Evaluación del efecto de dos anticoagulantes sobre el desarrollo bacteriano en hemocultivos

T. M. C. Núñez, T. M. M. Wilson, T. M. L. Zaror.

INSTITUTO DE MICROBIOLOGIA CLINICA
FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE

Debido a la alta frecuencia de Septicemias y a la elevada mortalidad, que alcanza hoy en día del orden del 20 al 25%⁽⁶⁾ y entre el 60 y 80% cuando se presenta shock,⁽²⁾ es que los bacteriólogos tienen una preocupación permanente por mejorar la técnica del Hemocultivo con el fin de obtener cada vez mejores resultados y en un menor tiempo.

El procesamiento de las muestras de sangre para cultivo es una de las técnicas microbiológicas más variadas. Así la amplia variedad de frascos para Hemocultivos, equipos de toma de muestra, medios de cultivo y sustancias adicionales, hacen casi imposible una uniformidad de criterio.

Uno de los mayores problemas a que se enfrenta el laboratorista son los factores bactericidas normales del suero, que matan a las bacterias en el término de segundos,⁽⁵⁾ de modo que a menos que este efecto se diluya o se neutralice de inmediato, se impedirá o retardará el crecimiento de cualquier bacteria de una muestra de sangre. Una manera de contrarrestar estos efectos es diluyendo la sangre en caldo de cultivo en una proporción de al menos 1:20. Otra forma es adicionándole sustancias neutralizadoras como Citrato de sodio, Heparina o Polianetol sulfonato de sodio, que a la vez sirven de anticoagulantes.⁽⁶⁾

Sin embargo algunas de estas sustancias resultan ser tóxicas para un determinado grupo de microorganismos. Rammell⁽⁷⁾ demostró el efecto tóxico del Citrato de Sodio sobre los *Staphylococcus*.⁽¹⁾ Von Haebler y Miles⁽⁴⁾ demos-

traron que la mayoría de las bacterias sobreviven un tiempo mucho mayor en Hemocultivos que contengan Polianetol sulfonato de sodio como anticoagulantes en vez de Citrato de sodio.

Existen en la actualidad una serie de trabajos realizados con muestras clínicas y en forma experimental, que indican claramente la eficacia del Polianetol sulfonato de sodio como el mejor anticoagulante.^(1, 3, 8, 9, 11)

Teniendo como antecedentes los trabajos de Rammell⁽⁷⁾ y Rosner,⁽⁹⁾ en el que el Citrato de sodio al 1% resulta inhibitor para bacterias Gram positivas y que el Polianetol sulfonato de sodio es considerado como el mejor anticoagulante, es que nos propusimos evaluar los rendimientos de los Hemocultivos utilizando Citrato de sodio a una concentración diez veces más baja que lo habitual, en comparación con el Polianetol sulfonato de sodio a una concentración de 0,03%.

MATERIAL Y METODO

Se recolectaron entre abril y septiembre de 1975, 164 muestras provenientes de 57 pacientes pediátricos con diagnóstico probable de Septicemia.

Se inocularon 2 a 5 ml. de sangre en un frasco de Hemocultivo con 70 ml. de Caldo Trypticase de soja con Citrato de sodio al 0,1%. En otro frasco, conteniendo la misma cantidad de Caldo de cultivo utilizando Polianetol sulfonato de sodio al 0,03% como anticoagulante, se inocularon los 2 a 5 ml. restantes.^(1, 8)

Los frascos inoculados eran incubados a 35° C y se examinaron periódicamente durante 14 días.⁽³⁾ Toda unidad sin evidencia de desarrollo era resembrada cada 48 hrs. a placas de Agar

chocolate e incubadas en una atmósfera de CO₂ al 5 a 10%.

RESULTADOS

De las 164 muestras estudiadas, se obtuvieron 60 hemocultivos positivos, lo que da un 36,58% y 104 hemocultivos negativos que corresponden a un 63,4%, lo que se encuentra detallado en la Tabla N.º 1.

Tabla N.º 1

Número y porcentaje de hemocultivos positivos y negativos

Hemocultivos	Número	Porcentaje
Positivos	60	36,58
Negativos	104	63,4
Total	164	100

La Tabla N.º 2 muestra el número y porcentaje de muestras positivas para cada anticoagulante.

Tabla N.º 2

Número y porcentaje de muestras positivas para cada anticoagulante

Método aplicado	Resultados	
	Número	Porcentaje
Citrato de Na	48	80%
	54	90%
Citrato y Liquoid	42	70%

De los 60 Hemocultivos positivos un 80% lo fueron en el medio con Citrato de sodio y un 90% en el medio Liquoid.

El desglose de estos datos y la comparación del Citrato de sodio versus Polianetol sulfonato de sodio se encuentran detallados en la Tabla N.º 3.

Tabla N.º 3

Frecuencia de Hemocultivos positivos y negativos para cada anticoagulante

Citrato de sodio	Liquoid		
	+	-	Total
+	42	6	48
-	12	104	116
Total	54	110	164

De las 48 muestras positivas para Citrato de sodio, 42 de ellas lo fueron en el estudio con ambos anticoagulantes. 6 de las 48 fueron positivas sólo en el medio con Citrato de sodio.

De las 54 muestras positivas para Polianetol sulfonato de sodio, 12 lo fueron solamente en el medio con este anticoagulante.

Los microorganismos aislados con cada anticoagulante se detallan en la Tabla N.º 4.

Tabla N.º 4

Frecuencia de Microorganismos aislados con cada anticoagulante

Microorganismos	METODO		
	Citrato de sodio	Liquoid	Ambos
Staphylococcus aureus	7	10	6
Staphylococcus epidermidis	3	3	3
Streptococcus pneumoniae	6	3	3
Bacillus subtilis	1	1	1
Salmonella Grupo C	1	1	-
Klebsiella sp.	2	2	2
Mima polymorpha	2	6	2
Escherichia coli	6	8	5
Pseudomonas cepacia	7	7	7
Pseudomonas aeruginosa	3	3	3
Enterobacter sp.	5	5	5
Alcaligenes faecalis	1	1	1
Providencia	1	1	1
Salmonella typhi	1	1	1
Bacilos Gram negativos no identificados	2	2	2
Total	48	54	42

El número de aislamientos para bacterias Gram positivas y negativas con cada anticoagulante se encuentran detallados en la Tabla N.º 5.

Tabla N.º 5

Número y porcentaje de microorganismos Gram negativos y positivos aislados con cada anticoagulante

Microorganismos	Citrato de Na (48)		Liquoid (54)	
	N.º	%	N.º	%
Gram positivos	17	80,9	17	80,9
Gram negativos	31	79,48	37	94,87

De la Tabla N.º 5 se observa que no existe diferencia en el aislamiento de bacterias Gram positivas con ambos anticoagulantes. Para bacterias Gram negativas se observa un mayor aislamiento en el medio con Liquoid del orden del 14,5%.

DISCUSION

Teniendo en cuenta el efecto tóxico del Citrato de sodio reportado por Rammell y Rosner,^(7, 9) hemos probado un modelo con Citrato de sodio al 0,1%, concentración diez veces menor que la utilizada habitualmente. Al comparar nuestros hallazgos con el medio de Hemocultivo con Liquoid, se observa que respecto de las bacterias Gram positivas no hay diferencias en el porcentaje de aislamiento con uno u otro anticoagulante. Ello indica de acuerdo a los antecedentes previos que el Citrato de sodio a esta concentración y sin haber perdido su efecto anticoagulante, no estaría manifestando su efecto inhibidor.

Rosner⁽⁹⁾, utilizando medios de cultivo con una concentración final de Citrato de sodio al 1,4% y Liquoid en la misma concentración de nuestro estudio, encontró un 50% menos de aislamiento para bacterias Gram positivas en el medio con Citrato de sodio respecto del medio con Liquoid. Evans⁽¹⁾ reporta una drástica inhibi-

ción de *Streptococcus pyogenes* y *Staphylococcus aureus* en Hemocultivos experimentales con Citrato de sodio al 1%. Los hechos anteriores apoyan nuestra hipótesis de trabajo y las evidencias prestadas, ya que si se observa la Tabla N.º 4, se aprecia que para *Streptococcus pneumoniae* hubo un mayor aislamiento en los medios con Citrato de sodio.

Respecto de las bacterias Gram negativas, se observó una diferencia significativa en el número de aislamiento al aplicar la prueba T de Student ($p < 0,01$). Nuestros resultados son aproximadamente un 29% superiores a lo reportado por Rosner⁽⁹⁾ respecto al medio de Hemocultivo con Citrato de sodio.

Al comparar los resultados de los medios con Citrato de sodio versus Medios con Liquoid (ver Tabla N.º 3), se comprobó mediante el Test de ji cuadrado ($p < 0,05$) que existen diferencias significativas entre ambos métodos, lo cual haría aconsejable la incorporación del Polianetol sulfonato de sodio en Hemocultivos en nuestro país. Sin embargo, pensamos que utilizando el Citrato de sodio a la concentración de 0,1%, se lograrían mejores resultados que con las concentraciones actualmente en uso.

REFERENCIAS

- ¹ Evans, G. L., et al. 1968. Comparative effects of anticoagulants on bacterial growth in experimental blood culture. *Am. Jour of Med. Tec.* Vol. 34, N.º 2.
- ² Hall, W.H., and Gold, D. 1955. Shock associated with bacteriemia: review of 35 cases. *Arch. Intern. Med.* 96: 403-412.
- ³ Hall, M.; Warren, E. Washington 11, J.A. 1974. Detection of bacteriemia with Liquoid media containing Sodium polyanethol sulfonate, *Appl. Mic.* 27: 187-191.
- ⁴ Von Haebler, T., and Miles, A.A. 1938. The action of sodium polyanethol sulfonate (Liquoid) on blood culture. *J. Path. Bact.* 46: 245-252.
- ⁵ Lowrance, B.L. and Traub, W.H. 1969. Inactivation of the bactericidal activity of human serum by Liquoid. *Appl. Mic.* 17: 839.
- ⁶ Merril, S.L.; A. Davis, B. Smolens and S. M. Finegold. 1966. Cephalothin in serious bacterial infection, *Am. Intern. Med.* 64: 1-12.
- ⁷ Rammell, C.G. 1962. Inhibition by citrate of the growth of coagulase positive staphylococci. *J. Bact.* 84: 1123-1124.
- ⁸ Rosner, R.A. 1972. A quantitative evaluation of three blood culture systems. *Am. Jour. Clin. Path.* 57, 2.
- ⁹ Rosner, R. 1967. Effect of various anticoagulants and no anticoagulant on ability to isolate bacteria directly from parallel clinical blood specimens. *Am. Jour. Clin. Path.* 49: 216-219.
- ¹⁰ Sonnenwirth, A.C. y Col. Bacteriemia, Aspectos clínicos y de laboratorio. Editorial Médica Panamericana. 1975.
- ¹¹ Stuart, R.D. 1948. The Value of Liquoid for blood culture. *J. Clin. Path.* 1-311.

RESUMEN

Se evalúa el rendimiento de hemocultivo utilizando como anticoagulantes Citrato de sodio al 0,1% y Polianetol sulfonato de sodio al 0,03%. No se observan diferencias en los aislamientos para bacterias Gram positivas.

Para las bacterias Gram negativas se obtuvo una mayor aislamiento en el medio con Liquoid del orden del 14,5%, lo que nos lleva a preconizar la utilización en nuestro medio de este anticoagulante.

Sin embargo, utilizando el Citrato de sodio a la concentración probada (10 veces inferior a la utilización normalmente) se logran mejores resultados que con las concentraciones actualmente en uso.

ABSTRACT

A comparison of the hemocultures with sodium polyanethol sulfonate (0.03%) and sodium citrate (0.1%) as anticoagulants is conducted.

Not differences is observed with both anticoagulants in the isolation of Gram positive bacteria.

For the Gram negative rods we obtain a better isolation in the hemocultures with sodium polyanethol sulfonate in a range of 14,5%. Nevertheless our results by the using of sodium citrate at 0,1% suggest the use of this modification in the hemoculture in our country when sodium polyanethol sulfonate not is available.