

Estudio microbiológico de bacteriemias y fungemias en pacientes en hemodiálisis crónica

M.S. ZÁRATE^{1*}, L. JORDÁ VARGAS¹, A. LANZA¹, S. RELLOSO¹, C. DÍAZ², J. SMAYEVSKY¹

¹Laboratorio de Bacteriología, Micología y Parasitología; ²Sección de Nefrología.
Centro de Educación Médica e Investigaciones Clínicas "Norberto Quirno" (CEMIC).
Galván 4102 (1431) Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.
*Correspondencia. E-mail: sole_z@hotmail.com

RESUMEN

Las bacteriemias y fungemias constituyen la segunda causa de muerte en pacientes en hemodiálisis crónica (HDC) y el conocimiento de su epidemiología es útil para establecer terapias empíricas apropiadas. El objetivo de este estudio fue describir la frecuencia y distribución de microorganismos en bacteriemias y fungemias de 530 pacientes en HDC. Se analizaron 248 series de hemocultivos correspondientes a 114 pacientes con sospecha de bacteriemias. Se obtuvo un 44% de hemocultivos positivos, de los cuales el 71% (n=78), correspondientes a 58 episodios de bacteriemia, fueron considerados clínicamente significativos. El 68% de los aislamientos clínicamente significativos fueron cocos gram-positivos (n=53) y el 22% bacilos gram-negativos (BGN) (n=17). *Staphylococcus aureus* fue el patógeno prevalente con un 23% de meticilina-resistencia. *Candida* spp. ocupó el cuarto lugar de frecuencia.

Palabras clave: bacteriemias, fungemias, hemodiálisis

SUMMARY

Microbiologic study of bacteremia and fungemia in chronic hemodialysis patients. Bloodstream infections are the second cause of death in patients in chronic hemodialysis (CHD), and the knowledge of the epidemiology is useful to establish proper empiric therapies. The aim of this study was to evaluate the frequency and distribution of microorganisms, in bacteremia and fungemia in 530 patients in CHD. Two hundred and forty eight blood culture series from 114 patients with suspected bacteremia were processed; 44% of them were positive from which 71% (n=78) were clinically significant and belonged to 58 patients. Sixty eight percent of these isolates were gram-positive cocci (n:53), and 22% gram-negative rods (n:17). *Staphylococcus aureus* was the most prevalent pathogen showing 23% of methicillin-resistance. *Candida* spp. was the fourth pathogen most common in frequency.

Key words: bacteremia, fungemia, hemodialysis

Las bacteriemias y fungemias constituyen la segunda causa de muerte en hemodiálisis crónica. Los pacientes en hemodiálisis como tratamiento sustitutivo renal, tienen un alto riesgo de adquirir infecciones nosocomiales; en cada sesión, son expuestos a grandes cantidades de un baño de diálisis no estéril. Los procedimientos de reuso de dializadores, las maniobras relacionadas con la exposición de los accesos vasculares (punciones, conexión y desconexión de catéteres), son las otras razones de este mayor riesgo. A lo señalado se deben sumar los trastornos de la inmunidad y la alta tasa de internación y cirugías que torna a esta población más susceptible a este tipo de complicaciones (3, 7).

Las infecciones relacionadas a los distintos tipos de accesos vasculares constituyen una de las principales causas de la presencia de microorganismos viables en sangre (bacteriemias y fungemias). Por lo que la epidemiología de las bacteriemias y fungemias en pacientes en hemodiálisis, es similar a las bacteriemias relacionadas a catéteres en pacientes no expuestos a este procedimiento (1, 16).

Por otro lado, los microorganismos pueden acceder al torrente sanguíneo a través de los circuitos extracorpóreos necesarios para el procedimiento de hemodiálisis, por lo que se han descrito en centros de hemodiálisis brotes por bacilos gram-negativos no fermentadores de la glucosa, relacionándose estos episodios con la contaminación de las aguas de diálisis (19, 33).

Teniendo en cuenta el riesgo que implica la diálisis en las infecciones del torrente sanguíneo, la toma de hemocultivos en centros de hemodiálisis es un procedimiento frecuente, principalmente cuando el paciente presenta fiebre y escalofríos. El hallazgo de microorganismos viables en sangre en pacientes en hemodiálisis ha sido poco documentada (8, 13, 18, 29, 30, 33, 34) y no se han registrado datos para centros de hemodiálisis de Argentina.

En los últimos años se ha observado, en algunos centros de diálisis, un aumento de la resistencia a los antimicrobianos en los microorganismos aislados de pacientes hemodializados, principalmente a expensas de

Staphylococcus aureus meticilina-resistentes (SAMR), aunque se desconoce la frecuencia de este patógeno como causante de bacteriemia en pacientes en hemodiálisis crónica en Argentina (4).

Las estrategias para limitar el aumento de la resistencia antimicrobiana incluye la prevención de la infección, el diagnóstico rápido de los agentes etiológicos y el conocimiento de los patrones de resistencia antimicrobiana para poder orientar al médico en el tratamiento empírico y disminuir la morbi-mortalidad en este grupo de pacientes (4, 31, 37).

De lo expuesto, debido a que nuestro laboratorio procesa un gran número de muestras de hemocultivos provenientes de varios centros de diálisis, el objetivo general de este estudio fue describir la frecuencia y distribución de microorganismos en bacteriemias y fungemias en pacientes en hemodiálisis crónica. Los objetivos específicos de nuestro trabajo fueron: 1) establecer la tasa de positividad de hemocultivos provenientes de centros de hemodiálisis crónica; 2) analizar la frecuencia de bacteriemias/fungemias en los pacientes provenientes de estos centros a quienes se les tomaron hemocultivos; 3) establecer la frecuencia y distribución de los microorganismos aislados; 4) analizar los patrones de resistencia antimicrobiana de los agentes etiológicos prevalentes.

Desde el 1-1-2003 hasta el 1-5-2004 se procesaron un total de 248 series de hemocultivos (166 series de 2 muestras, 68 de 3, 4 de 4 y 10 de 1 muestra), correspondientes a 114 pacientes adultos con sospecha de bacteriemia provenientes de un total de 530 pacientes que se hemodializaban en 5 centros de hemodiálisis crónica de Buenos Aires. En todos los centros de hemodiálisis analizados rigen las mismas medidas preventivas de infecciones en la técnica de conexión al circuito de hemodiálisis.

Las muestras fueron recolectadas en botellas aeróbicas Bact-ALERT SA e incubadas durante un período de 5 días en el sistema automatizado de hemocultivos Bact-ALERT (*Biomérieux, Marcy, l'Étoile*, Francia). Aquellas botellas detectadas por el sistema como positivas fueron removidas, se les realizó coloración de Gram, subcultivos en agar chocolate y caldo tripticasa de soja. El caldo fue incubado a 35°C por un período de 4 hs. y según la coloración de Gram se realizaron marchas mínimas de identificación bioquímica y antibiograma presuntivo por el método de difusión a partir del caldo (21, 31).

De las colonias aisladas se completó la identificación fenotípica utilizando los esquemas de identificación bioquímica según Murray *et al.* (20), y se confirmó la sensibilidad por el método de difusión según normas del NCCLS 2004 (21).

Se evaluó la sensibilidad a ampicilina (10 µg), gentamicina (10 µg), oxacilina (1 µg), minociclina (30 µg), eritromicina (5 µg), rifampicina (5 µg), ciprofloxacina (5 µg), trimetoprima-sulfametoxazol (25 µg), vancomicina

(30 µg) y teicoplanina (30 µg) para cocos gram-positivos en racimos; ampicilina (10 µg), ampicilina-sulbactama (20 µg), cefalotina (30 µg), cefotaxima (30 µg), ceftacídima (30 µg), cefepima (30 µg), meropenem (10 µg), imipenem (10 µg), ciprofloxacina (5 µg), trimetoprima-sulfametoxazol (25 µg), amikacina (30 µg), gentamicina (10 µg) y colistina (10 µg) para bacilos gram-negativos. En caso de observarse cocos en cadena se evaluó ampicilina (10 µg), ciprofloxacina (5 µg), estreptomina de alta carga (300 µg), gentamicina de alta carga (120 µg), vancomicina (30 µg) y teicoplanina (30 µg). Se confirmó la resistencia a vancomicina según recomendaciones del NCCLS con placas de agar *screening* de 6 µg/ml (21).

Para la identificación de levaduras se utilizó formación de clamidosporos en agar leche, agar cromogénico CHROMagar *Candida* (*Company*, París, Francia) y API ID 32 C (*Biomérieux*, Francia). Los estudios de sensibilidad se realizaron según normas del NCCLS documento M27-A (22) y se evaluó sensibilidad a fluconazol, anfotericina B e itraconazol.

Para el análisis estadístico de los datos se utilizó el test de χ^2 (23).

Se procesaron un total de 248 series de hemocultivos, de las cuales 109 (44%) fueron positivas.

Los resultados fueron informados al médico tratante quien consideró clínicamente significativos aquellos aislamientos con correlato clínico evidente.

El 71% de los aislamientos positivos fueron clínicamente significativos ($n=78$), lo que correspondió a un 31% del total de hemocultivos recibidos. Estos correspondieron a 58 episodios de bacteriemias en 58 pacientes. El porcentaje de frascos de hemocultivos contaminados correspondió a 3% (9 fueron con flora polimicrobiana).

La prevalencia de bacteriemias/fungemias en los diferentes centros varió desde 1 a 30% (Tabla 1). Se observaron diferencias estadísticamente significativas en las frecuencias según los centros ($p<0,001$).

Del total de 78 hemocultivos clínicamente significativos, 53 aislamientos correspondieron a cocos gram-positivos (68%) y 17 a bacilos gram-negativos (22%). De *Candida* spp. se obtuvieron 7 aislamientos (9%). Se obtuvo un único aislamiento de bacilo gram-positivo correspondiente a *Corynebacterium afermentans* subsp. *afermentans*. La frecuencia de microorganismos se muestra en la Figura 1.

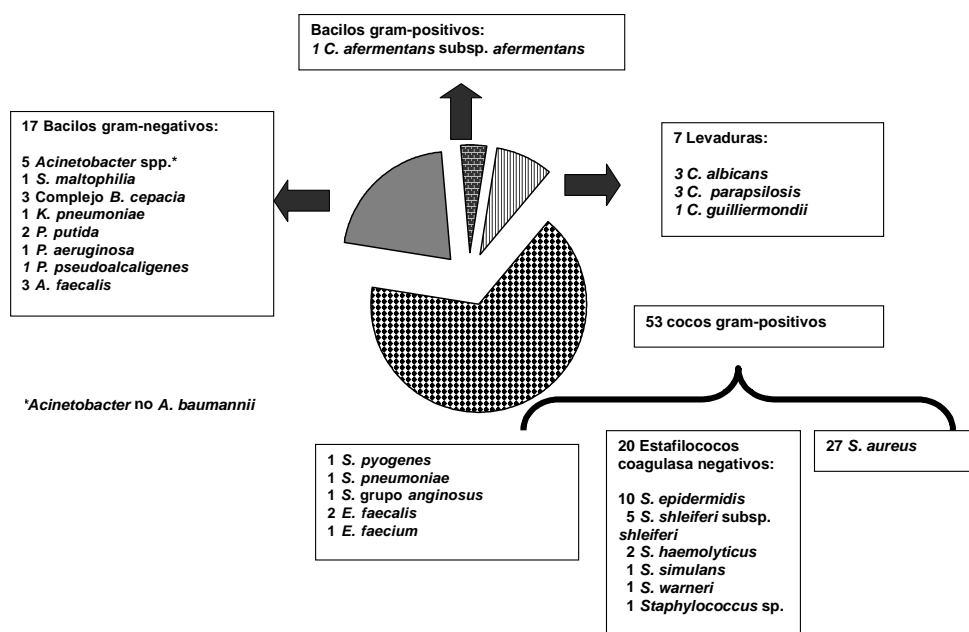
Con respecto a los estudios de sensibilidad se detectó un 23 y 60% de meticilina-resistencia en *Staphylococcus aureus* (SAMR) y estafilococos coagulasa negativos (ECN), respectivamente. Entre los aislamientos de SAMR la resistencia más frecuente asociada a antibióticos no β -lactámicos fue eritromicina (100%), gentamicina (80%) y rifampicina (60%).

Se obtuvo un aislamiento de *E. faecium* resistente a vancomicina y teicoplanina y sensible a linezolid.

Todos los aislamientos de *Candida* spp. analizados fueron sensibles a los antifúngicos evaluados.

Tabla 1. Hemocultivos correspondientes a los diferentes centros de hemodiálisis crónica (HD).

Centro	Pacientes que se hemodializan	Edad \bar{X} (rango)	Episodios documentados de bacteriemias/ fungemias	Bacteriemias/ fungemias /centro (%) (IC 95%) ²	Serie de Hemocultivos recibidos (n)	Serie de Hemocultivos positivos significativos (n)	Serie de Hemocultivos negativos (n)
HD1	80	— ¹	1	1,3 (<0,1-7,5)	1	1	0
HD2	60	57,3 (25-93)	10	16,6 (9,2-28,3)	55	12	38
HD3	105	58,4 (25-84)	31	29,5 (21,6-38,9)	106	31	59
HD4	180	— ¹	2	1,1 (0,1-4,3)	4	2	2
HD5	105	— ¹	24	22,9 (15,8-31,9)	82	32	40
Total	530	— ¹	58	10,9	248	78	139

¹ Datos no disponibles² IC: Intervalo de confianza 95%**Figura 1.** Frecuencia de microorganismos aislados de hemocultivos provenientes de 5 centros de hemodiálisis crónica.

La frecuencia global de bacteriemias en pacientes en hemodiálisis obtenida en este estudio fue similar a lo documentado en la bibliografía internacional (5, 10, 12, 25, 27), dado que no hay informes en nuestro país. Sin embargo, la frecuencia entre centros es variable. Si bien no fue el objetivo de nuestro estudio evaluar las causas de estas diferencias, estos resultados podrían deberse a diferentes actitudes diagnósticas, criterios en la toma de muestras de hemocultivos o toma de muestras fuera de las unidades de diálisis, al tratamiento empírico sin toma de hemocultivos o a distintos grados de adherencia en la toma de medidas preventivas en los diferentes centros.

La distribución de microorganismos aislados en pacientes en hemodiálisis corresponde, en mayor porcentaje, a cocos gram-positivos con predominio de *Staphylococcus aureus* y ECN, en relación a bacilos gram-negativos y *Candida* spp. Según algunos autores, la mayor cantidad de infecciones en hemodiálisis son causadas por cocos gram positivos con predominio de ECN en las infecciones relacionadas a catéteres (26). Sin embargo, la incidencia de bacteriemias por *S. aureus* es más elevada en algunos estudios, hecho que se puede atribuir a la mayor frecuencia de portadores en la población y personal en salas de hemodiálisis (2, 6, 9, 11, 36).

Los bacilos gram-negativos no fermentadores de la glucosa se aislaron con mayor frecuencia que las enterobacterias y a diferencia de lo publicado en la bibliografía, no se han descrito brotes por bacilos gram-negativos en este estudio (11, 14, 15, 19, 28, 32, 40).

Si bien en la literatura existen pocas publicaciones que muestran la frecuencia de candidemias en pacientes hemodializados (17, 35, 38), en nuestro laboratorio, el aislamiento de *Candida* no *C. albicans* fue mayor que la de *Candida albicans*.

El porcentaje de contaminantes hallados en este estudio en pacientes en hemodiálisis fue similar a lo informado en la bibliografía en la población general, ya que no hay trabajos que documenten el porcentaje de contaminantes en pacientes hemodializados (41).

Según distintos autores, SAMR es un patógeno importante en los pacientes en hemodiálisis, y se ha observado en los últimos años una prevalencia en bacteriemias entre un 20-40% en este grupo de pacientes (29). La resistencia a otros antibióticos no β -lactámicos (aminoglucósidos, clindamicina, eritromicina y quinolonas) en SAMR, fue similar a la encontrada en la literatura. La resistencia a metilicina en ECN se ha incrementado en los últimos años, presentando informes entre un 50-90% de los aislamientos en pacientes en hemodiálisis (16, 24); estos resultados coinciden con los resultados de este estudio (60%).

Debido a la gran variedad de especies de bacilos gram-negativos hallados, con predominio de los no fermentadores de la glucosa (para los cuales el método por difusión no está estandarizado), no se pudieron analizar los patrones de resistencia antimicrobiana.

En conclusión, este trabajo nos permitió obtener datos de distribución, frecuencia de microorganismos y sus patrones de sensibilidad antimicrobiana, provenientes de hemocultivos de pacientes en centros de hemodiálisis en Argentina. En concordancia a lo descrito en la literatura internacional hemos documentado, como microorganismo aislado en primer lugar a *S. aureus* seguido por los ECN. Estudios adicionales serían necesarios para establecer las causas probables de las variaciones en la frecuencia de hemocultivos positivos en los diferentes centros, para establecer normativas generales que permitan optimizar el diagnóstico de microorganismos en sangre y disminuir la morbi-mortalidad de los pacientes sometidos al procedimiento de hemodiálisis crónica.

Agradecimientos: los autores agradecen al Dr. Hugo Krupitzki, del Centro de Educación Médica e Investigaciones Clínicas "Norberto Quirno" (CEMIC) por el asesoramiento estadístico brindado.

BIBLIOGRAFÍA

- Allon M (2004) Dialysis catheter-related bacteremia: treatment and prophylaxis. *Am. J. Kidney Dis.* 44: 779-791.
- Altöparlak U, Kadanali A, Celebi S (2004) Slime factor

positivity in coagulase-negative staphylococci isolated from nasal samples of haemodialysis patients. *Int. J. Clin. Pract.* 58: 1112-1114.

- Alvarez MA, Aljama P, Espinosa M (2003) Complicaciones de la hemodiálisis crónica. En: Avendaño LH, Aljama P, Arias M, Caramelo C, Egido J, Lamas S (Eds), *Nefrología Clínica*, 2ª edición, Editorial Médica Panamericana SA, Madrid, España, p. 797-805.
- Berns JS (2003) Infection with antimicrobial-resistant microorganisms in dialysis patients. *Semin. Dial.* 16: 30-37.
- Berns JS, Tokars JL (2002) Preventing bacterial infections and antimicrobial resistance in dialysis patients. *Am. J. Kidney Dis.* 40: 886-898.
- Chow JW, Yu VL (1989) *Staphylococcus aureus* nasal carriage in hemodialysis patients. Its role in infection and approaches to prophylaxis. *Arch. Intern. Med.* 149: 1258-1262.
- Dentino JR, Leehey DJ (2001) Infections. En: Daugirdas JT, Blake PG, Ing TS (Eds), *Handbook of Dialysis*, 3rd edition, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, Estados Unidos de América, p. 495-521.
- Dopirak M, Hill C, Oleksiw M, Dumigan D, Arvai J, English E, et al. (2002) Surveillance of hemodialysis-associated primary bloodstream infections: the experience of ten hospital-based centers. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 23: 721-724.
- Edoh V, Gadou D, Tia H, Gnonsahé D (2003) Epidemiology and prevention of *Staphylococcus aureus* nasal carriage in patients and staff at the Cococoy Hemodialysis Center in Abidjan, Ivory Coast. *Med. Trop.* 63: 590-592.
- Finelli L, Miller JT, Tokars J, Alter M, Arduino MJ (2005) National surveillance of dialysis-associated diseases in the United States, 2002. *Semin. Dial.* 18: 52-61.
- Flaherty JP, Garcia-Houchins S, Chudy R, Arnow PM (1993) An outbreak of gram-negative traced to contaminated O-ring in reprocessed dialyzers. *Ann. Intern. Med.* 119: 1072-1078.
- Hajjar J, Girard R, Marc JM, Ducruet L, Beruard M, Fadel B, et al. (2004) Surveillance of infections in chronic hemodialysis patients. *Nephrologie* 25: 133-140.
- Hoen B, Paul-Dauphin A, Hestin D, Kessel M (1998) EPIBACDIAL: a multicenter prospective study of risk factor bacteremia in chronic hemodialysis patients. *J. Am. Soc. Nephrol.* 9: 869-876.
- Humar A, Oxley C, Sample ML, Garber G (1996) Elimination of an outbreak of gram-negative bacteremia in hemodialysis unit. *Am. J. Infect. Control* 24: 359-363.
- Jackson BM, Beck-Sague CM, Bland LA, Arduino MJ, Meyer L, Jarvis WR (1994) Outbreak of pyrogenic reactions and gram-negative in a hemodialysis center. *Am. J. Nephrol.* 14: 85-89.
- Jefferys A, Chow J, Suranyi M (2003) Acute vascular access catheter for haemodialysis. Complications limiting technique survival. *Nephrology* 8: 16-20.
- Junne MS, Wen-Chien K, Jeng-Jong H (2001) Candidaemia in patients with dialysis-dependent acute renal failure aetiology, predisposing and prognostic factors. *Nephrol. Dial. Transplant* 16: 2348-2356.
- Liu JW, Su YK, Liu CF, Chen JB (2002) Nosocomial bloodstream infection in patients with end-stage renal disease: excess length of hospital stay, extra cost and attributable mortality. *J. Hosp. Infect.* 50: 224-227.
- Magalhaes M, Doherty C, Govah JRW, Vandamme P (2003) Polyclonal outbreak of *Burkholderia cepacia* complex bacteremia in haemodialysis. *J. Hosp. Infect.* 54: 120-123.
- Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (1999) *Manual of Clinical Microbiology*. 7th edition, American Society for Microbiology, Washington D. C. Estados Unidos de América.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards (2004) Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Fourteenth Informational Supplement.

- NCCLS M100-S14. Villanova, Pa, Estados Unidos de América.
22. National Committee for Clinical Laboratory Standards (1997) Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts, Approved standard. NCCLS M27-A. Villanova, Pa, Estados Unidos de América.
 23. Paz J. Manual de Bioestadística. Ed. CEMIC. (2002) Galván 4102. Buenos Aires, Argentina.
 24. Raad I, Amin A, Kenneth R (1998) *Staphylococcus epidermidis*: emerging resistance and need for alternative agents. Clin. Infect. Dis. 26: 1182-1187.
 25. Reimer L, Wilson M, Weinstein M (1997) Update on detection of bacteremia and fungemia. Clin. Microbiol. Rev. 10: 444-465.
 26. Rodríguez A, San Juan JA, Rello J, Álvarez Rocha L (2003) Infecciones por catéteres vasculares, vol. 2, Ed. Panamericana SA. Argentina.
 27. Rodríguez Guardado A, Cartón JA, López Ponga B, Casado L, Pérez F, Aguado S (1997) Bacteremia in patients undergoing chronic hemodialysis in a 16 year period. Rev. Clin. Esp. 197: 484-489.
 28. Rodríguez Jornet A, García García M, Mariscal D, Fontanals D, Cortés P, Coll P, et al. (2003) An outbreak of gram-negative bacteremia (GNB), specially *Enterobacter cloacae*, in patients with long-term tunnelled haemodialysis catheters. Nefrología 23: 333-343.
 29. Saeed Abdulrahman I, AL-Muelio SH, Bokhary HA, Lapido GO, AL- Rubaish A. (2002) A prospective study of hemodialysis access-related bacterial infections. J. Infect. Chemother. 8: 242-246.
 30. Shmueli H, Pitlik S, Yahav Samra Z, Leibovici L (2003) Seven-year study of bacteremia in hospitalized patients on chronic hemodialysis in a single tertiary hospital. Ren. Fail. 25: 579-588.
 31. Soloaga R, Defain V, Blanco M, Buchovsky A, Fernández A, Gutfraind Z, et al. (2000) Hemocultivos: utilidad de los antibiogramas presuntivos. Rev. Arg. Microbiol. 32: 149-152.
 32. Souza AV, Moreira CR, Pasternak J, Hirata M, Saltini D, Caetano V, et al. (2004) Characterizing uncommon *Burkholderia cepacia* complex isolates from an outbreak in a haemodialysis unit. J. Med. Microbiol. 53: 99-105.
 33. Stevenson KB, Hannah EL, Lowder CA, Adcox MJ, Davidson RL, Mallea MC, et al. (2002) Epidemiology of hemodialysis vascular access infections from longitudinal infection surveillance data: predicting the impact of NKF-DOQI clinical practice guidelines for vascular access. Am. J. Kidney Dis. 29: 549-555.
 34. Stevenson KB, Adcox MJ, Mallea MC, Narasimhan N, Wagnild JP (2000) Standardized surveillance of hemodialysis vascular access infections: 18 month experience at an outpatient, multifacility hemodialysis center. Infect. Control Hosp. Epidemiol. 21: 200-203.
 35. Sung J, Ko W, Huang J (2001) Candidaemia in patients with dialysis-dependent acute renal failure: aetiology, predisposing, and prognostic factors. Nephrol. Dial. Transplant. 16: 2348-2356.
 36. Turner K, Uttley L, Scrimgeour A, McKewan A, Goak R (1998) Natural history of *Staphylococcus aureus* nasal carriage and its relationship to exit-site infection. Perit. Dial. Int. 18: 271-273.
 37. Vanholder R, Van Biesen W (2002) Incidence of infectious morbidity and mortality in dialysis patients. Blood Purif. 20: 477-480.
 38. Voss A, le Noble JL, Verduyn Lunel FM, Fourdraine NA, Meis JF (1997) Candidaemia in intensive care unit patients: risk factors for mortality. Infection 25: 8-11.
 39. Wang SA, Levine RB, Carson LA, Arduino MJ, Killar T, Grillo FG, et al. (1999) An outbreak of gram-negative bacteremia in hemodialysis patients traced to hemodialysis machine waste drain ports. Infect. Control Hosp. Epidemiol. 20: 746-751.
 40. Welbel SF, Schoendorf K, Bland LA, Arduino MJ, Groves C, Schable B, et al. (1995) An outbreak of gram-negative bloodstream infections in chronic hemodialysis patients. Am. J. Nephrol. 15: 1-4.
 41. Weinstein MP (2003) Blood culture contamination: persisting problems and partial progress. J. Clin. Microbiol. 41: 2275-2278.