



**UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA, PARASITOLOGÍA E INMUNOLOGÍA**

SEMINARIO 13

**SEPSIS y SÍNDROME
MONONUCLEOSIFORME**

SEPSIS: DEFINICIÓN

- **Síndrome de anormalidades fisiológicas, patológicas y bioquímicas** secundarias a una infección que llevan a la disfunción orgánica potencialmente mortal.
- Esta **respuesta sistémica desregulada** del huésped a la **infección** se evidencia con **cambios (clínicos, bioquímicos)** que son detectados en la **puntuación SOFA** (Evaluación Secuencial de Falla de Órgano) con un incremento agudo de 2 o más puntos.

American College of Chest Physicians y la Society of Critical Care Medicine

**The Third International Consensus Definitions
for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3)**

JAMA. 2016;315(8):801-810.

Puntuación SOFA:

Table 1. Sequential [Sepsis-Related] Organ Failure Assessment Score^a

System	Score				
	0	1	2	3	4
Respiration					
Pao ₂ /Fio ₂ , mm Hg (kPa)	≥400 (53.3)	<400 (53.3)	<300 (40)	<200 (26.7) with respiratory support	<100 (13.3) with respiratory support
Coagulation					
Platelets, ×10 ³ /μL	≥150	<150	<100	<50	<20
Liver					
Bilirubin, mg/dL (μmol/L)	<1.2 (20)	1.2-1.9 (20-32)	2.0-5.9 (33-101)	6.0-11.9 (102-204)	>12.0 (204)
Cardiovascular	MAP ≥70 mm Hg	MAP <70 mm Hg	Dopamine <5 or dobutamine (any dose) ^b	Dopamine 5.1-15 or epinephrine ≤0.1 or norepinephrine ≤0.1 ^b	Dopamine >15 or epinephrine >0.1 or norepinephrine >0.1 ^b
Central nervous system					
Glasgow Coma Scale score ^c	15	13-14	10-12	6-9	<6
Renal					
Creatinine, mg/dL (μmol/L)	<1.2 (110)	1.2-1.9 (110-170)	2.0-3.4 (171-299)	3.5-4.9 (300-440)	>5.0 (440)
Urine output, mL/d				<500	<200

Abbreviations: Fio₂, fraction of inspired oxygen; MAP, mean arterial pressure; Pao₂, partial pressure of oxygen.

^a Adapted from Vincent et al.²⁷

^b Catecholamine doses are given as μg/kg/min for at least 1 hour.

^c Glasgow Coma Scale scores range from 3-15; higher score indicates better neurological function.

American College of Chest Physicians y la Society of Critical Care Medicine

The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3)

JAMA. 2016;315(8):801-810.

SEPSIS: PATOGENIA

- ✓ **La respuesta sistémica en la sepsis o shock es un sistema no-linear complejo con interacciones múltiples y variables de los sistemas inmune, neuronal , metabólico y endocrino.**
- ✓ **Esta respuesta esta regulada por:**
 - Inductores**
 - Sensores**
 - Mediadores pro-inflamatorios y anti-inflamatorios**

SEPSIS: PATOGENIA

✓ Inductores

- **Bacterias gram-negativas:** principalmente endotoxina (LPS), exotoxinas, y proteasas.
- **Bacterias gram-positivas:** exotoxinas, superantígenos (TSST, SpeA), enterotoxinas, hemolisinas, peptidoglicano, ácido teicóico.
- **Hongos:** componentes de pared celular: β glucanos, mananos, etc.
- **Más moléculas endógenas.**

✓ Sensores

- **PRPs (Pattern-Recognition-Receptors)** de los macrófagos residentes tisulares, células dendríticas y mastocitos que al reconocer patógenos se activan y generan respuesta inflamatoria local.

✓ MEDIADORES

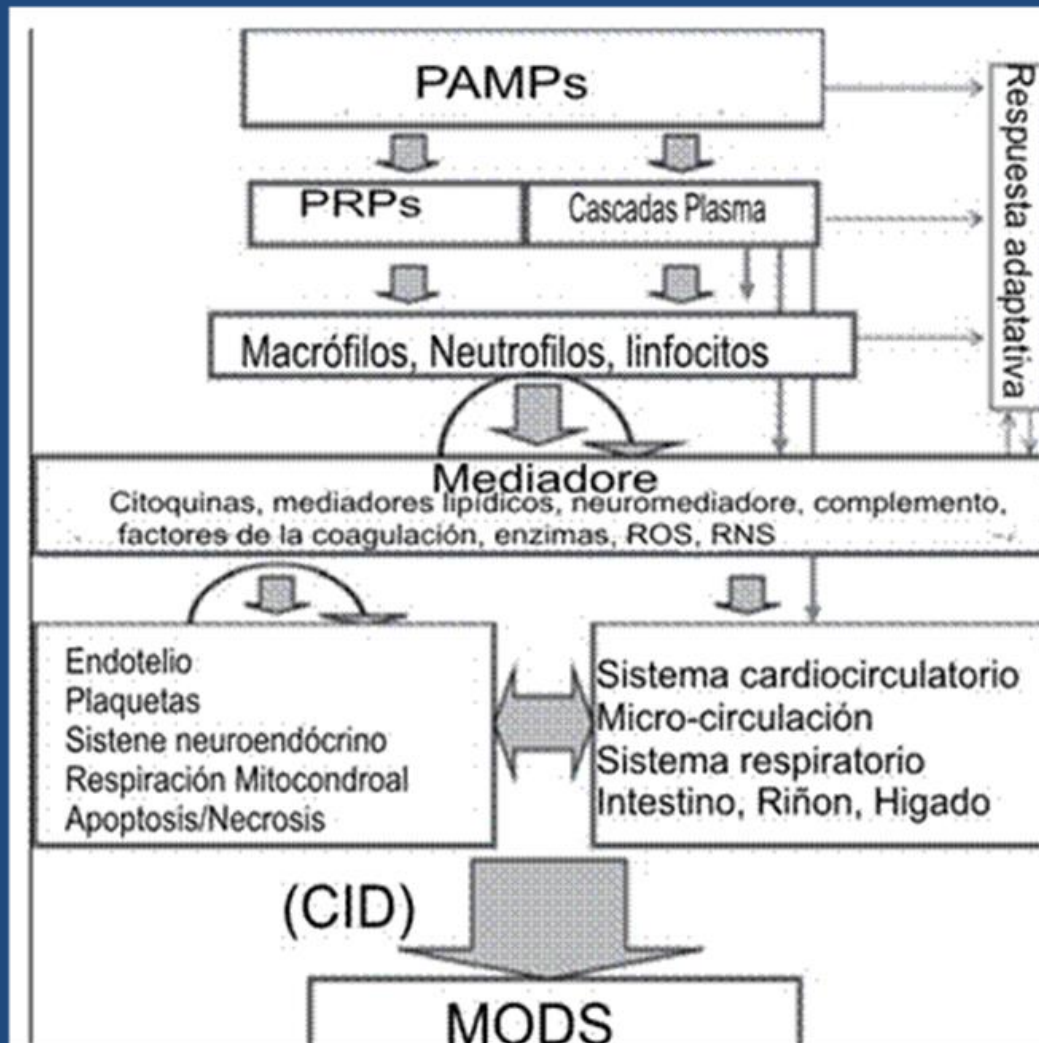
PRO-INFLAMATORIOS

- **Citoquinas pro-inflamatorias:** $\text{TNF}\alpha$, IL-1, IL-6, IL-12 y IL-8
- **Mediadores lipídicos:** prostaglandinas, leucotrienos, el factor de activación plaquetario o PAF)
- **Neuromediadores**
- **Componentes del Complemento**
- **Factores de la Coagulación**
- **Enzimas**
- **ROS y RNS***
- **HMGB1 (high-mobility group box 1)**

✓ MEDIADORES

ANTI-INFLAMATORIOS

- **Citoquinas anti-inflamatorias:** IL-10 y $\text{TGF-}\beta$
- **Neuromediadores y hormonas** (ej. Acetilcolina, PACAP (Pituitary adenylate cyclase activating peptide), Epinefrina, α -MSH (α -melanocyte stimulating hormone, otros)
- **Moléculas de Estrés:** ej. Glucocorticoides
- **Mediadores lipídicos:** ej. Prostaglandina E2



Los patrones asociados a microorganismos patógenos (PAMPs) son reconocidos por los PRPs de macrófagos, neutrófilos y linfocitos, que activan respuestas locales que generan la liberación de mediadores, los que movilizan la respuesta inflamatoria local y luego generalizada. La respuesta anormal desencadena la disfunción de múltiples órganos (MODS)

Líneas rectas: activación

Líneas curvas: mecanismos de retroalimentación (amplificación)

CID: Coagulación Intravascular diseminada

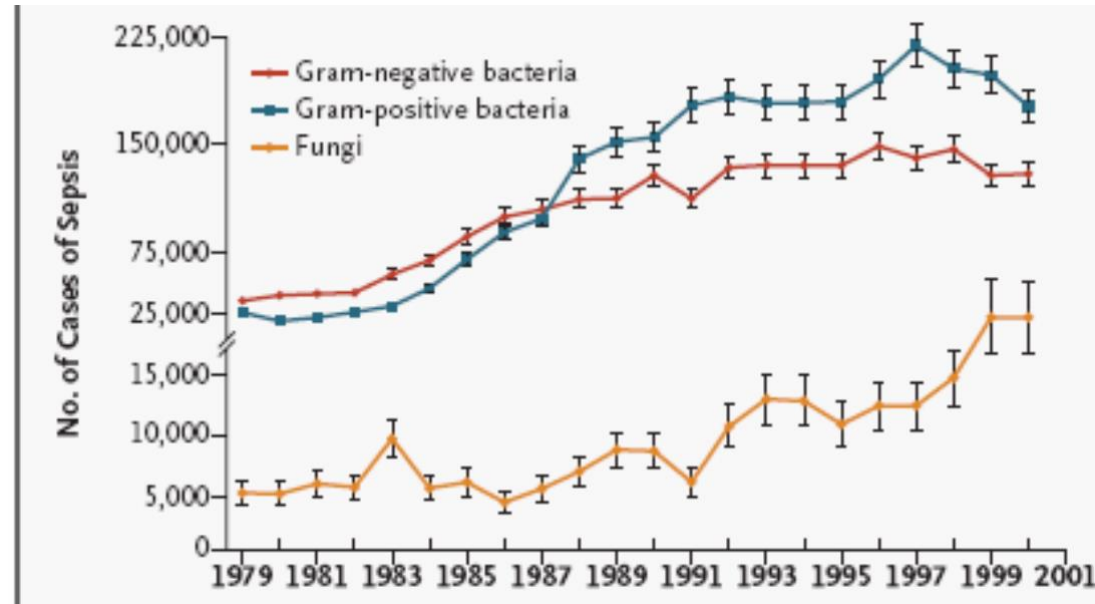
MODS: Disfunción de múltiples órganos

SEPSIS:

FOCOS Y AGENTES MICROBIOLOGICOS

FOCOS:

- BACTERIEMIA/FUNGEMIA
PRIMARIA
- ABDOMINAL (peritonitis, apendicitis)
- TRACTO URINARIO
- ENDOVASCULAR (Prótesis, Endocarditis)
- RESPIRATORIO (Neumonías)
- INFECCION DE PIEL Y PARTES BLANDAS
- SISTEMA NERVIOSO CENTRAL
- INFECCIONES A PUNTO DE PARTIDA DEL CATETER
- HERIDA QUIRURGICA



BACTERIEMIA

- ✓ Presencia de bacterias en el torrente circulatorio.

Existen dos tipos:

- ✓ Bacteriemias primarias:

Presencia de un cuadro clínico compatible con infección y la obtención de cultivos positivos en sangre (Hemocultivos) sin foco conocido de infección.

- ✓ Bacteriemias secundarias:

Se define como aquellas bacteriemias relacionadas a distintos focos infecciosos (abdominal, tracto urinario, neumonía, catéter, etc)

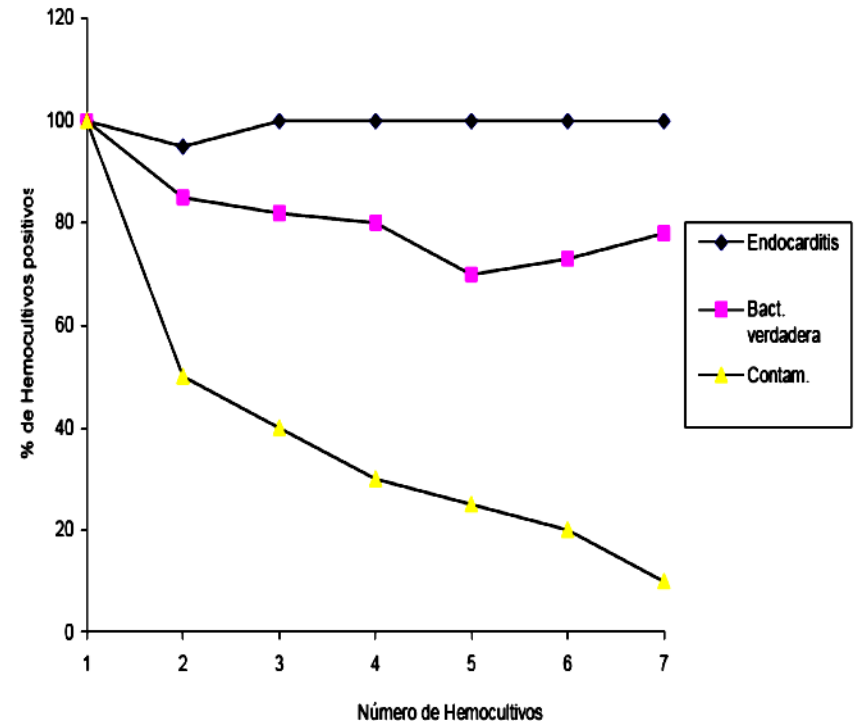
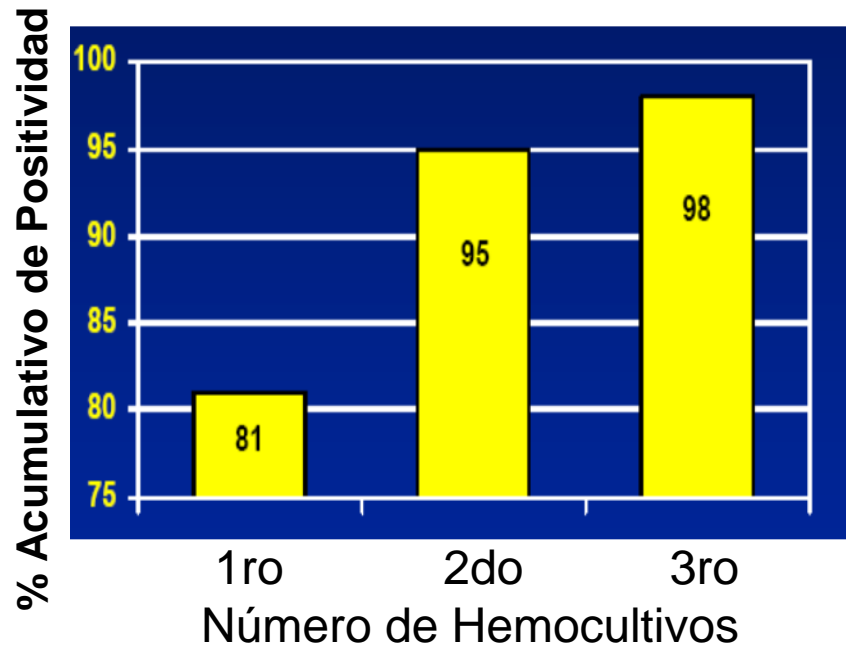
El aislamiento del mismo microorganismo en sangre periférica y en el foco infeccioso, siempre en el contexto coincidiendo con un cuadro clínico compatible.

Cuando el patógeno aislado es un microorganismo colonizador de la piel como SCN, se exige dos hemocultivos positivos al mismo patógeno.

BACTERIEMIA / FUNGEMIA

Hemocultivos: Son las muestras clínicas obtenidas de sangre periférica para detectar las bacteriemias o fungemias.

Número de Muestras



Es importante para :

- A) Aumentar la probabilidad de encontrar al microorganismo en sangre
- B) Diferenciar bacteriemia o fungemia verdadera de la falsa o seudobacteriemia o seudofungemia (contaminaciones).

HEMOCULTIVOS

- Se obtienen de 2 a 3 muestras de sangre periférica
- Este procedimiento debe realizarse en máximas condiciones de esterilidad (uso de soluciones estériles) y bioseguridad (uso de guantes estériles, barbijo, antiparras y camisolín descartable)



- Después de la palpación de la vena, realizar la asepsia de la piel a punzar con solución estéril (alcohol 70%, iodopovidona o clorhexidina alcohólica >0,5%)
- Dejar secar.
- Realizar una segunda asepsia de la piel y dejar actuar no menos de 1 minuto.
- Descontaminar el tapón de la botella con alcohol solamente, pudiendo cambiarse o no la aguja antes de inocular la sangre.
- Siempre la punción debe ser efectuada con guantes, que deben ser estériles cuando se requiere nuevamente la palpación de la vena.
- Volumen a extraer es variable: 5-10 ml para adultos (frascos de 50 o 100ml), 0,5 ml para recién nacidos y <2 ml para niños menores de 2 años.

HEMOCULTIVOS

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

Los microorganismos aislados de Hemocultivos se pueden clasificar en tres categorías:

- Microorganismos que casi siempre (>90%) representan una verdadera bacteriemia *S. aureus*, *S. pyogenes*, *E. coli*, otras enterobacterias, *P. aeruginosa*, *S. pneumoniae*, *C. albicans*.
- Microorganismos que raramente representan verdadera bacteriemia (<5%), por ejemplo *Corynebacterium* spp., *Bacillus* spp., *Propionibacterium acnes*. Especialmente cuando se aíslan en una sola muestra. (Contaminación) a menos que se aíslen en todas las muestras.
- Microorganismos de difícil interpretación, como *Streptococcus viridans*, *Enterococcus* sp. y *Staphylococcus* coagulasa–negativo (pueden representar bacteriemia transitoria).

Pseudobacteriemia: Se sospecha frente:

Presencia del microorganismo (especialmente aquellos de difícil interpretación) en única muestra de la serie.

Hemocultivo polimicrobiano

(generalmente, no es una bacteriemia verdadera excepción endocarditis de drogadictos intra-venosos).

Microorganismo aislado del Hemocultivo diferente del aislado del sitio primario de infección (en las bacteriemia secundarias a foco).

Generalmente se consideran Hemocultivos positivos cuando se aísla en mismo patógeno de 2 o más frascos.

Todas las botellas se descartan al 7^{mo} día excepto aquellos microorganismos de lento crecimiento que se descartan al 21^{er} día (Ej: *Brucella* sp.)

SEPSIS: ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD O INTRA-HOSPITALARIA

AGENTES ETIOLOGICOS SEGÚN FOCO

SNC

Pulmón

Abdomen

Adquiridas en la comunidad

N. meningitidis
S. pneumoniae
H. Influenzae

S. pneumoniae
H. Influenzae

Enterobacterias
Enterococcus sp
Bacterias anaerobicas

Nosocomiales (Intra-hospitalarias)

Staphylococcus aureus
BGN

BGN fermentadores
y no fermentadores
SAMR

BGN aerobios
Bacterias anaerobicas
Candida sp

BGN: Bacilo gram-negativo

SAMR: *Staphylococcus aureus* metilicilino-resistente

SEPSIS ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD O INTRA-HOSPITALARIA

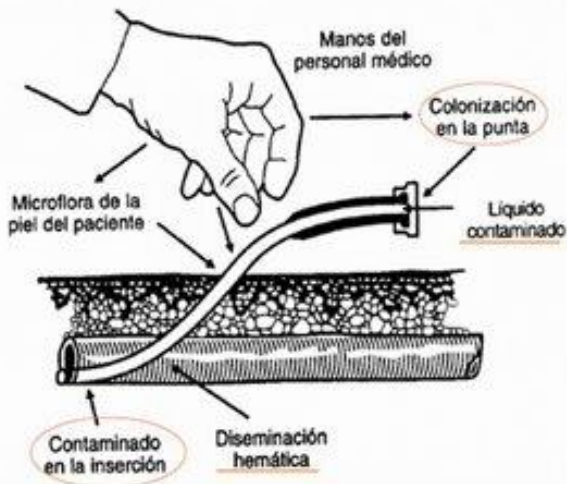
AGENTES ETIOLOGICOS SEGÚN FOCO

	Tracto urinario	Endovascular	Piel y partes blandas
Adquirida en la comunidad	<i>E. coli</i> <i>Proteus sp</i> <i>Enterococcus sp</i>	SAMS <i>Streptococcus</i> <i>sp</i> <i>Enterococcus sp</i>	SAMS <i>S pyogenes</i> <i>Clostridium sp</i>
Nosocomial	BGN fermentadores y No fermentadores <i>Enterococcus sp</i>	SAMR SCNMR EVR BGN fermentadores y no fermentadores <i>Candida sp</i>	SAMR BGN aerobios Fermentadores y no fermentadores

SCNMR: estafilococcus coagulasa-negativos meticilino-resistentes
EVR: enterecoco vancomicino-resistentes

FOCOS DE LA SEPSIS:

Infecciones a punto de partida de catéteres



VIAS DE COLONIZACION

DESDE LA PIEL AL CATETER

ES LA VIA MAS FRECUENTE
LOS GERMENES COLONIZAN CATETER DESDE
LA INTERFASE PIEL- CATETER

DESDE LA SANGRE AL CATETER

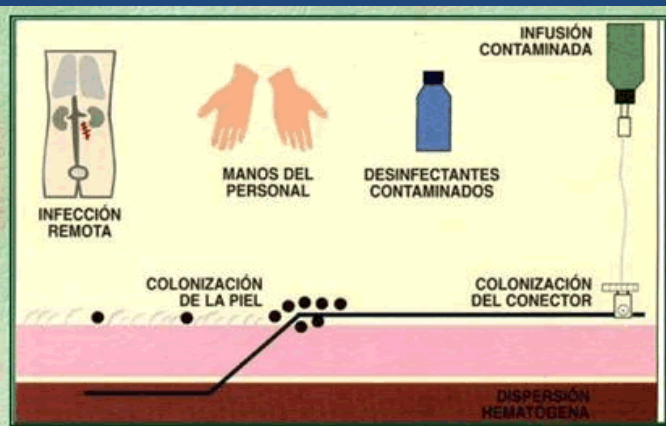
POR DISEMINACIÓN HEMATOGENA DE UN
FOCO DISTANTE
MAS FRECUENTE EN BACTERIEMIAS
CONTINUAS

DESDE LA INFUSION AL CATETER

POCO FRECUENTE

DESDE LAS MANOS DEL PERSONAL AL CATETER

POR MANIPULACIÓN SIN TECNICAS
ADECUADAS DE ASEPSIA



SEPSIS: INFECCIÓN A PUNTO DE PARTIDA DE CATÉTERES

Agentes Etiológicos:

- ✓ *Staphylococcus aureus*, SCN
- ✓ *Streptococcus sp*, *Enterococcus sp*
- ✓ *Candida spp*
- ✓ Enterobacterias:
 - Pseudomonas aeruginosa*
 - Acinetobacter baumannii*
 - Stenotrophomona maltophilia*
- ✓ *Corynebacterium sp*- (catéteres permanentes)

SEPSIS:

DIAGNOSTICO DE INFECCION A PUNTO DE PARTIDA DEL CATETER

✓ Con extracción del catéter (en catéteres de corta permanencia):

o

✓ Sin extracción del catéter (en catéteres de larga permanencia):



Cultivo de la punta del Catéter



Retrocultivo: Muestra de sangre heparinizada a través del catéter

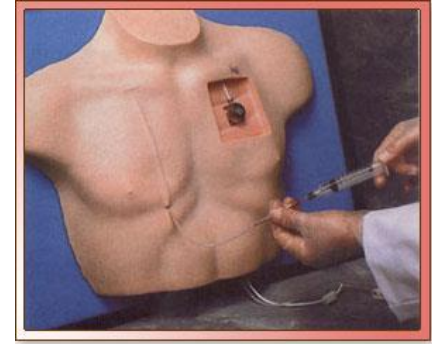
más

✓ Hemocultivos

RECORDAR:

1. Para las tomas de muestras de RETROCULTIVOS y HEMOCULTIVOS SIEMPRE debe esterilizarse PREVIAMENTE con alcohol, Iodopovidona ó Clorhexidina Alcohólica >0,5%
2. SÓLO son validos los cultivos cuantitativos y/o semicuantitativos (>15UFC) con extracción del catéter.

Interpretación: Infecciones a punto de partida de catéteres



COLONIZACIÓN DEL CATETER: desarrollo significativo de un potencial patógeno, sin clínica acompañante de infección.

INFECCION del SITIO de SALIDA: desarrollo significativo de un potencial patógeno del sitio de inserción, **CON** o **SIN SINTOMAS LOCALES (ERITEMA, INDURACIÓN O EXUDADO)** **SIN** bacteriemia o fungemia acompañante.

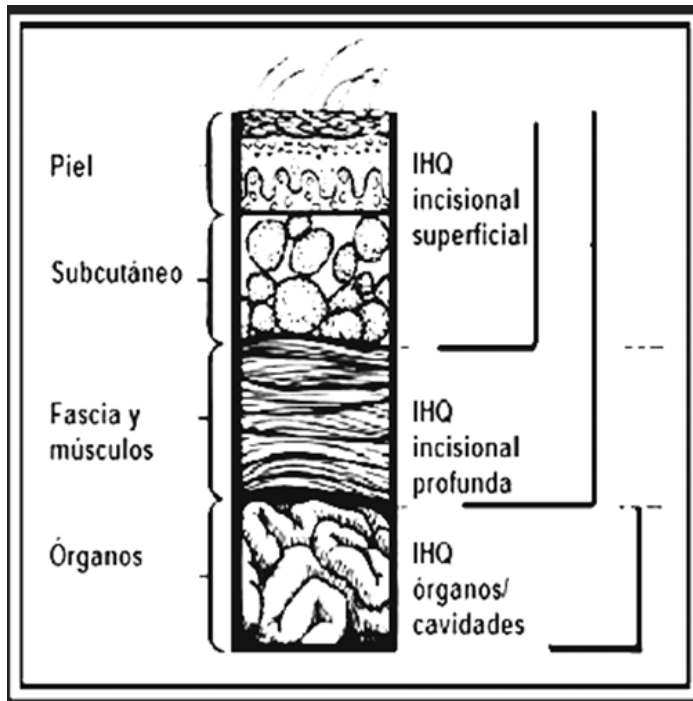
INFECCION SISTEMICA: (bacteriemia o fungemia relacionada o sepsis relacionada al catéter) aislamiento del mismo patógeno de los hemocultivos, del catéter y/o del sitio de inserción

Muy escaso desarrollo tanto de la punta como la parte media de un patógeno oportunista, sin clínica acompañante se considera contaminación durante la extracción.



FOCOS de SEPSIS: Infección de Herida Quirúrgica (IHQ)

- Es la infección ocasionada dentro de los 30 días del acto quirúrgico y hasta 1 año posterior si esta involucrado la colocación de una prótesis.
- De acuerdo a su profundidad se diferencian en:



- ✓ Incisionales:
 - Incisional superficial
 - Incisional profunda

- ✓ Organo-Espacio

Infecciones de Herida Quirúrgica (IHQ)

AGENTES ETIOLOGICOS

Cocos GRAM (+): *Streptococcus* sp., SAMR, SCN, *Enterococcus* sp.

BGN Fermentadores (Ej: *E. coli*) y No Fermentadores (Ej. *Pseudomonas aeruginosa*)

Anaerobios

Polimicrobianas (Mixtas)



CELSE

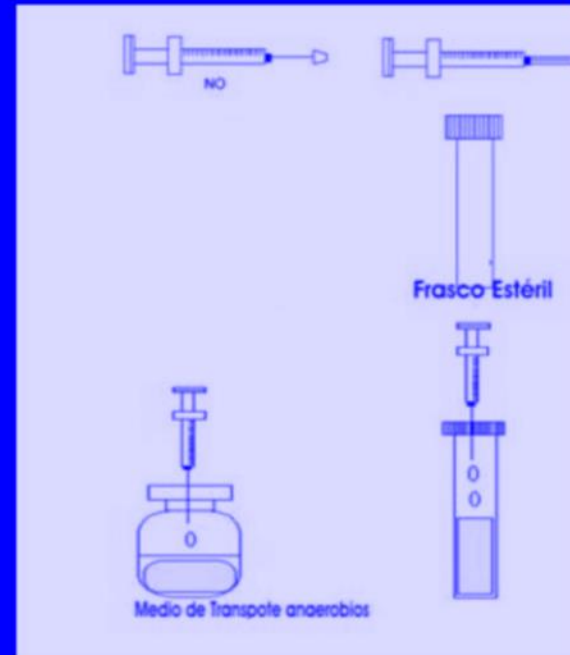
Material obtenido con aguja y jeringa

**Frasco estéril y frasco desgasificado
conteniendo medio de transporte para
bacterias anaeróbicas**

1) Siempre es preferible aspirar el material de la herida antes que hisoparlo, pues se obtiene mayor cantidad. A pesar de contener al agente etiológico de la infección, la muestra puede contener otras bacterias que están colonizando o contaminando la lesión.

Una muestra escasa, puede llevar a resultados erróneos.

2) Si el material no se puede aspirar y no es posible la obtención de tejido, se debe hisopar una gran extensión de la herida o distintos sitios de la misma.



Usar medio de transporte

Muestra clínica ideal: Biopsia de los márgenes de la herida
Colocar en frasco estéril con tapa a rosca

SEPSIS: DIAGNOSTICO

- Aislamiento del patógeno del presunto foco.
- Si existe bacteriemia se aísla el mismo patógeno tanto del foco como de la sangre.
- Se obtienen muestras clínicas de distintos focos: respiratorio (esputo, aspirado traqueal, BAL), urinario, SNC, piel y partes blandas.

SINDROME MONONUCLEOSIFORME

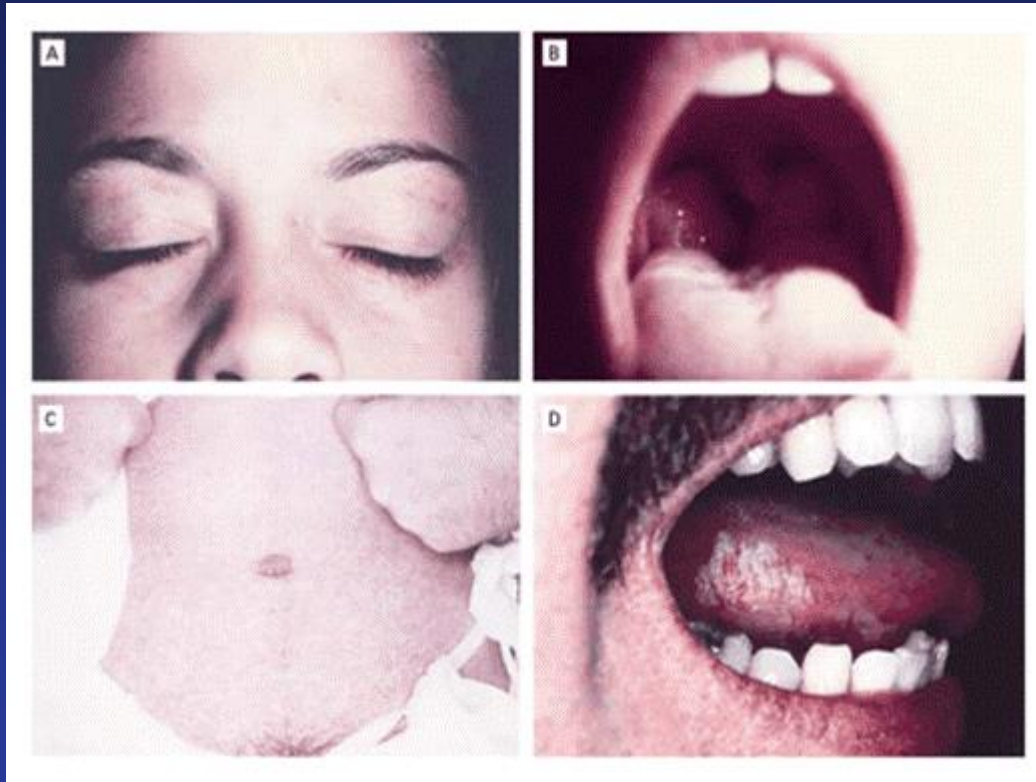
- ✓ Es un conjunto de signos y síntomas que comprende la triada: faringitis, fiebre y linfadenopatías.
- ✓ Etiología infecciosa y no infecciosa (enfermedades autoinmunes o tumorales).

Etiología infecciosa:

Viral	Bacteriana	Parasitaria
Epstein Barr	<i>Streptococcus pyogenes</i> β hemolítico grupo A	<i>Toxoplasma gondii</i>
Citomegalovirus humano	<i>Bartonella henselae</i>	<i>Trypanosoma cruzi</i>
Virus Herpes humano-6	<i>Listeria monocytogenes</i>	
VIH		
Rubéola		
Adenovirus		
Herpes <i>simplex</i> -1		

Virus Epstein Barr (EBV)

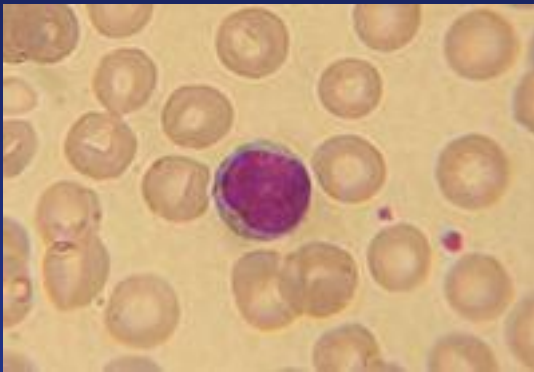
Amplio espectro de enfermedades benignas y neoplásicas desde Mononucleosis infecciosa hasta linfoma de Burkitt, carcinoma nasofaríngeo, linfoma de Hodgkin y linfoma asociado a individuos inmuno-comprometidos (pacientes con SIDA y pacientes post-transplante que reciben terapéutica inmuno-supresora), entre otras.



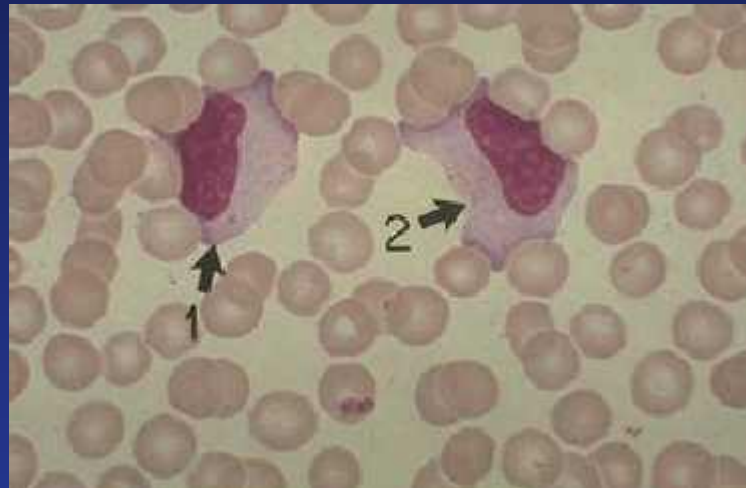
Hallazgos clínicos: A: petequias periparebral con edema periorbital, B: agrandamiento de las amígdalas en paciente con Mononucleosis Infecciosa (MI) C: erupción macular por terapéutica errónea con ampicilina en paciente con MI. D: leucoplasia vellosa oral en un paciente con SIDA.

EBV agente etiológico en el 50-90% de los casos de Mononucleosis Infecciosa

Presencia de Anticuerpos Heterófilos: principalmente de clase IgM*
Linfocitosis (≥ 50 % del total de leucocitos y/o ≥ 10 % de linfocitos atípicos)



Linfocito normal



**Linfocitos atípicos en sangre periférica.
Poseen un citoplasma mayor y
un núcleo con cromatina laxa.**

***Falso-positivos muy raro.**

Falso-negativos: 10% al 25% de los pacientes, principalmente niños menores de 10 años de edad. En pacientes con síntomas compatibles con MI, un resultado positivo de Paul-Bunnell o “spot test” sugiere MI por EBV.

Diagnóstico Específico EBV

Anticuerpos contra antígenos de EBV

VCA: antígeno de la cápside viral
EA: antígeno temprano
EBNA: antígeno nuclear

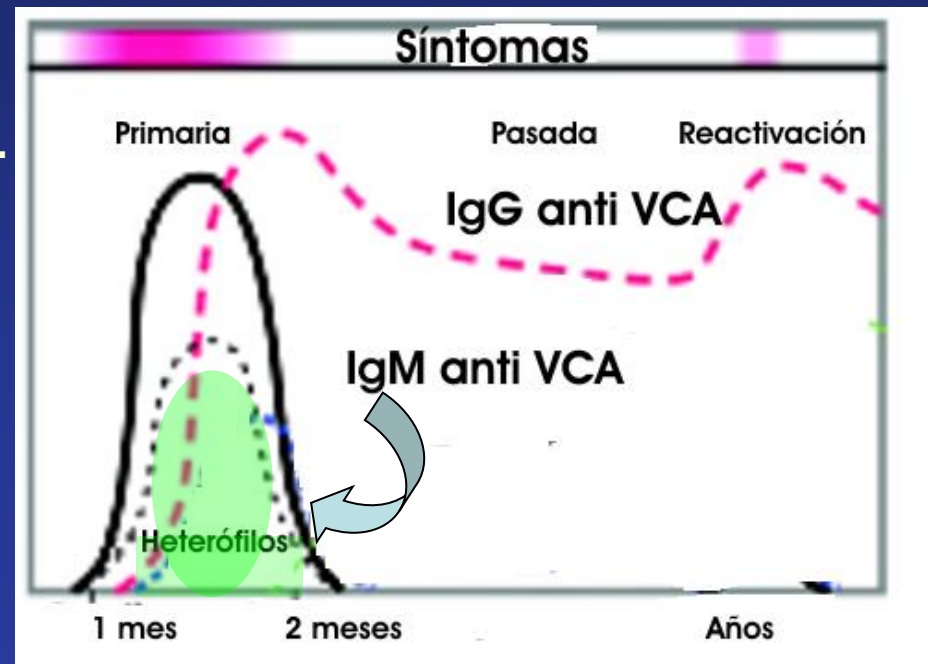
Infecciosa aguda: IgM anti-VCA

IgM- anti VCA aparece al principio de la infección y desaparece en 4 a 8 semanas.

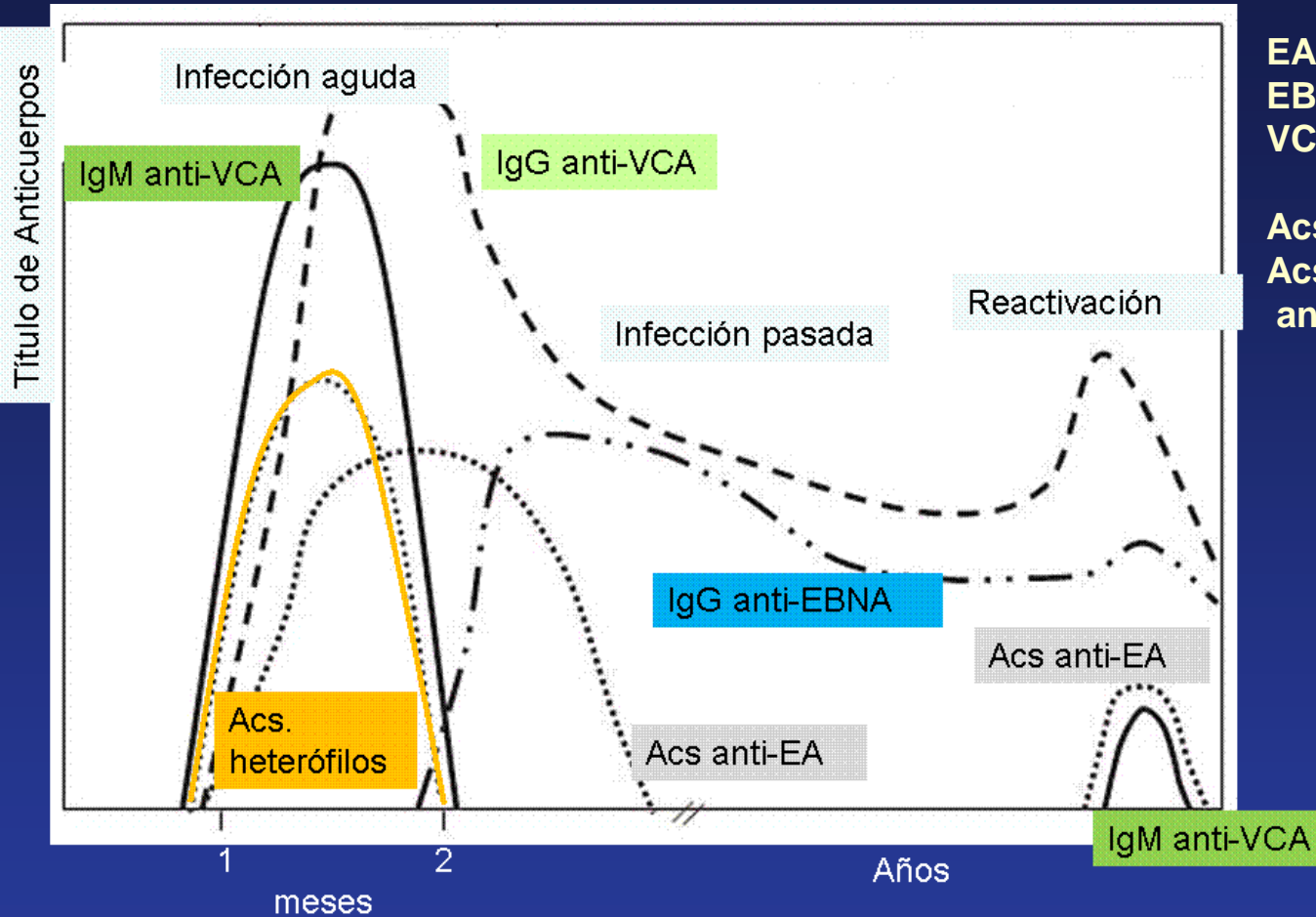
IgG anti-VCA da picos a las 2 a 4 semanas después del inicio, persiste de por vida.

Recordar IgM e IgG anti VCA aumentan virtualmente en forma simultánea en la fase aguda junto con los Acs Heterófilos.

Título de Anticuerpos



EBV: Enfermedad Aguda, Pasada, Reactivación.



EA: antígeno temprano
EBNA: antígeno nuclear
VCA: antígeno de la
cápside viral
Acs: Anticuerpos
Acs anti-EA: IgM e IgG
anti EA

La infección aguda también se caracteriza por elevación de anticuerpos EA

Luego que los síntomas se resuelven, la infección se caracteriza por IgG anti EBNA e IgG anti-VCA sin IgG anti-EA. En la reactivación vuelve a aumentar IgM e IgG anti VCA y los ACs anti-EA.

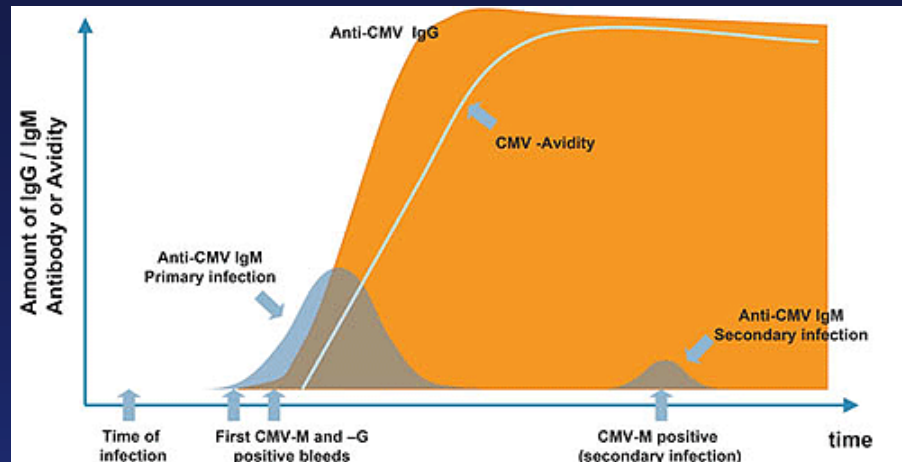
*

EBV: Enfermedad Aguda, Pasada, Reactivación

Estado clínico	Anti VCA-IgM	Anti VCA-IgG	Anti-EBNA	Anti EA	Comentarios
Infección Primaria	+	+/-	-	+ ó -	Siempre anti-EBNA negativo.
Infección pasada	-	+	+	-	Siempre anti-EBNA positivo
Reactivación	+	+	+	+	

CMVh: 5-7% de los casos

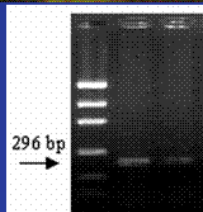
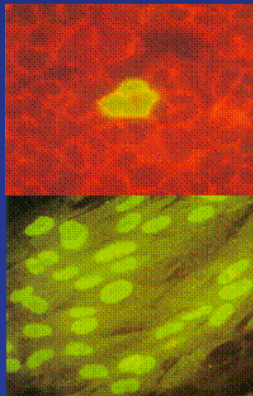
Detección de IgM
Seroconversión IgG
Test Aidez IgG



Indirecto

Títulos IgM altos, IgG baja avidéz: infección aguda.

Títulos IgM altos, IgG alta avidéz: reactivación.



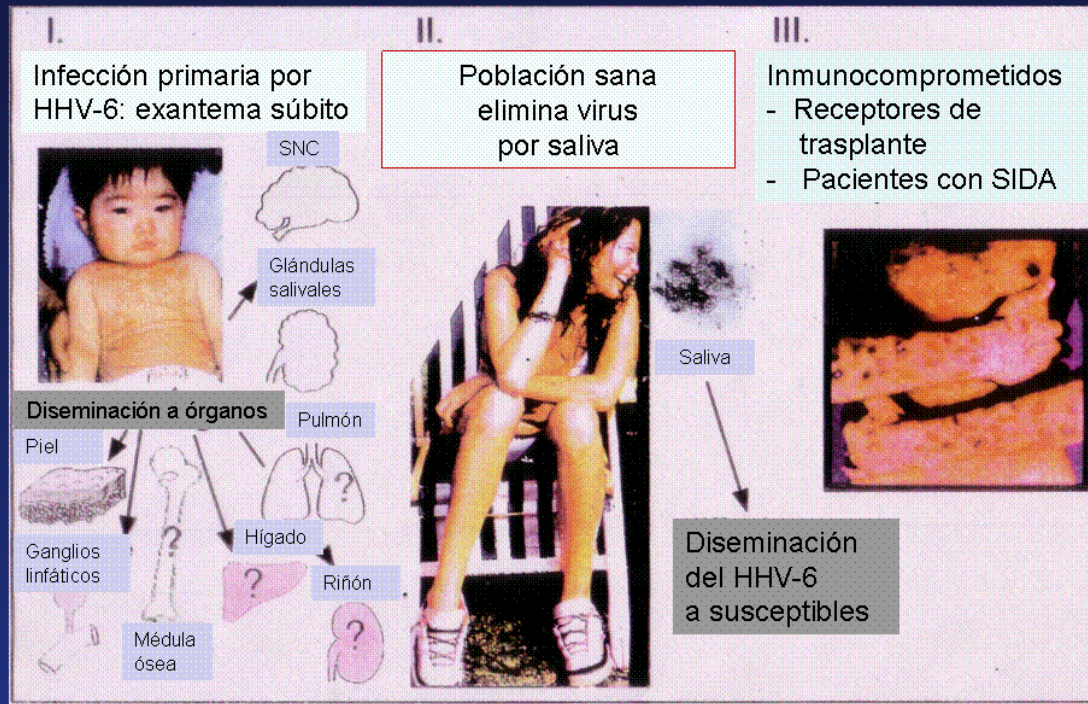
TECNICA	¿Qué se detecta?	Muestra analizada
Antigenemia pp65	Antígeno en muestras clínicas	Orina, secreciones respiratorias, sangre entera, tejidos, líquido amniótico.
Shell Vial	Antígeno en cultivos celulares infectados	Orina, secreciones respiratorias, sangre entera.
PCR	DNA viral	Orina, secreciones respiratorias, sangre entera, tejidos, líquido amniótico.

Directo

Principalmente
Antigenemia

6ta. enfermedad exantemática o exantema súbito

Se estima 9% de los casos de SM.



Diagnóstico

Infección primaria: IgM anti HHV-6

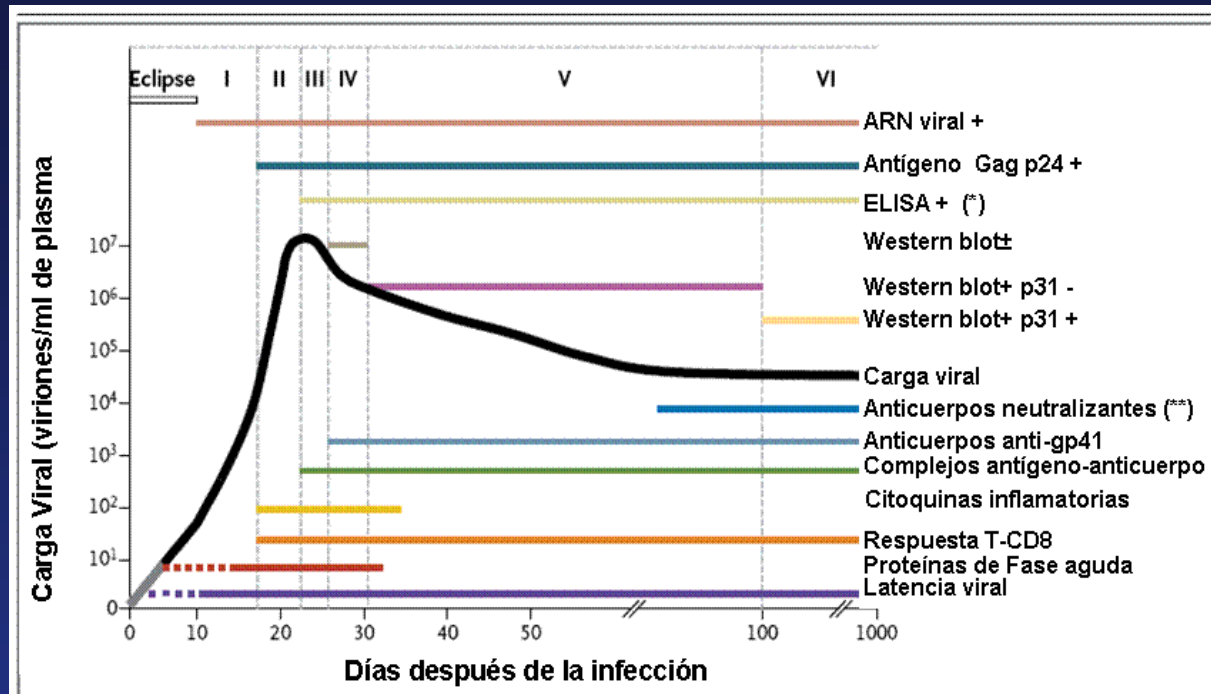
IgG anti HHV-6 (IFI, ELISA, Avidex)

Reactivación o reinfección: IgM anti HHV-6, IgG anti HHV-6 (difícil interpretación, Reacción cruzada con otros beta-Herpesvirus?. Respuesta inmune alterada en pacientes inmunodeficientes)

Cuantificación ADN viral, PCR en tiempo real: falta estandarizar número de copias para definir infección activa.

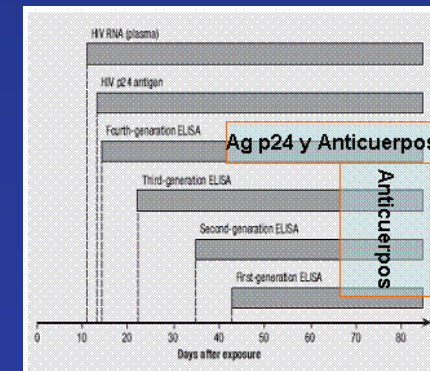
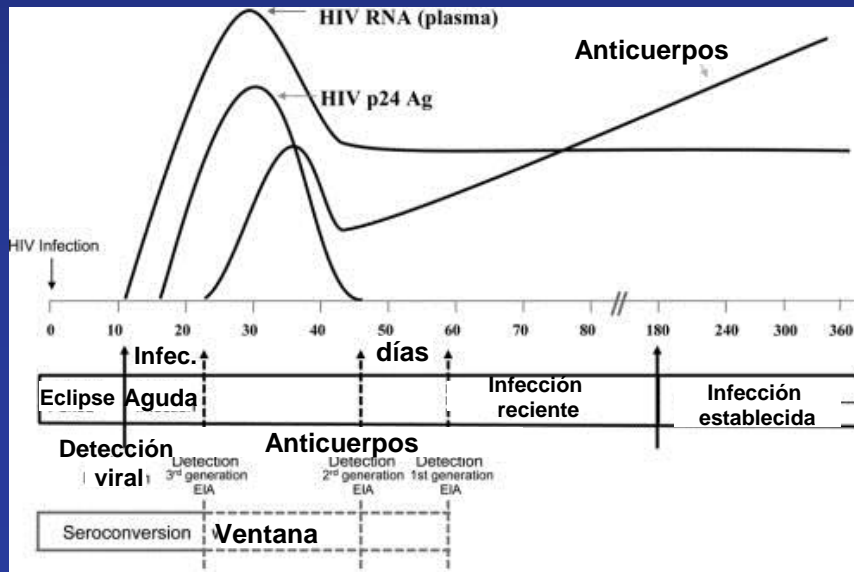
Detección de transcritomas por RT-PCR (promisorio, diferencia infección activa de latencia)

Historia Natural e Inmunopatogénesis de la Infección por HIV-1



N Engl J Med 2011;364:1943-54

Secuencia de Aparición de los Marcadores para diagnóstico de la Infección



Síndrome retroviral agudo: Intervalo entre la aparición del ARN viral en plasma o suero y la aparición de los anticuerpos detectables.

Primoinfección por HIV representa $\leq 2\%$ de los síndromes mononucleosiformes

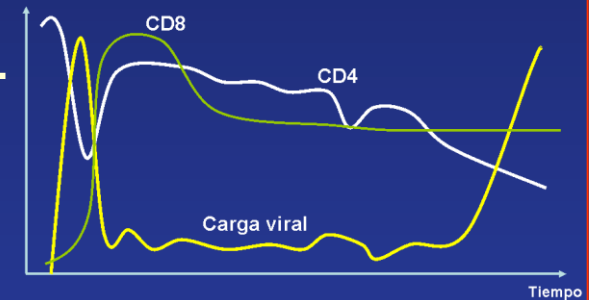
- * **Asintomático**
- * **S. mononucleosiforme:** Fiebre, linfadenopatías, faringitis, erupción, mialgias, artralgias, hepatoesplenomagalia, cefalea.
- * **Cuadro digestivo:** náuseas, vómitos, diarrea
- * **Síntomas neurológicos:** meningoencefalitis, neuropatía periférica, parálisis facial, S. Guillain Barré, neuritis braquial, trastornos cognitivos o psicosis
- * **Pérdida de peso**
- * **Muguet, raramente otras infecciones oportunistas.**

Marcadores de laboratorio de la infección Aguda

Carga viral (5.000-10.000 o mayor copias/ml de plasma).

Disminución en el número de T CD4+ y un aumento de T CD8+

(Inversión de la relación CD4/CD8).



Ag p24 ?

ELISA: 4ta Generación (no distingue entre infección aguda y establecida)

El Western Blot es positivo aproximadamente 30 días post-infección

Otros Agentes

Agente	Condición asociada	% de casos con S.M.	Características salientes	Diagnóstico de infección aguda
Herpes simplex-1	Herpes labial	6%	Gingivostomatitis Amigdalitis Odinofagia severa	•IF directa •Cultivo de hisopado de fauces
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Faringitis Fiebre reumática	3-4%	Súbito dolor de garganta Eritema faringo-amigdalino Adenomegalias dolorosas cervicales Ausencia de hepato-esplenomegalia Incidencia en invierno y primavera temprana	•Detección rápida de antígeno y/o cultivo
<i>Toxoplasma gondii</i>	Toxoplasmosis	≤ 2%	Adenopatías pequeñas simétricas indoloras Antecedente: ingesta de carne mal cocida o exposición a gatos o a sus excretas	•IgM e IgG anti- <i>T. gondii</i> por ELISA y/o Test de avidéz

OTROS AGENTES

Agente	Condición asociada	% de casos con S.M.	Características salientes	Diagnóstico de infección aguda
Adenovirus	Síntomas inespecíficos del tracto respiratorio superior. Fiebre faringo-conjuntival. Neumonía.	$\leq 1\%$	Clínicamente similar a <i>S. pyogenes</i>	<ul style="list-style-type: none"> • ELISA / • Cultivo viral de hisopado conjuntival o faucial • Shell vial de secreciones de fauces o nasofaringeas
<i>Trypanosoma cruzi</i>	Enfermedad de Chagas	?	Antecedente de transfusión 4-5 semanas previas a los síntomas	<ul style="list-style-type: none"> • <u>DIRECTO</u> (gota fresca, gota gruesa, Strout, Microhematocrito; Indirecto: IgM
<i>Bartonella henselae</i> (bacilos gram-negativos, pequeños)	Enfermedad por arañazo de gato	?	Antecedente de arañazo o mordedura de gato 	<ul style="list-style-type: none"> • ELISA /IFI para detectar IgM e IgG • Cultivo: Muestra de sangre o aspiración ganglios linfáticos Crecimiento > 7 días. Aislamiento agar sangre (CO2)