuenta las características particulares de los pacientes portadores de estos dispositivos. El cultivo apropiado de dicho dispositivo puede ayudar al clínico a determinar si la bacteriemia/candidemia que presenta el paciente es debida al dispositivo y actuar en consecuencia. Este procedimiento se aplicará a aquellos catéteres vasculares tunelizados y totalmente implantables tipo Port-A-Cath mediante la combinación de cultivos de distintas partes del dispositivo, para detectar colonización tanto del exterior de la punta, del interior del reservorio, como del exterior del reservorio (bolsillo).

## 3. DOCUMENTOS DE CONSULTA

- Alados Arboledas JC, Gómez García de la Pedrosa E, Leiva León J, Pérez Sáenz JL, Rojo Molinero E. Seguridad en el laboratorio de Microbiología Clínica. 10a. Pérez Sáenz JL (coordinador). Procedimientos en Microbiología Clínica. Cercenado Mansilla E, Cantón Moreno R (editores). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 2014. Disponible en <http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia10a.pdf>
- García-Lechuz Moya JM, González López JJ, Orta Mira N, Sánchez Romero MI. Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el Laboratorio de Microbiología. 2017. 1b. Sánchez Romero MI (coordinadora). Procedimientos en Microbiología Clínica. Cercenado Mansilla E, Cantón Moreno R (editores). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 2017. Disponible en <http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia1b.pdf>
- Del Pozo León JL, Díez Aguilar M, Guinea Ortega J, Maciá Romero MD. Diagnóstico microbiológico de las infecciones relacionadas con la formación de biopelículas. 60. Maciá Romero, MD (coordinadora). Procedimientos en Microbiología Clínica. Cercenado Mansilla E, Cantón Moreno R (editores). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 2017. Disponible en <http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia60.pdf>
- Diagnosis and Treatment of Catheter-Related Bloodstream Infection: Clinical Guidelines of the Spanish Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (SEIMC) and the Spanish Society of Intensive Care Medicine and Coronary Units (SEMICYUC). 2017. Disponible en [http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/guiasclinicas/seimc-guiasclinicas-2017-Catheter-Related\\_Bloodstream\\_Infection.pdf](http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/guiasclinicas/seimc-guiasclinicas-2017-Catheter-Related_Bloodstream_Infection.pdf)
- Documentos de instrucciones correspondientes a aquellos sistemas comerciales para identificación y antibiograma que se utilicen.

Servicio / Unidad de Microbiología Hospital.....	Cultivo de dispositivos totalmente implantables	PNT-CIV-04	
		Edición N° 01	Página 3 de 5

#### 4. MUESTRAS

La muestra a procesar es el dispositivo completo (punta y reservorio) en pacientes con sospecha de infección sistémica. Este dispositivo debe enviarse al laboratorio de Microbiología en un frasco estéril de boca ancha.

La muestra debe ir acompañada de un volante o petición electrónica donde se detalle el tipo de catéter y la localización anatómica.

En caso de no poder procesar la muestra inmediatamente, ésta se puede guardar refrigerada a 4°C durante un tiempo no superior a 6 días.

#### 5. MEDIOS DE CULTIVO, REACTIVOS Y PRODUCTOS

##### Medios de cultivo:

Agar Columbia con 5-10% de sangre de carnero

##### Medios de suspensión:

Suero salino estéril

#### 6. APARATOS Y MATERIAL

- Estufa de cultivo a 35°C ±2°C con control de temperatura
- Baño de ultrasonidos (sonicador)
- Agitador vórtex
- Asa de siembra
- Pinzas estériles
- Placa de Petri estéril
- Micropipeta de 200 µL
- Puntas estériles de 200 µL
- Bisturí n° 22
- Torunda sin medio
- Sacabocados de biopsia cutánea (punch)
- Envase de desechos biológicos

#### 7. PROCEDIMIENTO (ver video 4)

Se realizará el procesamiento por orden secuencial tal como se indica a continuación.

##### 7.1. CULTIVO DE LA PUNTA

**Siembra:** sobre una placa de Petri estéril, con un bisturí y con la ayuda de unas pinzas estériles, se cortan los 5 cm distales de la punta y se rueda el segmento del catéter hacia delante y atrás 3 o 4 veces sobre la superficie de una placa de agar sangre. Etiquetar la placa como “punta”.

**Incubación:** incubar la placa sembrada a una temperatura de 35°C en condiciones de aerobiosis durante no menos de 48 h y, opcionalmente hasta 96 h.

Servicio / Unidad de Microbiología Hospital.....	Cultivo de dispositivos totalmente implantables	PNT-CIV-04	
		Edición N° 01	Página 4 de 5

## 7.2. CULTIVO EXTERIOR DEL RESERVORIO POR SONICACIÓN

**Preparación:** sobre una placa de Petri estéril, con un bisturí y con la ayuda de unas pinzas estériles, se corta el reservorio del resto de la punta y se introduce en un tubo estéril de boca ancha con 20 mL de suero salino estéril.

**Sonicación:** agitar en vórtex unos segundos el tubo e introducirlo en baño de ultrasonidos. Sonicar durante 1 min a 35.000 Hz y 125 W seguido de 15 segundos de vórtex vigoroso.

**Siembra:** con una micropipeta se siembran 100 µL del sonicado en una placa de agar sangre y con el asa de siembra se realiza cultivo en modo cuantitativo por toda la superficie de la placa. Etiquetar la placa como "sonicado".

**Incubación:** incubar la placa sembrada a una temperatura de 35°C en condiciones de aerobiosis durante no menos de 48 h y, opcionalmente hasta 96 h.

## 7.3. CULTIVO INTERIOR DEL RESERVORIO

**Preparación:** una vez sonicado el reservorio, se extrae del tubo y se deposita en placa de Petri estéril. Con el sacabocados y la ayuda de unas pinzas estériles se extrae la membrana de silicona y se introduce una torunda seca en el agujero frotando por toda la superficie interior arrastrando todo el material que pueda haber.

**Siembra:** con la torunda realizar cultivo cualitativo sobre placa de agar sangre. Etiquetar la placa como "punch".

**Incubación:** incubar la placa sembrada a una temperatura de 35°C en condiciones de aerobiosis durante no menos de 48 h y, opcionalmente hasta 96 h.

## 7.4. LECTURA

Examinar las placas de agar sangre diariamente.

Si existe crecimiento de colonias efectuar su recuento.

Tanto si existe como si no crecimiento bacteriano prolongar la incubación al menos durante 24 h más y, opcionalmente hasta 96 h, realizando lecturas diarias.

### 1. Cultivo de la punta:

En aquellos cultivos en los que se obtiene un crecimiento de unidades formadoras de colonias (ufc)  $\geq 15$  por placa se efectuará la identificación de género y especie según los procedimientos de identificación del laboratorio. El estudio de sensibilidad a los antimicrobianos se realizará según el PNT correspondiente.

### 2. Cultivo exterior del reservorio por sonicación:

Si existe crecimiento de colonias efectuar su recuento. Los recuentos se expresarán como ufc/mL mediante la multiplicación del nº ufc/placa por 10.

En aquellos cultivos en los que se obtiene un crecimiento de colonias  $\geq 100$ /mL se efectuará la identificación de género y especie según los procedimientos de identificación del laboratorio. El estudio de sensibilidad a los antimicrobianos se realizará según el PNT correspondiente.

### 3. Cultivo interior del reservorio:

Si existe crecimiento de colonias, independientemente del recuento, se efectuará la identificación de género y especie según los procedimientos de identificación del laboratorio. El estudio de sensibilidad a los antimicrobianos se realizará según el PNT correspondiente.

Servicio / Unidad de Microbiología Hospital.....	Cultivo de dispositivos totalmente implantables	PNT-CIV-04	
		Edición N° 01	Página 5 de 5

## 8. OBTENCIÓN Y EXPRESIÓN DE RESULTADOS

El nombre de la prueba se indicará como “*Cultivo de reservorio totalmente implantable*”.

Si en el cultivo de ninguna de las tres muestras no se observa crecimiento de microorganismos, informar como: negativo.

Si en el cultivo de la punta y del exterior del reservorio se observa crecimiento de microorganismos <15 ufc o <100 ufc/mL, respectivamente, y el cultivo del interior del reservorio es estéril, informar como: recuento no significativo.

Si en el cultivo de la punta y/o del exterior del reservorio se observa crecimiento de microorganismos  $\geq 15$  ufc o  $\geq 100$  ufc/mL, respectivamente, y/o del interior del reservorio (cualquier recuento) informar como: recuento significativo, y especificar si la positividad ha sido de la punta y/o exterior del reservorio y/o interior del reservorio. Opcionalmente informar en qué parte se han encontrado mayor número de recuentos, ya que se puede asumir que existe una relación proporcional entre el número de microorganismos y el riesgo de infección.

## 9. RESPONSABILIDADES

Básicamente serán las siguientes:

Área de recogida y procesamiento de muestras: recepción, identificación y procesamiento de las muestras. Rechazo de las muestras remitidas en condiciones defectuosas y adopción de medidas correctoras.

Personal técnico: lectura de las placas e identificación presuntiva de los microorganismos. Registro de resultados. Archivo de hojas de trabajo.

Facultativo responsable: Supervisión del trabajo y de los resultados, resolución de dudas técnicas, interconsultas, adopción de medidas correctoras de errores cometidos, firma de informes de resultados.

## 10. ANOTACIONES AL PROCEDIMIENTO

Se considerará como resultado positivo la positividad del cultivo de cualquiera de las tres partes procesadas (teniendo en cuenta los recuentos de ufc en aquellos cultivos semicuantitativos o cuantitativos). En base a este criterio, cualquier microorganismo que se cultive en cantidad suficiente se considerará como potencialmente patógeno y se deberá identificar en género y especie.

De manera excepcional, en aquellos casos en los que exista alta sospecha de infección relacionada con el dispositivo y el paciente haya estado sometido en los días previos a tratamiento antibiótico a través del dispositivo, se podrán realizar técnicas moleculares sobre el contenido del interior del reservorio.

## 11. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Con la realización de este procedimiento no se detectan las infecciones asociadas a catéteres por microorganismos de crecimiento lento (por ejemplo, micobacterias no tuberculosas). Asimismo, no se detectan las infecciones asociadas a catéteres causadas por microorganismos que no crecen en las condiciones establecidas (*Malassezia* spp., microorganismos del género *Corynebacterium* lipofílicos, *Haemophilus* spp., *Propionibacterium* spp.). En caso de alta sospecha de colonización por alguno de estos microorganismos se pueden añadir medios de cultivos y condiciones y tiempos de incubación específicos.

El tratamiento antimicrobiano administrado a través del dispositivo previo a la obtención de la muestra puede alterar los resultados de los cultivos.

Servicio / Unidad de Microbiología Hospital.....	Cultivo de dispositivos totalmente implantables	PNT-CIV-04	
		Edición N° 01	Página 5 de 5

## 12. BIBLIOGRAFÍA

1. Bouza E, Martín-Rabadán P, Echenagusia A, Camúñez F, Rodríguez-Rosales G, Simó G, Echenagusia M, Guembe M; GEIDI study group. Diagnosis of venous access port colonization requires cultures from multiple sites: should guidelines be amended? *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2014; 78:162-7.
2. Douard MC, Arlet G, Longuet P, Troje C, Rouveau M, Ponscarne D, Eurin B. Diagnosis of venous access port-related infections. *Clin Infect Dis* 1999; 29:1197-202.
3. Guembe M, Martin-Rabadan P, Echenagusia A, Camunez F, Rodriguez-Rosales G, Simo G, *et al*. How should long-term tunneled central venous catheters be managed in microbiology laboratories in order to provide an accurate diagnosis of colonization? *J Clin Microbiol* 2012; 50:1003-7.
4. Mermel LA, Allon M, Bouza E, Craven DE, Flynn P, O'Grady NP, Raad II, Rijnders BJ, Sherertz RJ, Warren DK. Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of intravascular catheter-related infection: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2009;49:1-45.
5. Whitman ED, Boatman AM. Comparison of diagnostic specimens and methods to evaluate infected venous access ports. *Am J Surg* 1995; 170:665-9.



Servicio / Unidad de Microbiología Hospital.....	Cultivos superficiales (piel, conexiones/conectores)	PNT-CIV-05	
		Edición N° 02	Página 1 de 5

# PNT-CIV-05

## Cultivos superficiales (piel, conexiones/conectores)

ELABORADO		REVISADO Y APROBADO	
Nombre / Firma	Fecha	Nombre / Firma	Fecha

EDICIÓN	FECHA	ALCANCE DE LAS MODIFICACIONES
01	2004	Edición inicial
02	2018	Actualización e incorporación del procedimiento de cultivo de conectores cerrados (7.2 y 7.3)

COPIA REGISTRADA N°.....ASIGNADA A.....

Este documento es propiedad del Servicio de Microbiología del Hospital/Centro.....  
La información en él contenida no podrá reproducirse total ni parcialmente sin autorización escrita del Responsable de su elaboración. Las copias no registradas no se mantienen actualizadas a sus destinatarios.

Servicio / Unidad de Microbiología Hospital.....	Cultivos superficiales (piel, conexiones/conectores)	PNT-CIV-05	
		Edición N° 01	Página 2 de 5

## 1. PROPÓSITO Y ALCANCE

Descripción de la sistemática de procesamiento, lectura e interpretación de los cultivos superficiales de la piel que rodea el punto de inserción del catéter y de las conexiones y los conectores cerrados del mismo para el diagnóstico microbiológico de colonización de vías vasculares y el estudio de infecciones asociadas a dichos catéteres.

## 2. FUNDAMENTO

La contaminación de los dispositivos intravasculares es una causa frecuente y grave de infección hospitalaria. El cultivo de dicho catéter tiene el objetivo de identificar la causa de una bacteriemia/candidemia y puede ayudar al clínico a determinar si ésta es debida al catéter y actuar en consecuencia.

Sin embargo, cuando la retirada del catéter no es posible o éste se quiere mantener, hay descritos diferentes métodos conservadores de diagnóstico de bacteriemia y/o infección asociada a catéter que poseen un elevado valor predictivo negativo y evalúan de manera conjunta la posible colonización intra y extraluminal del catéter.

Este procedimiento se aplicará a las muestras recibidas en torunda (para las que se soliciten cultivos superficiales de piel y conexión de catéter) y a los conectores cerrados retirados y enviados al laboratorio de Microbiología para su procesamiento.

## 3. DOCUMENTOS DE CONSULTA

- Alados Arboledas JC, Gómez García de la Pedrosa E, Leiva León J, Pérez Sáenz JL, Rojo Molinero E. Seguridad en el laboratorio de Microbiología Clínica. 10a. Pérez Sáenz JL (coordinador). Procedimientos en Microbiología Clínica. Cercenado Mansilla E, Cantón Moreno R (editores). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 2014. Disponible en <http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia10a.pdf>
- García-Lechuz Moya JM, González López JJ, Orta Mira N, Sánchez Romero MI. Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el Laboratorio de Microbiología. 2017. 1b. Sánchez Romero MI (coordinadora). Procedimientos en Microbiología Clínica. Cercenado Mansilla E, Cantón Moreno R (editores). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 2017. Disponible en <http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia1b.pdf>
- Documentos de instrucciones correspondientes a aquellos sistemas comerciales para identificación y antibiograma que se utilicen.

## 4. MUESTRAS

**Piel peri-catéter:** se debe frotar con una torunda regular de algodón la piel que rodea los 2-3 cm del punto de inserción del catéter. Una vez realizada la toma se debe identificar con los datos del paciente.

**Conexión del catéter:** se debe frotar con una torunda fina el interior de las conexiones y girar 2 o 3 veces (previa retirada del tapón). En los catéteres multi-lumen se debe tomar una muestra por cada conexión. Una vez realizada la toma se debe identificar con los datos del paciente y de la conexión a la que pertenece. Una buena medida es identificar las muestras con el color de cada conexión.

Servicio / Unidad de Microbiología Hospital.....	Cultivos superficiales (piel, conexiones/conectores)	PNT-CIV-05	
		Edición N° 01	Página 3 de 5

**Conectores cerrados:** ante sospecha de infección y en caso de realizar recambio de los conectores de las conexiones, se pueden enviar (conjuntamente los de la misma luz) para cultivo al laboratorio de Microbiología en frasco estéril de boca ancha debidamente identificados con los datos de paciente y de la conexión a la que pertenecen. Una buena medida es identificar las muestras con el color de cada conexión.

## 5. MEDIOS DE CULTIVO, REACTIVOS Y PRODUCTOS

### Medios de cultivo:

Agar Columbia con 5-10% de sangre de cordero

### Medios de enriquecimiento:

Brain Heart Infusion (BHI) o Tryptic Soy Broth (TSB), 20 mL en frasco estéril

## 6. APARATOS Y MATERIAL

- Estufa de cultivo a 35°C ±2°C con control de temperatura
- Asa de siembra
- Pinzas estériles
- Placa de Petri estéril
- Micropipeta de 200 µl
- Puntas estériles de 200 µl
- Tubos o frascos estériles
- Bisturí n° 22
- Envase de desechos biológicos
- Frasco estéril de boca ancha
- Torunda regular
- Torunda fina

## 7. PROCEDIMIENTO (ver video 5)

### 7.1. REALIZACIÓN DE LA TÉCNICA DE CULTIVOS SUPERFICIALES

#### Siembra:

- Piel: realizar la siembra semicuantitativamente ocupando toda la superficie de la placa en placa de agar sangre.
- Conexiones: realizar la siembra semicuantitativamente ocupando toda la superficie de la placa en placa de agar sangre.

**Incubación:** incubar la placa sembrada a una temperatura de 35°C en condiciones de aerobiosis durante no menos de 48 h y, opcionalmente hasta 96 h.

### 7.2. REALIZACIÓN DE LA TÉCNICA DE CULTIVO DE CONECTORES

**Preparación:** es importante que a la llegada de la muestra al laboratorio se anoten el número de conectores recibidos por conexión (ya que puede variar entre 1 a 3 aproximadamente, dependiendo del tipo de luz), ya que se tendrá en cuenta a la hora de expresar los resultados.

**Instilación:** instilar a través de las luces de los conectores aproximadamente 100 µL (2 gotas) de caldo BHI o TSB y recogerlo directamente en placa de agar sangre.

**Siembra:** sembrar con un asa por toda la superficie de la placa.

Servicio / Unidad de Microbiología Hospital.....	Cultivos superficiales (piel, conexiones/conectores)	PNT-CIV-05	
		Edición N° 01	Página 4 de 5

**Incubación:** incubar la placa sembrada a una temperatura de 35°C en condiciones de aerobiosis durante no menos de 48 h y, opcionalmente hasta 96 h.

### 7.3. LECTURA

Examinar las placas de agar sangre diariamente.

Si existe crecimiento de colonias efectuar su recuento.

Tanto si existe como si no crecimiento bacteriano prolongar la incubación al menos durante 24 h más y, opcionalmente hasta 96 h, realizando lecturas diarias.

#### **Cultivo de torundas:**

En aquellos cultivos en los que se obtiene un crecimiento de unidades formadoras de colonias (ufc)  $\geq 15$  por placa se efectuará la identificación de género y especie según los procedimientos de identificación del laboratorio. El estudio de sensibilidad a los antimicrobianos se realizará según el PNT correspondiente.

#### **Cultivo de conectores:**

Si existe crecimiento de colonias efectuar su recuento. Los recuentos se expresarán como ufc/placa y se efectuará la identificación de género y especie según los procedimientos de identificación del laboratorio. El estudio de sensibilidad a los antimicrobianos se realizará según el PNT correspondiente.

## 8. OBTENCIÓN Y EXPRESIÓN DE RESULTADOS

El nombre de las pruebas se indicará como “Cultivo semicuantitativo de piel”, “Cultivo semicuantitativo de conexiones”, y “Cultivo de conectores”.

Si en el cultivo no se observa crecimiento de microorganismos, informar como: negativo.

Si en el cultivo de torundas se observa crecimiento de microorganismos  $< 15$  ufc/placa, informar como: recuento no significativo.

Si en el cultivo de torundas hay crecimiento de microorganismos  $\geq 15$  ufc/placa, informar como: recuento significativo.

Si en el cultivo de conectores hay crecimiento de microorganismos en cualquier recuento, informar como: se aíslan n° ufc/placa. Se informarán conjuntamente los resultados de los cultivos de los conectores pertenecientes a una misma luz, detallando por tanto el n° total.

## 9. RESPONSABILIDADES

Básicamente serán las siguientes:

Área de recogida y procesamiento de muestras: recepción, identificación y procesamiento de las muestras.

Rechazo de las muestras remitidas en condiciones defectuosas y adopción de medidas correctoras.

Personal técnico: lectura de las placas e identificación presuntiva de los microorganismos. Registro de resultados. Archivo de hojas de trabajo.

Facultativo responsable: Supervisión del trabajo y de los resultados, resolución de dudas técnicas, interconsultas, adopción de medidas correctoras de errores cometidos, firma de informes de resultados.

## 10. ANOTACIONES AL PROCEDIMIENTO

Cualquier microorganismo que se cultive en cantidad suficiente se considera como potencialmente patógeno y debe ser valorado.

Servicio / Unidad de Microbiología Hospital.....	Cultivos superficiales (piel, conexiones/conectores)	PNT-CIV-05	
		Edición N° 01	Página 5 de 5

Es importante tener en cuenta que la negatividad de esta técnica descarta la infección relacionada con el catéter, pero su positividad no implica necesariamente una infección. Por ello, generalmente bastará con la identificación presuntiva de los microorganismos aislados a partir de muestras de piel y de conexiones/conectores, y solamente serán identificados a nivel de especie y se les realizará antibiograma si se solicita específicamente. La técnica de cultivo de conectores está basada en estudios realizados en catéteres venosos centrales de corta duración. Su aplicación a otras tipologías de catéter debe ser previamente valorada.

## 11. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Con la realización de este procedimiento no se detectan las infecciones asociadas a catéteres por microorganismos de crecimiento lento (por ejemplo, micobacterias no tuberculosas). Asimismo, no se detectan las infecciones asociadas a catéteres causadas por microorganismos que no crecen en las condiciones establecidas (*Malassezia* spp., microorganismos del género *Corynebacterium* lipofílicos, *Haemophilus* spp., *Propionibacterium* spp.). En caso de alta sospecha de colonización por alguno de estos microorganismos se pueden añadir medios de cultivos y condiciones y tiempos de incubación específicos.

El tratamiento antimicrobiano administrado a través del dispositivo previo a la obtención de la muestra puede alterar los resultados de los cultivos.

## 12. BIBLIOGRAFÍA

1. Cercenado E, Ena J, Rodríguez-Créixems M, Romero I, Bouza E. A conservative procedure for the diagnosis of catheter related infections. Arch Intern Med 1990; 150:1417-1420.
2. Mermel LA, Allon M, Bouza E, Craven DE, Flynn P, O'Grady NP, Raad II, Rijnders BJ, Sherertz RJ, Warren DK. Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of intravascular catheter-related infection: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis 2009; 49:1-45.
3. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC (Eds). Manual of Clinical Microbiology. 9ª Ed. ASM Press. Washington DC. 2007.
4. Pérez-Granda MJ, Guembe M, Cruces R, Bouza E. Vascular catheter colonization: surveillance based on culture of needleless connectors. Crit Care 2016; 20:160.
5. Pérez-Granda MJ, Guembe M, Cruces R, Barrio JM, Bouza E. Assessment of central venous catheter colonization using surveillance culture of withdrawn connectors and insertion site skin. Crit Care. 2016; 20:32.
6. Ysenberg HD. Clinical Microbiology Procedures Handbook. (4º Ed). ASM Press. Washington D.C. 2016.

Servicio / Unidad de Microbiología Hospital.....	Hemocultivos cuantitativos mediante el método de lisis-centrifugación	PNT-CIV-06	
		Edición N° 02	Página 1 de 5

## PNT-CIV-06

### Hemocultivos cuantitativos mediante el método de lisis-centrifugación

ELABORADO		REVISADO Y APROBADO	
Nombre / Firma	Fecha	Nombre / Firma	Fecha

EDICIÓN	FECHA	ALCANCE DE LAS MODIFICACIONES
01	2004	Edición inicial
02	2018	Actualización e incorporación de subsección 7.3. (control de calidad)

COPIA REGISTRADA N°.....ASIGNADA A.....

Este documento es propiedad del Servicio de Microbiología del Hospital/Centro.....  
La información en él contenida no podrá reproducirse total ni parcialmente sin autorización escrita del Responsable de su elaboración. Las copias no registradas no se mantienen actualizadas a sus destinatarios.

Servicio / Unidad de Microbiología Hospital.....	Hemocultivos cuantitativos mediante el método de lisis-centrifugación	PNT-CIV-06	
		Edición N° 02	Página 2 de 5

## 1. PROPÓSITO Y ALCANCE

Descripción, lectura e interpretación de la técnica de hemocultivos cuantitativos extraídos a través del catéter y de la vía periférica para el diagnóstico microbiológico de bacteriemia relacionada con catéter.

## 2. FUNDAMENTO

La contaminación de los dispositivos intravasculares es una causa frecuente y grave de infección hospitalaria. El cultivo de dicho catéter tiene el objetivo de identificar la causa de una bacteriemia/candidemia y puede ayudar al clínico a determinar si ésta es debida al catéter y actuar en consecuencia.

Sin embargo, cuando la retirada del catéter no es posible o éste se quiere mantener, hay descritos diferentes métodos conservadores de diagnóstico de bacteriemia y/o infección asociada a catéter, como los hemocultivos cuantitativos mediante lisis-centrifugación. Estos métodos no requieren la retirada del catéter y se basan en que, en las bacteriemias relacionadas con catéter, el número de microorganismos/mL de la sangre obtenida a través de la luz del catéter es proporcionalmente mayor (3:1) que el número de microorganismos/mL de la sangre extraída a través de una vía periférica del mismo paciente. Este fundamento se aplicará en las muestras de sangre en las que se soliciten hemocultivos cuantitativos por el método de lisis-centrifugación.

## 3. DOCUMENTOS DE CONSULTA

- Alados Arboledas JC, Gómez García de la Pedrosa E, Leiva León J, Pérez Sáenz JL, Rojo Molinero E. Seguridad en el laboratorio de Microbiología Clínica. 10a. Pérez Sáenz JL (coordinador). Procedimientos en Microbiología Clínica. Cercenado Mansilla E, Cantón Moreno R (editores). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 2014. Disponible en <http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia10a.pdf>
- García-Lechuz Moya JM, González López JJ, Orta Mira N, Sánchez Romero MI. Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el Laboratorio de Microbiología. 2017. 1b. Sánchez Romero MI (coordinadora). Procedimientos en Microbiología Clínica. Cercenado Mansilla E, Cantón Moreno R (editores). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 2017. Disponible en <http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia1b.pdf>
- Guna Serrano R, Larrosa Escartín N, Marín Arriaza M, Rodríguez Díaz JC. Diagnóstico microbiológico de la bacteriemia y la fungemia: hemocultivos y métodos moleculares. 2017. 62. Rodríguez Díaz JC (coordinador). Procedimientos en Microbiología Clínica. Cercenado Mansilla E, Cantón Moreno R (editores). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 2017. Disponible en <http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia62.pdf>
- Del Pozo León JL, Díez Aguilar M, Guinea Ortega J, Maciá Romero MD. Diagnóstico microbiológico de las infecciones relacionadas con la formación de biopelículas. 60. Maciá Romero, MD (coordinadora). Procedimientos en Microbiología Clínica. Cercenado Mansilla E, Cantón Moreno R (editores). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 2017. Disponible en <http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia60.pdf>
- Documentos de instrucciones correspondientes a aquellos sistemas comerciales para identificación y antibiograma que se utilicen.

Servicio / Unidad de Microbiología Hospital.....	Hemocultivos cuantitativos mediante el método de lisis-centrifugación	PNT-CIV-06	
		Edición N° 02	Página 3 de 5

## 4. MUESTRAS

Se realizará una extracción de 10 mL de sangre (exactos) a través de cada una de las luces del catéter y de una vena periférica (las medidas de desinfección de la piel serán iguales a las observadas en los protocolos de extracción de hemocultivos convencionales, ver PNT-HMM-01 Procesamiento de hemocultivos en el procedimiento n° 62 y el procedimiento sobre recogida de muestras 1b). Cada una de las muestras de sangre se introduce en un tubo de lisis-centrifugación, cuyo tapón ha sido previamente desinfectado. Se rotulan y etiquetan cada una de las muestras de sangre, especificando correctamente la procedencia (cada una de las conexiones, especificando, por ejemplo, el color de las mismas para diferenciarlas, y la vía periférica). Se rotulan/etiquetan cada una de las peticiones (volante/electrónica).

## 5. MEDIOS DE CULTIVO, REACTIVOS Y PRODUCTOS

### Material:

Frascos de lisis-centrifugación (Isolator, Oxoid®).

### Medios de cultivo:

Agar Columbia con 5-10% de sangre de cordero

Agar chocolate

Agar *Brucella* suplementado con hemina y vitamina K, u otros medios para el cultivo de anaerobios

**Otros medios** (según necesidad del laboratorio de Microbiología. Ver PNT-HMM-01 Procesamiento de hemocultivos en el procedimiento n° 62).

## 6. APARATOS Y MATERIAL

- Estufa de cultivo a 35°C ±2°C con control de temperatura
- Neveras (para reactivos y placas de cultivos)
- Cabina de seguridad biológica clase IIA
- Perforador de tapones de tubos de lisis-centrifugación
- Pipetas adaptables a los tubos de lisis-centrifugación
- Agitador Vórtex
- Centrifuga (3000xg)
- Sistema de incubación de placas en anaerobiosis
- Microscopio óptico

## 7. PROCEDIMIENTO

### 7.1. REALIZACIÓN DE LA TÉCNICA

#### Siembra:

- Centrifugar la sangre del tubo de lisis-centrifugación a 3000xg durante 30 minutos.
- Desinfectar los tapones de los tubos de lisis-centrifugación con clorhexidina y perforar el tapón con el aparato específico, descartando el sobrenadante con pipeta.
- Resuspender el sedimento con el agitador vórtex.
- Repartir el sedimento (aproximadamente 1 mL) en partes iguales en las placas de medios de cultivo (agar sangre, agar chocolate, agar *Brucella*...), sembrando por técnica de recuento (por toda la superficie de la placa).



Servicio / Unidad de Microbiología Hospital.....	Hemocultivos cuantitativos mediante el método de lisis-centrifugación	PNT-CIV-06	
		Edición N° 02	Página 4 de 5

**Incubación:**

- Incubar las placas de agar sangre a temperatura de 35°C y de agar chocolate en estufa de CO<sub>2</sub> a temperatura de 35°C durante 48 h. Las placas de agar *Brucella* se introducirán en campanas con atmósfera de anaerobiosis y se incubarán igualmente a 35°C durante 48 h.

**7.2. LECTURA**

Examinar las placas entre las 18 h y 24 h, las de anaerobiosis a las 48 h.

Si existe crecimiento efectuar un recuento de colonias, sumando las colonias de todas las placas sembradas, y realizando el cálculo de ufc/mL, (teniendo en cuenta que se ha sembrado 1mL de sedimento en cada placa, procedente de 10 mL de sangre centrifugada). Se procederá a la identificación de género y especie y a la realización del estudio de sensibilidad según cada protocolo establecido por cada laboratorio.

Si no existe crecimiento, incubar las placas otras 24 h y hasta 5 días, antes de considerar la muestra negativa.

**7.3. CONTROL DE CALIDAD**

Se realizará semestralmente un control de calidad interno utilizando frascos de lisis-centrifugación, a fin de valorar la calidad de los frascos, y el correcto procesamiento de los mismos por los técnicos de cada laboratorio.

Para ello se realizará el siguiente ensayo:

- 1.- Utilizar cultivos frescos de 18-24 h de una de las cepas de referencia (*E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923, y *P. aeruginosa* ATCC 27853).
- 2.- Preparar una suspensión ajustada para alcanzar una turbidez comparable con un 0.5 McFarland en 10 mL de suero fisiológico.
- 3.- Inocular un frasco de lisis-centrifugación con la suspensión de la cepa ATCC. Inocular otro frasco de lisis-centrifugación con 10 mL de suero fisiológico.
- 4.- Proceder a la centrifugación de los frascos, extracción de sobrenadante, resuspensión del sedimento y siembra e incubación de 1mL de dicho sedimento en una placa de agar sangre por recuento.

El procedimiento de control de calidad se registrará en la hoja de registro correspondiente, indicando la fecha y la firma del personal técnico que lo realiza.

**8. OBTENCIÓN Y EXPRESIÓN DE RESULTADOS**

El nombre de las pruebas se indicará como "*Hemocultivos cuantitativos mediante el método de lisis-centrifugación*".

Si en el cultivo de la sangre obtenida a través de las conexiones del catéter no se observa crecimiento de microorganismos, informar como: negativo. En este caso se descarta prácticamente que el catéter sea la causa de la bacteriemia del paciente.

Si en alguno de los cultivos de la sangre obtenida a través de las conexiones del catéter existe crecimiento, se realizará el recuento en ufc/mL comparando con el recuento en ufc/mL de los cultivos obtenidos por la vía periférica. Si el número de bacterias de la sangre obtenida a través del catéter es 3 veces superior al número de bacterias de la sangre obtenida por la vía periférica, aislándose en ambos casos la misma especie bacteriana, informar como: bacteriemia de probable origen en el catéter.

En el informe hay que expresar los resultados de la sangre obtenida por el catéter y obtenida por vía periférica en ufc/mL.

Servicio / Unidad de Microbiología Hospital.....	Hemocultivos cuantitativos mediante el método de lisis-centrifugación	PNT-CIV-06	
		Edición N° 02	Página 5 de 5

## 9. RESPONSABILIDADES

Básicamente serán las siguientes:

Área de recogida y procesamiento de muestras: recepción, identificación y procesamiento de las muestras. Rechazo de las muestras remitidas en condiciones defectuosas y adopción de medidas correctoras.

Personal técnico: lectura de las placas e identificación presuntiva de los microorganismos. Registro de resultados. Archivo de hojas de trabajo.

Facultativo responsable: Supervisión del trabajo y de los resultados, resolución de dudas técnicas, interconsultas, adopción de medidas correctoras de errores cometidos, firma de informes de resultados.

## 10. ANOTACIONES AL PROCEDIMIENTO

Se debe informar el crecimiento de cualquier microorganismo en cualquiera de los cultivos.

## 11. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Este procedimiento es laborioso y caro, requiriéndose un alto grado de manipulación de las muestras que incrementa el riesgo de contaminación de la muestra. Por estas razones no está implantado en muchos laboratorios de Microbiología, si bien mantiene su utilidad en pacientes críticos y complicados en los que no se puede retirar el catéter.

Este procedimiento no detecta las infecciones asociadas a catéteres por microorganismos de crecimiento lento (por ejemplo, micobacterias no tuberculosas). Asimismo, no detecta las infecciones asociadas a catéteres causadas por microorganismos que no crecen en las condiciones establecidas (*Malassezia* spp., microorganismos del género *Corynebacterium* lipofílicos), en caso de alta sospecha de colonización por alguno de estos microorganismos se pueden añadir medios de cultivos y condiciones y tiempos de incubación específicos.

El tratamiento antimicrobiano administrado a través del dispositivo previo a la obtención de la muestra puede alterar los resultados de los cultivos.

## 12. BIBLIOGRAFÍA

1. Flynn PM, Shenep JL, Barrett FF. Differential quantitation with a commercial blood culture tube for diagnosis of catheter-related infection. *J Clin Microbiol* 1988;26:1045-6.
2. García RA, Spitzer ED, Beaudry J, Beck C, Diblasi R, Gilleeny-Blabac M, *et al.* Multidisciplinary team review of best practices for collection and handling of blood cultures to determinate effective interventions for increasing the yield of true-positive bacteremias, reducing contamination, and eliminating false-positive central line-associated bloodstream infections. *Am J Infect Control* 2015;43:1222-37.
3. Mosca R, Curtas S, Forbes B, Meguid MM. The benefits of Isolator cultures in the management of suspected catheter sepsis. *Surgery* 1987;102:718-23.
4. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC. *Manual of Clinical Microbiology* (Eds). 9ª Ed. ASM Press. Washington DC. 2007.
5. Wilson ML, Weinstein MP, Reller LB. *Laboratory Detection of Bacteremia and Fungemia* (11th Ed). *Manual of Clinical Microbiology*. Washington DC. 2015.