

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
ESCUELA DE ESTUDIOS DE POSTGRADO**

**EFICACIA SOBRE USO DE HEMOCULTIVO BACT/ALERT
PF PLUS (PEDIÁTRICO) VS HEMOCULTIVO BACT/ALERT
FA PLUS (ADULTOS) EN LA DETERMINACIÓN DEL
CRECIMIENTO BACTERIANO EN PACIENTES
PEDIÁTRICOS CON SOSPECHA DE SEPSIS**

RAÚL ANTONIO BAIZA MOLINA

Tesis

**Presentada ante las autoridades de la
Escuela de Estudios de Postgrado de la
Facultad de Ciencias Médicas
Maestría en Ciencias Médicas con Especialidad en Pediatría
Para obtener el grado de
Maestro en Ciencias Médicas con Especialidad en Pediatría**

Enero 2019



ESCUELA DE
ESTUDIOS DE
POSTGRADO

Facultad de Ciencias Médicas Universidad de San Carlos de Guatemala

PME.OI.287.2018

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

ESCUELA DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

HACE CONSTAR QUE:

El (la) Doctor(a): **Raúl Antonio Baiza Molina**

Registro Académico No.: **200842084**

Ha presentado, para su EXAMEN PÚBLICO DE TESIS, previo a otorgar el grado de Maestro(a) en Ciencias Médicas con Especialidad en **Pediatría**, el trabajo de TESIS **EFICACIA SOBRE USO DE HOMOCULTIVO BACT/ALERT PF PLUS (PEDIÁTRICO) VS HEMOCULTIVO BACT/ALERT FA PLUS (ADULTOS) EN LA DETERMINACIÓN DEL CRECIMIENTO BACTERIANO EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON SOSPECHA DE SEPSIS**

Que fue asesorado: **Dr. Ricardo Alfonso Menéndez Ochoa**

Y revisado por: **Dr. Carlos Enrique Sánchez Rodas, MSc.**

Quienes lo avalan y han firmado conformes, por lo que se emite, la ORDEN DE IMPRESIÓN para **enero 2019**

Guatemala, 19 de noviembre de 2018



Dr. Carlos Humberto Vargas Reyes MSc.
Director
Escuela de Estudios de Postgrado



Dr. Luis Alfredo Ruiz Cruz MSc.
Coordinador General
Programa de Maestrías y Especialidades

Guatemala, 31 de Enero de 2018

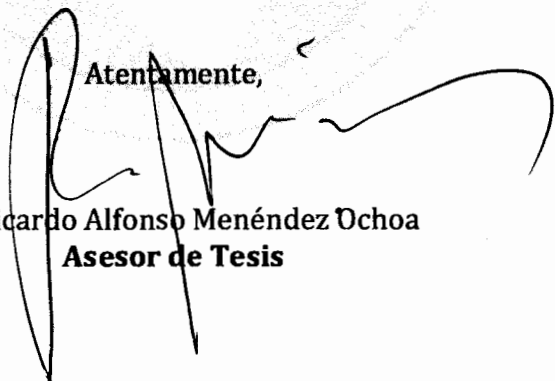
Doctor
Edgar Rolando Berganza Bocaletti MSc.
DOCENTE RESPONSABLE
MAESTRÍA EN CIENCIAS MÉDICAS CON
ESPECIALIDAD EN PEDIATRIA
Hospital Roosevelt
Presente

Estimado Dr. Berganza:

Por este medio informo que he **ASESORADO** a fondo el informe final de graduación que presenta el Doctor **RAUL ANTONIO BAIZA MOLINA** carne **200842084**, de la carrera Maestría en Ciencias Médicas con Especialidad en Pediatría, el cual se titula: **EFICACIA SOBRE EL USO DE HEMOCULTIVO BACT/ALERT PF PLUS VS BACT/ALERT PA PLUS EN LA DETERMINACIÓN DE CRECIMIENTO BACTERIANO EN PACIENTES CON SOSPECHA DE SEPSIS.**

Luego de la asesoría, hago constar que el Dr. **RAUL ANTONIO BAIZA MOLINA**, ha incluido las sugerencias dadas para el enriquecimiento del trabajo. Por lo anterior emito el dictamen positivo sobre dicho trabajo y confirmo está listo para pasar a revisión de la Unidad de Tesis de la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias Médicas.

Atentamente,


Dr. Ricardo Alfonso Menéndez Ochoa
Asesor de Tesis

Guatemala, 31 de Enero de 2018

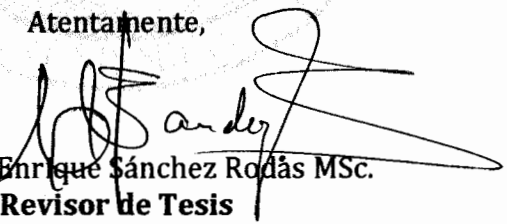
Doctor
Edgar Rolando Berganza Bocaletti MSc.
DOCENTE RESPONSABLE
MAESTRÍA EN CIENCIAS MÉDICAS CON
ESPECIALIDAD EN PEDIATRIA
Hospital Roosevelt
Presente

Estimado Dr. Berganza:

Por este medio informo que he **REVISADO** a fondo el informe final de graduación que presenta el Doctor **RAUL ANTONIO BAIZA MOLINA** carne **200842084**, de la carrera Maestría en Ciencias Médicas con Especialidad en Pediatría, el cual se titula: **EFICACIA SOBRE EL USO DE HEMOCULTIVO BACT/ALERT-PF PLUS VS BACT/ALERT PA PLUS EN LA DETERMINACIÓN DE CRECIMIENTO BACTERIANO EN PACIENTES CON SOSPECHA DE SEPSIS.**

Luego de la revisado, hago constar que el Dr. **RAUL ANTONIO BAIZA MOLINA**, ha incluido las sugerencias dadas para el enriquecimiento del trabajo. Por lo anterior emito el dictamen positivo sobre dicho trabajo y confirmo está listo para pasar a revisión de la Unidad de Tesis de la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias Médicas.

Atentamente,



Dr. Carlos Enrique Sánchez Rodas MSc.
Revisor de Tesis



Facultad de Ciencias Médicas Universidad de San Carlos de Guatemala

A: **Dr. Edgar Rolando Berganza Bocaletti MSc.**
Docente
Pediatria
Hospital Roosevelt

De: **Dra. María Victoria Pimentel Moreno**
Unidad de Tesis

Fecha Recepción: 17 de mayo 2018

Fecha de dictamen: 21 de agosto 2018

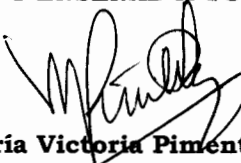
Asunto: Revisión de Informe Examen Privado

RAÚL ANTONIO BAIZA MOLINA

**“EFICACIA SOBRE USO DE HEMOCULTIVO BACT / ALERT PF PLUS (PEDIÁTRICO) VS
HEMOCULTIVO BACT / ALERT FA PLUS (ADULTOS) EN LA DETERMINACIÓN DEL
CRECIMIENTO BACTERIANO EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON SOSPECHA DE SEPSIS”**

Sugerencias de la Revisión: **Autorizar examen privado.**

“ID Y ENSEÑAD A TODOS”


Dra. María Victoria Pimentel Moreno
Unidad de Investigación de Tesis
Escuela de Estudios de Postgrado



Cc. Archivo

MVPM/karin

INDICE DE CONTENIDOS

| | PÀGINA |
|---------------------------------|--------|
| RESUMEN | i |
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| II. ANTECEDENTES | 3 |
| III. OBJETIVOS | 23 |
| IV. MATERIALES Y METODOS | 24 |
| V. RESULTADOS | 35 |
| VI. DISCUSION Y ANALISIS | 36 |
| VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS | 39 |
| VIII. ANEXOS | 42 |

INDICE DE TABLAS

| | PAGINA |
|----------------|---------------|
| TABLA 1 | 32 |
| TABLA 2 | 33 |

RESUMEN

6.1.1 Introducción: El hemocultivo continúa siendo desde 1970 el Gold standar en la detección de bacteriemia y fungemia.^{1,2} Actualmente existen métodos de identificación sistematizados por sensor de colometría, en la cual evalúa la presencia y producción de dióxido de carbono disuelto en el hemocultivo, producido por el metabolismo de algunas bacterias, capaz de inhibir antibióticos previamente utilizados por el paciente.⁹ Biomerux dispone de hemocultivos de adultos BacT/AlerT PA y pediátrico BacT/AlerT Pf. **Objetivos.** Determinar la eficacia del hemocultivo BacT/ALERT PF vs BacT/ALERT FA en la determinación del crecimiento bacteriano en pacientes con sospecha de sepsis. **Resultados.** 46 pacientes pediátricos acudieron a la emergencia con sospecha de sepsis. De los 46 hemocultivos BacT/AlerT PA plus, 5 resultaron positivos y 41 negativos; los hemocultivos BacT/AlerT PF plus 12 resultaron positivos y 34 negativos. Se aplicó la prueba estadística chi cuadrado con un grado de libertad de 1, significancia de 0.05 y p de 0.95, se evidenció chi cuadrado de 2.87 y chi crítico 3.8415; por lo que los hemocultivos BacT/ALERT PF plus realizados a pacientes con sospecha de sepsis, no demostraron tener mayor eficacia que los hemocultivos BacT/ALERT PA Plus en la determinación del crecimiento bacteriano, sin embargo, se obtuvo una concordancia moderada entre ambos hemocultivos, indicando que, aunque la concordancia no es muy buena, el hemocultivo pediátrico replica en alguna medida en los resultados de los hemocultivos de adultos en la determinación del crecimiento bacteriano en pacientes con sospecha de sepsis. **Conclusiones** En el presente estudio, el hemocultivo pediátrico constituye el método más adecuado para el diagnóstico de sepsis en el paciente pediátrico. El hemocultivo pediátrico no es estadísticamente significativo comparado con el hemocultivo de adulto. Tanto el hemocultivo pediátrico como el adulto demostraron tener un índice de concordancia moderada, sin embargo, el hemocultivo pediátrico demostró ser superior, 26% respecto al 11% del hemocultivo de adulto.

Palabras clave: Hemocultivo, Biomerux, BacT/AlerT PA plus, BacT/AlerT PF plus.

I. INTRODUCCION

En 2016, el grupo de trabajo formado por expertos en sepsis de la *European Society of Intensive Care Medicine* y de la *Society of Critical Care Medicine*, han definido la sepsis como “la disfunción orgánica causada por una respuesta anómala del huésped a la infección que supone una amenaza para la supervivencia”.¹

El hemocultivo constituye el principal método que permite el aislamiento y la identificación de los agentes causales de infección del torrente sanguíneo. Existen diferentes tipos de hemocultivos, dentro de los cuales se puede mencionar aerobios, anaerobios, hongos y micobacterias, así también pediátricos y adultos.^{1,2}

Dentro de las principales diferencias entre el Hemocultivo pediátrico vs adulto, se encuentran la cantidad de volumen sanguíneo que requieren, ya que en adultos está indicado la administración de un volumen sanguíneo de 5 a 10cc, mientras que en niños está indicado un volumen sanguíneo de 1.5 a 3cc. Estas diferencias se deben principalmente a que se ha demostrado que en la circulación de un paciente pediátrico existe mayor cantidad de microorganismos por cm³ de sangre; y que el medio para hemocultivo pediátrico contiene resinas las cuales son susceptibles a una menor cantidad de volumen sanguíneo.³

Los medios de hemocultivos utilizados en el hospital Roosevelt son principalmente para obtención de muestras sanguíneas para pacientes adultos BacT/AlerT PA Plus y estos mismos son utilizados para pacientes pediátricos, que en ocasiones la obtención de un acceso venoso para la extracción de sangre es difícil, debido al calibre vascular más pequeño, mala perfusión periférica, prefiriendo así el inicio de reanimación hemodinámica y estabilización de paciente o así mismo la administración inmediata de antibióticos; esto generaría la obtención de un volumen menor de muestra por lo que se vería afectado los resultados y así mismo podría no recibir el tratamiento adecuado, es la razón por la cual se decidió realizar este estudio, para determinar el crecimiento bacteriano utilizando el mismo volumen de muestra sanguínea obtenida del mismo paciente que ingresa a la emergencia de pediatría del Hospital Roosevelt. Se introdujo en cada medio de hemocultivo (pediátrico y adulto) la muestra de sangre necesaria y luego se determinó la eficacia que presenta cada hemocultivo, pediátrico y adulto en la determinación del crecimiento bacteriano en pacientes con sospecha de sepsis a un total de 46 pacientes que cumplieron con los criterios de sospecha de sepsis. Posteriormente se observó que de los 46 hemocultivos BacT/AlerT FA (adultos) plus, 5 resultaron positivos y 41 negativos; los hemocultivos BacT/AlerT PF (pediátrico) plus 12 resultaron positivos y 34 negativos. Se aplicó la prueba estadística chi cuadrado con un grado de libertad de 1, significancia de 0.05 y p de 0.95, se evidenció chi cuadrado de 2.87 y chi crítico 3.8415; por tanto se concluyó que los hemocultivos BacT/ALERT PF plus realizados a pacientes con sospecha de sepsis, no demostraron tener mayor eficacia que los hemocultivos BacT/ALERT PA Plus en la determinación del

crecimiento bacteriano, sin embargo, se obtuvo una concordancia moderada entre ambos hemocultivos, indicando que, aunque la concordancia no es muy buena, el hemocultivo pediátrico replica en alguna medida en los resultados de los hemocultivos de adultos en la determinación del crecimiento bacteriano en pacientes con sospecha de sepsis

II. ANTECEDENTES

La bacteriemia se define únicamente como la presencia de bacterias en sangre independientemente de su magnitud, persistencia o respuesta que provoca en el huésped demostrada por un hemocultivo positivo^{4,5,6}. El término fungemia hace referencia a la presencia de hongos en sangre. Ambas son complicaciones graves de las infecciones bacterianas y fúngicas, respectivamente, y se producen cuando los microorganismos invaden y se multiplican en el torrente sanguíneo. Así, desde 1991 en un consenso conferencia, se basan en el término de sepsis es producida de una respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) en la que se presentan síntomas relacionados al proceso infeccioso.⁴

Las definiciones de sepsis y shock séptico que conocemos hasta la actualidad, centradas en la respuesta inflamatoria del huésped, han permanecido prácticamente invariables desde la primera conferencia de consenso, realizada allá por el año 1991. Los avances en el conocimiento de la fisiopatología de la sepsis, entendida hoy como una respuesta del huésped a la infección más amplia, que involucra no sólo la activación de respuestas pro y antiinflamatorias, sino también modificaciones en vías no inmunológicas (cardiovascular, autonómica, neuronal, hormona, energética, metabólica y de coagulación) han llevado a revisar las definiciones de sepsis y shock séptico. Así, el grupo de trabajo formado por expertos en sepsis de la *European Society of Intensive Care Medicine* y de la *Society of Critical Care Medicine*, han definido la sepsis como “la disfunción orgánica causada por una respuesta anómala del huésped a la infección que supone una amenaza para la supervivencia”.¹

El hemocultivo microbiológico de la sangre constituye el principal método de certeza que permite el aislamiento y la identificación de los agentes causales de infección del torrente sanguíneo, en los casos de septicemia, el único examen que permite su confirmación. El hemocultivo se define como el cultivo de una muestra de sangre obtenida por una punción independiente en la cual se introduce en un medio especial enriquecido en el cual luego será procesado e identificará al microorganismo que produce la infección.^{1,2,3,4}

En el Hospital Roosevelt en el año 2016 acudieron a la emergencia de pediatría 96 pacientes con diagnóstico de sospecha de sepsis, a quienes se realizó hemocultivo de adulto, de los cuales únicamente el 22% dieron resultado positivo. Es importante revisar algunas características de los hemocultivos tales como: Clasificación, indicación, toma de muestra, diferenciación de bacteriemia o contaminación, sangre por catéter o punción periférica, utilidad de hemocultivos pediátricos o adultos, sistemas de hemocultivos y la interpretación de los resultados.

1. Sepsis

La sepsis es una respuesta sistémica y perjudicial del huésped a la infección que provoca la sepsis grave (disfunción orgánica aguda secundaria a infección documentada o supuesta) y choque septicémico (sepsis grave sumada a hipotensión no revertida con reanimación mediante fluidos).^{1,2,3,4}

La sepsis grave y el choque septicémico son grandes problemas de asistencia sanitaria, que afectan a millones de personas en todo el mundo cada año, una de cada cuatro personas muere a causa de ellos, y la incidencia de ambos es cada vez más acuciante.

Mientras que la sepsis en niños es una causa mayor de muerte en los países industrializados con UCI sumamente modernas, la mortalidad general por sepsis grave es mucho más baja que en adultos, con una estimación que oscila entre el 2% y el 10%.²

La sepsis neonatal se define como un Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica (SRIS) en la presencia o como resultado de infección probada o sospechada durante el primer mes de vida extrauterina^{7,8,9}. Según la edad de presentación puede ser clasificada de manera arbitraria en sepsis temprana, si aparece en los primeros 3 días de vida, que es debida generalmente a microorganismos adquiridos de vía materna y sepsis tardía, la cual se presenta después de los 3 días de vida extrauterina y es causada frecuentemente por microorganismos adquiridos después del nacimiento; esta última puede ser de adquisición nosocomial o de la comunidad.

Las definiciones de sepsis, sepsis grave, choque septicémico y síndromes disfunción/insuficiencia multiorgánica son similares a las definiciones de adultos, pero dependen de la frecuencia cardíaca, la frecuencia respiratoria y los valores umbrales de la cifra de leucocitos específicos según la edad.

1.1 Etiología

Los microorganismos más comúnmente implicados varían según la edad del paciente pediátrico, es por eso muy importante tener en cuenta que a la etiología de la sepsis en el paciente pediátrico el germen a considerar se basará en la edad y epidemiología de cada región, ya que de acuerdo a esto tomaremos en cuenta el tratamiento necesario según el germen de acuerdo a la edad.

En la sepsis neonatal difieren entre instituciones, sin embargo los Gram negativos como *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia Coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Salmonella* han sido reportados como importantes agentes etiológicos de sepsis, sobre todo en la sepsis de presentación temprana. De los microorganismos Gram positivos, el estreptococo del grupo B, *Staphylococcus aureus*, *estafilococos coagulasa negativo* y *Listeria Monocytogenes* son los más comúnmente aislados.^{5,6}

1.2 Factores de riesgo

La sepsis neonatal temprana se encuentra asociada comúnmente a ruptura prematura y prolongada (más de 18 horas) de membranas, corioamnionitis, colonización del tracto genital con *Estreptococo* del Grupo B, infección de vías urinarias, edad de gestación menor de 37 semanas, restricción en el crecimiento intrauterino, asfixia al nacimiento y sexo masculino, lo cual puede estar relacionado con genes inmunorreguladores ligados al cromosoma X. En

países en vías de desarrollo el acceso a los servicios de salud y el nivel sociocultural son factores agregados. Otros determinantes de riesgo incluyen historia de inmunodeficiencias y algunos errores del metabolismo, tal como la galactosemia.^{7,8}

| Tabla I. Factores de riesgo para la infección neonatal | |
|---|--|
| SEPSIS VERTICAL | SEPSIS NOSOCOMIAL |
| <ul style="list-style-type: none"> - Prematuridad - Rotura prematura de membranas - Rotura prolongada de membranas - Signos de corioamnionitis - Líquido amniótico maloliente - Hipoxia fetal/ depresión al nacimiento - Infección urinaria materna sin tratamiento o con tratamiento incorrecto - Gérmenes patógenos en el canal del parto (especialmente estreptococo agalactiae) | <ul style="list-style-type: none"> - RN Muy Bajo Peso - Catéteres intravasculares - Otros artefactos (tubo endotraqueal, sondajes, etc) - Nutrición parenteral - Antibioterapia previa - Cirugía |

© Asociación Española de Pediatría. Prohibida la reproducción de los contenidos sin la autorización correspondiente.
Protocolos actualizados al año 2008. Consulte condiciones de uso y posibles nuevas actualizaciones en www.aeped.es/protocolos/

9

1.3 Manifestaciones Clínicas

El diagnóstico inicial de sepsis es clínico, de ahí que haya que efectuar un examen físico muy detallado del paciente en busca de cualquier signo o síntoma, sabiendo que las manifestaciones clínicas suelen ser inaparentes, inespecíficas, a veces, de aparición tardía; otras, las menos, el inicio de la clínica es fulminante, con shock séptico, sin que exista tiempo a realizar el diagnóstico.

El distress respiratorio es el signo más común y su presentación clínica puede variar desde pausas de apnea a un grave síndrome respiratorio que requiera apoyo ventilatorio; signos cardiocirculatorios, (bradicardia con deterioro del estado general, taquicardia, hipotensión...), neurológicos (irritabilidad, hipotonía, tremor/convulsiones...), digestivos (rechazo del alimento, mala tolerancia digestiva, distensión abdominal, cutáneos (coloración pálido-grisácea, petequias, ictericia precoz), así como la mala regulación de la temperatura (es más frecuente la hipotermia en el prematuro y la hipertermia en el nacido a término), suelen estar presentes en las infecciones neonatales.^{7,8}

El diagnóstico temprano y oportuno de sepsis neonatal no es fácil porque las manifestaciones clínicas son inespecíficas y pueden avanzar rápidamente a estadios más avanzados. Los signos de alarma identificados por la Organización Mundial de la Salud (OMS) son los siguientes: convulsiones, rechazo al alimento, dificultad respiratoria, hipoactividad, polipnea. Las manifestaciones clínicas son inespecíficas y muy variadas dependiendo de la gravedad de presentación. Algunas de las principales son: distermias,

dificultad respiratoria, ictericia, apneas (con más frecuencia en prematuros), distensión abdominal, hepatomegalia, letargia, sangrados, hipoactividad, palidez, oliguria, cianosis, piel marmórea, crisis convulsivas, irritabilidad, esplenomegalia, vómito, diarrea, hipotensión arterial, petequias o equimosis, trombocitopenia y acidosis.⁷

Infección, documentada o sospechosa, y los siguientes factores:

Variables generales

- Fiebre ($> 38,3^{\circ}\text{C}$)
- Hipotermia (temperatura base $< 36^{\circ}\text{C}$)
- Frecuencia cardíaca $> 90/\text{min}^{-1}$ o más de dos sd por encima del valor normal según la edad
- Taquipnea
- Estado mental alterado
- Edema importante o equilibrio positivo de fluidos ($> 20\text{ mL/kg ml/kg}$ durante más de 24 h)
- Hiperglucemia (glucosa en plasma $> 140\text{ mg/dL}$ o $7,7\text{ mmol/l}$) en ausencia de diabetes

Variables inflamatorias

- Leucocitosis (recuento de glóbulos blancos $[\text{WBC}] > 12\,000\ \mu\text{L}^{-1}$)
- Leucopenia (recuento de glóbulos blancos $[\text{WBC}] < 4\,000\ \mu\text{L}^{-1}$)
- Recuento de WBC normal con más del 10% de formas inmaduras
- Proteína C reactiva en plasma superior a dos sd por encima del valor normal
- Procalcitonina en plasma superior a dos sd por encima del valor normal

Variables hemodinámicas

- Presión arterial sistólica (PAS) $< 90\text{ mm Hg}$, PAM $< 70\text{ mm Hg}$ o una disminución de la PAS $> 40\text{ mm Hg}$ en adultos o inferior a dos sd por debajo de lo normal según la edad)

Variables de disfunción orgánica

- Hipoxemia arterial ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 300$)
- Oliguria aguda (diuresis $< 0,5\text{ mL/kg/h}$ durante al menos 2 horas a pesar de una adecuada reanimación con fluidos)
- Aumento de creatinina $> 0,5\text{ mg/dL}$ or $44,2\ \mu\text{mol/L}$
- Anomalías en la coagulación ($\text{RIN} > 1,5$ o $\text{aPTT} > 60\text{ s}$)
- Íleo (ausencia de borborismos)
- Trombocitopenia (recuento de plaquetas $< 100\,000\ \mu\text{L}^{-1}$)
- Hiperbilirrubinemia (bilirrubina total en plasma $> 4\text{ mg/dL}$ o $70\ \mu\text{mol/L}$)

Variables de perfusión tisular

- Hyperlactatemia ($> 1\text{ mmol/L}$)
- Reducción en llenado capilar o moteado

WBC = glóbulo blanco; PAS = presión arterial sistólica; PAM = presión arterial media; RIN = razón internacional normalizada; aPTT = tiempo de tromboplastina parcial activado.

Los criterios para el diagnóstico de sepsis en la población pediátrica son signos y síntomas de inflamación e infección con hipertermia o hipotermia (temperatura rectal $> 38,5^{\circ}$ o $< 35^{\circ}\text{C}$), taquicardia (puede no observarse en pacientes hipotérmicos) y al menos alguna de las siguientes indicaciones de función orgánica alterada: estado mental alterado, hipoxemia, aumento del nivel de lactato en suero o pulso saltón.

Adaptación de Levy MM, Fink MP, Marshall JC, et al: 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med* 2003; 31: 1250-1256.

TABLA 2 SEPSIS GRAVE

Definición de sepsis grave = hipoperfusión tisular o disfunción orgánica inducida por sepsis (cualquiera de los siguientes casos debido a la infección)

Hipotensión inducida por sepsis

Lactato por encima de los límites máximos normales de laboratorio

Diuresis $< 0,5 \text{ ml/kg/h}$ durante más de 2 h a pesar de una reanimación adecuada con fluidos

Lesión pulmonar aguda con $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 250$ con ausencia de neumonía como foco de infección

Lesión pulmonar aguda con $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 200$ por neumonía como foco de infección

Creatinina $> 2,0 \text{ mg/dL}$ ($176,8 \text{ } \mu\text{mol/L}$)

Bilirrubina $> 2 \text{ mg/dL}$ ($34,2 \text{ } \mu\text{mol/L}$)

Recuento de plaquetas $< 100\,000 \text{ } \mu\text{L}$

Coagulopatía (razón internacional normalizada $> 1,5$)

Adaptación de Levy MM, Fink MP, Marshall JC, et al: 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med* 2003; 31: 1250-1256.

2

1.4 Diagnóstico

La sospecha clínica es lo principal para poder llegar al diagnóstico de sepsis neonatal e idealmente confirmarse con cultivos positivos en sangre, orina, líquido cefalorraquídeo (LCR) u otros sitios normalmente estériles. El diagnóstico debe hacerse oportunamente para poder instalar un tratamiento adecuado.^{1,2}

Ante cualquier cuadro sugestivo de sepsis, se debe realizar estudio diagnóstico completo. En sepsis temprana se deben incluir hemocultivos (central y periféricos) y cultivo de líquido cefalorraquídeo. En sepsis tardía se debe incluir además urocultivo. En casos de infecciones localizadas, se debe cultivar el sitio de infección.⁹

Sepsis vertical confirmada: RN menor de 72 horas de vida, con clínica y biología de sepsis y hemocultivo positivo. En RN mayores de 72 horas de vida se necesita para el diagnóstico: factores de riesgo de transmisión vertical, clínica y biología de sepsis, hemocultivo positivo a germen típico de transmisión vertical y ausencia de datos sugerentes de infección nosocomial.

Sepsis vertical clínica: RN menor de 72 horas de vida, con existencia de factores de riesgo de transmisión vertical, administración de antibióticos intraparto, clínica y biología de sepsis y hemocultivo negativo.

Bacteriemia vertical: RN menor de 72 horas de vida, factores de riesgo de transmisión vertical, no clínica ni biología de sepsis y hemocultivo positivo a germen típico de transmisión vertical.

Sepsis nosocomial confirmada: RN mayor de 72 horas de vida y menor de 28 días, con clínica y biología de sepsis y hemocultivo positivo. En RN menores de 72 horas de vida se necesita para el diagnóstico: factores de riesgo de transmisión horizontal, clínica y biología de sepsis, hemocultivo positivo a germen típico de transmisión horizontal, ambiente epidémico y ausencia de factores de riesgo de transmisión vertical.

Bacteriemia nosocomial: RN mayor de 72 horas de vida y menor de 28 días, factores de riesgo de transmisión nosocomial, no clínica ni biología de sepsis y hemocultivo positivo.⁹

1.5 Exámenes bacteriológicos

La prueba de infección bacteriana viene dada por el aislamiento del germen causante de dicha infección y esto se realiza mediante cultivos procedentes de los distintos fluidos corporales.

Hemocultivo es considerado “patrón de oro” para el diagnóstico de sepsis.^{1,2,5,7,8} Aproximadamente, solo un 30 por ciento de los hemocultivos darán resultados positivos.^{2,5}

Hemocultivo

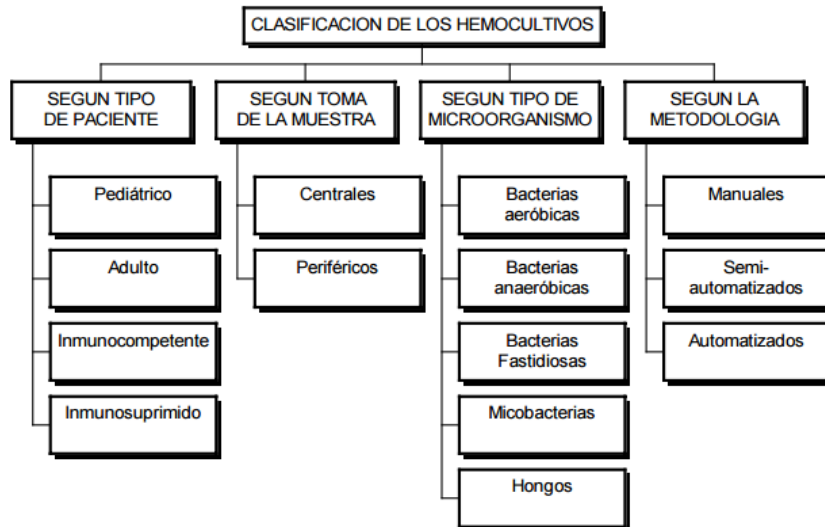
En el año 1993 se publicó el número 3 de los Procedimientos en Microbiología Clínica titulado Hemocultivos. Desde entonces se han producido importantes cambios en la incidencia y en la etiología de la bacteriemia y la fungemia, así como en los métodos para detectarlas.⁹ Actualmente existen métodos moleculares de detección rápida, los cuales no reemplazan al hemocultivo como Gold Estándar.¹⁷

Se define como hemocultivo al cultivo microbiológico de una muestra de sangre obtenida por una punción independiente.⁴

Indicaciones

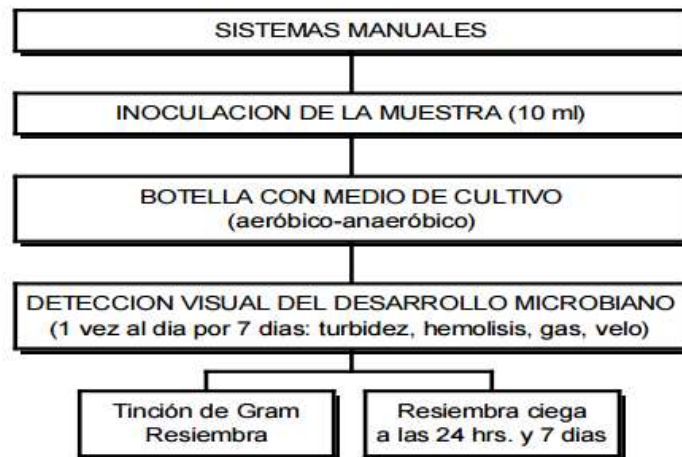
Los hemocultivos se pueden clasificar según el tipo de paciente, pues los microorganismos son distintos según si se trata de un paciente inmunosuprimido o inmunocompetente, pacientes adultos o pediátricos o si se trata de enfermos que estén o no bajo terapia antimicrobiana.⁵

Según la toma de la muestra pueden ser hemocultivos periféricos o centrales (obtenidos a través de un catéter venoso central). También pueden clasificarse según el tipo de microorganismos que se esté investigando, ya que se requieren distintos sistemas de hemocultivos según si se sospechan bacterias aeróbicas, anaeróbicas, micobacterias u hongos. Por último, se pueden clasificar según la metodología de los distintos sistemas de hemocultivos en métodos convencionales (manuales), en sistemas semiautomatizados como el sistema lisis-centrifugación o en sistemas automatizados como BACTEC, BacT/Alert, Septichek, etc.^{5,11}

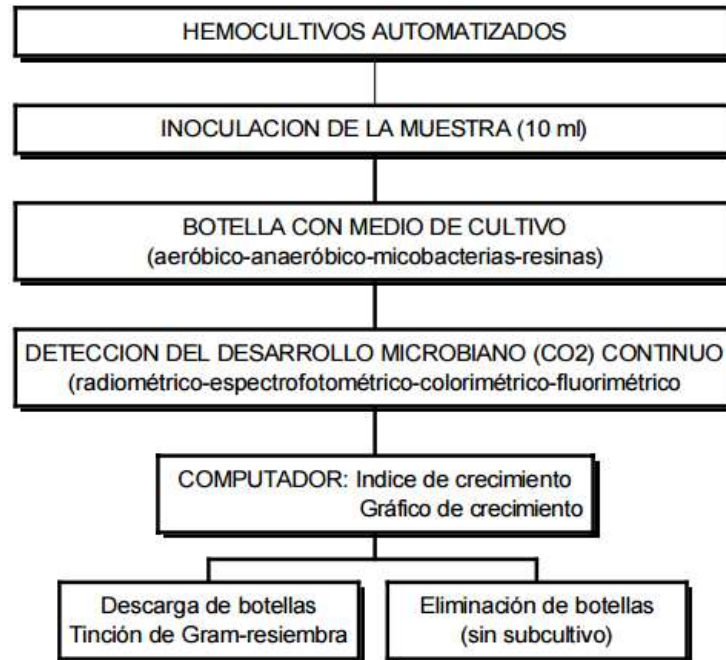


Fuente Peña P. Procedimientos y controles de bacteriología laboratorio clínico dr. Mauricio Heyermann Torres de Angol.¹¹

○ **Comparación de los sistemas manuales versus los automatizados**



Fuente Peña P. Procedimientos y controles de bacteriología laboratorio clínico dr. Mauricio Heyermann Torres de Angol.¹¹



Fuente Peña P. Procedimientos y controles de bacteriología laboratorio clínico dr. Mauricio Heyermann Torres de Angol.¹¹

a. Sistemas Manuales

El medio de cultivo debe contener 0,025 a 0,05% de polianetolsulfonato de sodio (SPS) como anticoagulante. Este inhibe la actividad bactericida del suero contra muchas bacterias y la fagocitosis, además inactiva el complemento, neutraliza lisozimas y algunos antibióticos del grupo de aminoglicósidos. *Peptostreptococcus*, *Gardnerella* y algunas cepas de *Neisseriaspp.* son inhibidas por el SPS, este efecto puede ser neutralizado suplementando el medio con gelatina 1,2%.¹¹

b. Sistemas semiautomatizados: lisis-centrifugación

Consiste en un tubo de lisis cuyo contenido es polianetolsulfonato de sodio como anticoagulante, saponina como agente lítico de eritrocitos, leucocitos y macrófagos, polipropilenglicol como antiespumante y un fluoroquímico inerte de alta densidad. Luego se somete a la muestra a una centrifugación a alta velocidad que permite la concentración de microorganismos en el sedimento que se siembra en medios de cultivo específicos.¹¹

En general, este método permite mejorar en un 25 a 50% la detección de hongos levaduriformes y filamentosos, se considera el método de elección en bacteriemias por *Micobacterias* (pacientes HIV) y permite realizar hemocultivos cuantitativos que son útiles para diagnóstico de bacteriemia relacionada a Catéter Venoso Central.¹¹

c. Sistemas Automatizados

Los sistemas automatizados consisten básicamente en botellas con diversos medios de cultivo (aeróbicos, anaeróbicos, hongos, micobacterias y con resinas que captan antibióticos) que se incuban en equipos que agitan constantemente las muestras y que poseen modernos sistemas de detección microbiana.^{11,12}

Estos se basan en la detección de productos del metabolismo bacteriano (CO₂) mediante técnicas radiométricas, espectrofotométricas, fluorométricas y/o colorimétricas. El computador asociado a los equipos relaciona las mediciones con índices y/o gráficas de crecimiento microbiano que dan un aviso cuando la detección sobrepasa un punto de corte. Las botellas se descargan, se hace una tinción de Gram y se informan precozmente.^{11,12}

2. Toma de muestra

Se ha documentado que el mejor momento para obtener la muestra de sangre es entre 2 horas a 30 minutos antes del pico febril. Thomson y Evans demostraron en 78 episodios de bacteriemia que el porcentaje más alto de positividad (14%) de los hemocultivos era en el grupo de pacientes cuyas muestras se habían obtenido entre 2,5 y 0,5 horas pre-pico febril en comparación con las muestras obtenidas durante el pico febril (8%) y las muestras obtenidas entre 12 y 2,5 horas pre-pico febril o las muestras obtenidas 1 a 12 horas post-pico febril.^{11,12}

Por esto el mejor momento sería antes del inicio del pico febril el que puede ser precedido por calofríos. Sin embargo, dado que este momento no se puede predecir, se recomienda en forma arbitraria obtener dos hemocultivos en 24 horas separados por 30 a 90 minutos o bien obtener los dos hemocultivos al mismo tiempo, de diferentes sitios de punción, si se trata de un paciente que va a requerir inicio inmediato de antimicrobianos.^{3,9,10,11}

2.1 Método de obtención de la muestra

La muestra debe obtenerse por punción periférica (venosa o arterial), siempre por una nueva punción y debe ser la primera muestra que debe obtenerse si existe indicación de otros exámenes. La muestra obtenida por catéter venoso central es una muestra inadecuada, ya que estudios de microscopía electrónica han revelado que el 100% de los catéteres se colonizan con microorganismos de la piel a las 48 horas de instalados.^{11,12}

2.2 Preparación de la piel

Después de la palpación de la vena, la piel debe ser lavada con povidona yodada, lavador quirúrgico, con gluconato de clorhexidina al 2-4% o con agua y jabón. La desinfección de la piel se realiza con povidona yodada, tintura de yodo o con clorhexidina alcohólica, según lo que se haya utilizado como lavador, aplicado en forma excéntrica desde el sitio de punción elegido. Se debe esperar que el antiséptico se seque para que ejerza su acción residual.^{11,12} Si se utiliza tintura de yodo, se debe retirar completamente con agua para evitar quemaduras. Siempre la punción debe ser efectuada con guantes estériles.^{5,11}

2.3 Volumen de la muestra

Para la gran mayoría de los sistemas automatizados este volumen es de 10 ml para adultos y es variable para los niños según la edad: 1 a 2 ml para recién nacidos, 2 a 3 ml para lactantes de 1 mes a 2 años, 3 a 5 ml para niños mayores de 2 años y 10 ml para adolescentes.^{9,10,11,12}

2.4 Inoculación de las botellas

En el caso de los sistemas automatizados, se debe descontaminar el tapón de goma antes de puncionar la botella con alcohol y esperar que se seque, ya que no se garantiza la esterilidad de este. Existen controversias respecto al cambio de aguja antes de inocular la muestra en la botella, sin embargo, un meta-análisis reciente demuestra que el cambio de aguja disminuye el porcentaje de contaminación. En el caso de los sistemas manuales que no son sellados, se debe destapar el frasco para inocular la muestra.¹⁴

2.5 Número de los hemocultivos

La recomendación general es obtener dos hemocultivos en un período de 24 horas. La obtención de 2 hemocultivos en 24 horas, no sólo aumenta la probabilidad de recuperar las bacterias a partir de la sangre, sino que también permite diferenciar una bacteriemia verdadera de una contaminación.^{10,11,12,15}

Si se sospecha endocarditis infecciosa, se recomienda obtener el primer set de 2 hemocultivos y si estos van negativos en las primeras 24 horas, obtener un segundo set de 2 hemocultivos más. En ningún caso se recomienda la obtención de sólo un hemocultivo y en el último tiempo se ha considerado la evaluación de los hemocultivos solitarios (únicos) como un instrumento para evaluar el control de calidad en microbiología.^{11,12}

3. Mantención y transporte de las botellas

Mantener a temperatura ambiente y enviar rápidamente al laboratorio. Nunca refrigerar. Las muestras se transportan a temperatura ambiente. La incubación a 35°C debe realizarse lo antes posible, pudiendo darse como máximo de tiempo 2 horas desde que se tomó la muestra.^{10,11,15,16}

4. Procedimiento

Mantener las precauciones de bioseguridad universales para nivel II para el manejo de líquidos corporales, en la toma de muestra y en el transporte.

- a. Los hemocultivos corrientes se incuban por 7 días a 35°C en atmósfera normal y en endocarditis bacteriana subaguda hasta 14 días.^{10,12,15}
- b. Observar diariamente el aspecto macroscópico en busca de signos que indiquen desarrollo bacteriano: hemólisis, turbidez, presencia de gas, colonias, etc. En ese momento hacer tinción de Gram directo de la siguiente forma: homogeneizar el contenido del frasco de hemocultivo por agitación suave, colocar una gota en el extremo del porta objeto y extender con un cubre objeto en ángulo 45°. Cultivar a una

placa de agar chocolate suplementado y a una placa de agar sangre de cordero al 5%.^{11,12}

- c. Realizar subcultivos ciegos, aunque no se observen evidencias de desarrollo a las 24 horas y al 7º día de incubación, independientemente del aspecto macroscópico que presente la botella.
- d. Observar características macroscópicas de las colonias y hacer tinción de Gram directo.
- e. Efectuar las pruebas bioquímicas y estudio de susceptibilidad antimicrobiana que corresponda al tipo de aislamiento.^{11,12}

4.1 Examen de los cultivos

TABLA N°2. Microorganismos asociados al aspecto macroscópico de hemocultivos

| Aspecto macroscópico | Microorganismo asociado |
|---------------------------------|--|
| Hemólisis | <i>Streptococcus</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Listeria</i> spp. <i>Clostridium</i> , <i>Bacillus</i> spp. |
| Turbidez | Bacilo gramnegativo aerobio, <i>Staphylococcus</i> , <i>Bacteroides</i> spp. |
| Formación de gas | Bacilo gramnegativo aerobio, anaerobios |
| Formación de velo | <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Bacillus</i> spp., levaduras |
| Coágulo | <i>Staphylococcus aureus</i> |
| Colonias visibles (puntiformes) | <i>Staphylococcus</i> , <i>Streptococcus</i> |

Fuente Peña P. Procedimientos y controles de bacteriología laboratorio clínico dr. Mauricio Heyermann Torres de Angol.¹¹

4.2 Selección del medio de cultivo dependiendo de la tinción de gram

Tabla 4. Identificación preliminar de microorganismos de hemocultivos basada en la tinción de Gram

| | Tinción de Gram | Identificación preliminar |
|--------------------|------------------------------|---|
| Cocos | Gram (+) en racimos | TSI, DNAsa o coagulasa, novobiocina, antibiograma en agar Mueller Hinton |
| | Gram (+) en diplos o cadenas | Optoquina, bacitracina, bilis-esculina, antibiograma en agar sangre |
| | Gram (-) | Antibiograma en agar chocolate incubado en CO ₂ (<i>Neisseria</i>) |
| Bacilos | Gram (+) y corineformes | Esculina, antibiograma en agar sangre |
| | Gram (-) | Pruebas bioquímicas de identificación, antibiograma en agar Mueller Hinton |
| Cocobacilos | Gram (-) | Antibiograma en agar chocolate incubado en CO ₂ (<i>Haemophilus</i>) |
| Levaduras | | Agar Saboureaud+cloranfenicol, agar Saboureaud+cloranfenicol+cicloheximida |
| Flora mixta | Gram (+) y Gram (-) | Agar sangre+ácido nalidixico, agar MacConkey |

Fuente Peña P. Procedimientos y controles de bacteriología laboratorio clínico dr. Mauricio Heyermann Torres de Angol.¹¹

5. Interpretación de resultados

5.1 Diferenciación de bacteriemia verdadera versus contaminación

No todos los hemocultivos positivos son clínicamente significativos. Se acepta un porcentaje de contaminación que varía entre un 2 a 3% y representa costos muy altos para las instituciones y los pacientes. Esta contaminación se atribuye principalmente a una contaminación durante la toma de la muestra.¹¹

5.1.1 Tipo de microorganismo

Cuando el microorganismo aislado corresponde a flora de la piel, es necesario diferenciar si se trata de una bacteriemia verdadera o de una contaminación.

Clásicamente se ha establecido que un 94% de *Staphylococcus coagulasa negativo* aislados de un sólo hemocultivo, corresponden a contaminaciones. Lo mismo ocurre en el 94 % de *Bacillus spp.*, 99% de *Propionibacterium* spp., 79% de *Corynebacterium spp.*, 50% de *Clostridium perfringens* y 48% de *Streptococcus viridans*.¹¹

Sin embargo, estos pueden ser considerados patógenos cuando se aíslan en hemocultivos múltiples, cuando corresponden a pacientes inmunosuprimidos o a pacientes portadores de dispositivos protésicos.

5.1.2 Hemocultivos positivos múltiples al mismo microorganismo

Se considera como bacteriemia verdadera cuando se aísla el mismo microorganismo en varios hemocultivos, aunque sean microorganismos de la piel.¹¹

5.1.3 Hemocultivos positivos más un cultivo de sitio estéril positivo para el mismo microorganismo

Este es uno de los criterios que se utiliza para el diagnóstico confirmado de bacteriemia relacionada a catéter venoso central, cuando en la punta del catéter se aísla en un recuento significativo.¹¹

5.2 Hemocultivos obtenidos a través de catéteres venosos centrales

En la actualidad el método recomendado para el diagnóstico de infección relacionado a catéteres venosos centrales, sin retiro del mismo, son los hemocultivos cuantitativos, que consiste en la comparación entre los recuentos obtenidos por sangre periférica y de sangre por el catéter.¹¹

BacT/ALERT FA y PF

El sistema de detección microbiana BacT/ALERT se utiliza para determinar si hay microorganismos en la sangre obtenida de un paciente que se sospecha que presenta una bacteriemia o fungemia. El sistema y los frascos de cultivo BacT/ALERT proporcionan un sistema de detección microbiana y un medio de cultivo con condiciones nutricionales y ambientales adecuadas para microorganismos presentes habitualmente en las infecciones de la sangre.^{4,16,17}

El frasco de cultivo BacT/ALERT PF se desarrolló para proporcionar un método rápido y sensible para la detección de microorganismos cuando se dispone de un volumen pequeño de sangre. Se coloca el frasco inoculado en el instrumento, donde es incubado y controlado continuamente para detectar la posible presencia de microorganismos que crecen en los frascos BacT/ALERT PF.¹³

Principio de la prueba

El sistema de detección microbiana BacT/ALERT utiliza un sensor colorimétrico y la luz reflejada para controlar la presencia y la producción de dióxido de carbono (CO₂) disuelto en el medio de cultivo. Si hay microorganismos en la muestra de ensayo, se produce dióxido de carbono a medida que éstos metabolizan los sustratos presentes en el medio de cultivo. Cuando el crecimiento de los microorganismos produce CO₂, el color del sensor permeable a gas instalado en el fondo de cada botella de cultivo cambia de color azul-verdoso a amarillo.^{12,13}

El color más claro es resultado de un aumento de las unidades de reflectancia monitorizadas por el sistema. El instrumento monitoriza y registra la reflectancia del frasco cada 10 minutos.^{12,13}

Observaciones

- Manipule las muestras y los frascos de cultivo inoculados como si fueran capaces de transmitir agentes infecciosos. Todos los frascos de cultivo inoculados, las agujas para toma de muestras y los dispositivos de extracción de sangre deben ser descontaminados de acuerdo con los procedimientos del centro.^{9,11,12,13}

Para una adecuada muestra de hemocultivo es indispensable utilizar el medio de hemocultivo ideal para cada paciente, ya que existen medios tanto pediátricos como para adultos, los cuales difieren en múltiples características mencionadas a continuación:^{12,13}

- BacT/ALERT FA (Color verde) Adultos

Los frascos de cultivo desechables BacT/ALERT PF contienen 22 ml de medio complejo y 8 ml de una suspensión de carbón con una densidad media de 1,0215 g/ml. El componente del medio está compuesto de digerido caseínico de soja (2,0% p/v), sólidos de infusión de cerebro-corazón (0,1% p/v), polianetol sulfonato de sodio (SPS) (0,025% p/v), clorhidrato de

piridoxina (0,001% p/v), menadiona (0,0000625% p/v), hemina (0,000625% p/v), L-cisteína (0,025% p/v), y otros sustratos de carbohidratos y aminoácidos complejos en agua purificada. Los frascos contienen una atmósfera de CO₂ en oxígeno y nitrógeno bajo vacío. Es posible ajustar la composición del medio para que cumpla requisitos de rendimiento específicos.^{9,19}

- BacT/ALERT PF (color amarillo) Pediátrico

Los frascos de cultivo desechables BacT/ALERT PF contienen 16 ml de medio complejo y 4 ml de una suspensión de carbón con una densidad media de 1,0215 g/ml. El componente del medio está compuesto de digerido caseínico de soja (2,0% p/v), sólidos de infusión de cerebro-corazón (0,1% p/v), polianetol sulfonato de sodio (SPS) (0,025% p/v), clorhidrato de piridoxina (0,001% p/v), menadiona (0,0000625% p/v), hemina (0,000625% p/v), L-cisteína (0,025% p/v), y otros sustratos de carbohidratos y aminoácidos complejos en agua purificada. Los frascos contienen una atmósfera de CO₂ en oxígeno y nitrógeno bajo vacío. Es posible ajustar la composición del medio para que cumpla requisitos de rendimiento específicos.^{9,20}

Es posible que determinados microorganismos exigentes raros no crezcan o crezcan lentamente en el medio de crecimiento del frasco de cultivo BacT/ALERT PF. Si se sospecha la presencia de microorganismos exigentes raros que requieren medios y condiciones de cultivo especiales, debe considerarse la posibilidad de utilizar métodos alternativos o tiempos de incubación ampliados para su recuperación.^{9,11,14,15}

En raras ocasiones pueden encontrarse microorganismos que crezcan en los medios de crecimiento de los frascos de cultivo BacT/ALERT PF, pero sin que produzcan suficiente dióxido de carbono para dar un resultado positivo. Un factor que puede dar lugar a esta situación es la presencia de antibióticos activos en una muestra.⁹

Materiales adicionales requeridos

- Sistemas de detección microbiana BacT/ALERTÆ
 - Aparato para la extracción de sangre
 - Agujas estériles de toracocentesis/unidades para subcultivo
 - Guantes desechables
 - Recipientes apropiados para desechos de riesgo biológico de materiales potencialmente contaminados con agentes infecciosos ⁹
-
- **Materiales disponibles en bioMérieux**
 - Tapa adaptadora para recogida de sangre BacT/ALERTÆ
 - Sistemas de detección microbiana BacT/ALERTÆ
 - Agujas estériles de toracocentesis/unidades para subcultivo ⁹

Instrucciones de conservación

Los frascos de cultivo BacT/ALERT se presentan listos para su uso. Conserve a temperatura ambiente (15-30 °C) protegidos de la luz directa del sol. En la etiqueta de cada frasco viene impresa la fecha de caducidad. No utilice los frascos de cultivo después del último día del mes indicado. La exposición de los frascos a una temperatura menor de 15 °C puede causar la formación de precipitados, que desaparecen cuando se calienten los frascos a temperatura ambiente. Los frascos deben estar a temperatura ambiente antes de su uso.^{5,10}

Indicadores físicos o químicos de inestabilidad

Antes de su uso, deben examinarse los frascos de cultivo BacT/ALERT en busca de signos de daños o deterioro (cambio de coloración). Los frascos que muestren signos de daños, fuga o deterioro deben desecharse. El medio en los frascos sin tocar debe estar transparente, aunque podría haber una leve opalescencia o rastros de precipitado debido a la evidencia de SPS anticoagulante. No confunda la opalescencia con turbidez. No utilice frascos en los que el medio de cultivo esté turbio, el sensor esté de color amarillo o la presión de gas sea excesiva, ya que todos ellos son signos de posible contaminación.^{5,19,20}

Recogida y preparación de muestras

- Los frascos de cultivo BacT/ALERT PF deben ser utilizados por personal de laboratorio con la experiencia adecuada. Al obtener muestras de sangre para cultivo es muy importante recoger la muestra de manera correcta.
- Debe procurarse evitar la contaminación durante la preparación del frasco y la inoculación de la muestra del paciente. Es esencial desinfectar adecuadamente la piel para reducir la incidencia de contaminación.
- Aunque biomérieux no lo recomienda, puede extraerse la sangre directamente en tubos de recogida que contengan SPS. Nunca deben usarse tubos que contengan otros anticoagulantes para hemocultivo.
- Biomérieux recomienda colocar los frascos de cultivo inoculados en el sistema de detección microbiana BacT/ALERT lo antes posible después de su recogida. Los frascos de cultivo inoculados cuya introducción se difiera deben mantenerse a temperatura ambiente hasta que puedan colocarse en el instrumento.

Preparación de los frascos

1. Etiquete el frasco de cultivo con la información del paciente. Los iconos en la etiqueta del frasco pueden ser definidos por el usuario.
2. Retire la tapa de plástico del frasco de cultivo. Antes de la inoculación, desinfecte el frasco de cultivo con una gasa impregnada en alcohol o su equivalente. Deje secar al aire.
3. Limpie el lugar seleccionado de la venopunción.⁹

Procedimiento de inoculación directa.

Observaciones

- Si se inocula más de un tipo de frasco de hemocultivo BacT/ALERT utilizando un equipo de mariposa para recogida de sangre y una tapa adaptadora de extracción directa, inocule primero el frasco de cultivo para aerobios y después el frasco de cultivo para anaerobios para que el oxígeno que pueda haber atrapado en el tubo del adaptador no sea transferido al frasco para anaerobios.
- Monitoree el proceso de extracción directa detenidamente en todo momento durante la recogida para asegurarse de obtener un flujo apropiado y para evitar que el contenido del frasco fluya al interior del tubo del adaptador. Debido a la presencia de aditivos químicos en el frasco de cultivo, es importante seguir todos los pasos que aparecen a continuación para evitar un posible retroceso y las reacciones adversas subsiguientes.^{9,12}
 - a. Sujete el frasco de cultivo en una posición por debajo del brazo del paciente, con el frasco en posición vertical (el tapón hacia arriba).
 - b. Recoja la sangre utilizando un equipo de mariposa para recogida de sangre y la tapa adaptadora para recogida de sangre BacT/ALERT según lo recomienda el procedimiento aprobado por su institución e inocule directamente en el frasco de cultivo BacT/ALERT MB a la cabecera del paciente. Aunque pueden utilizarse volúmenes de muestra menores, la recuperación puede mejorarse utilizando un volumen de muestra próximo al valor recomendado de 4 ml. Para evitar una inoculación excesiva, vigile el volumen de sangre que entra en el frasco de cultivo utilizando las marcas incrementales de 4 ml de la etiqueta del frasco.
 - c. Suelte el torniquete apenas comienza a fluir la sangre en el frasco de cultivo, o dentro de los 2 minutos de aplicación.
 - d. No permita que el contenido del frasco de cultivo toque el tapón ni el extremo de la aguja durante el procedimiento de recogida. Un frasco de cultivo contaminado podría contener una presión positiva, y si se utiliza para la extracción directa, puede causar un reflujo al interior de la vena del paciente. La contaminación del frasco de cultivo tal vez no sea fácilmente aparente. Monitoree detenidamente el proceso de extracción directa para evitar el reflujo. No utilice frascos en los que el medio de cultivo esté turbio, el sensor esté de color amarillo o la presión de gas sea excesiva, ya que todos ellos son signos de posible contaminación. Procedimiento de inoculación por extracción de la jeringa^{9,12}
- Si se inocula más de un tipo de frasco de hemocultivo BacT/ALERT mediante extracción en una jeringa, inocule primero el frasco de cultivo para anaerobios y después el frasco de cultivo para aerobios para que el oxígeno que pueda haber atrapado en la jeringa no sea transferido al frasco para anaerobios. Deben utilizarse las marcas de la etiqueta del frasco para calcular el volumen de la muestra. a. Realice la venopunción y la transferencia de sangre al frasco de cultivo BacT/ALERT de acuerdo con los procedimientos establecidos de su institución.^{9,12}

Procedimiento de análisis de los frascos de cultivo

1. Utilice guantes desechables y manipule los frascos inoculados con precaución como si fueran capaces de transmitir agentes infecciosos. Consulte inmediatamente a un médico en caso de ingestión de materiales contaminados o si éstos entrasen en contacto con laceraciones abiertas, lesiones u otras heridas cutáneas.
2. Limpie inmediatamente cualquier salpicadura de material contaminado utilizando una dilución 1:10 de hipoclorito sódico al 5%. Deseche los materiales de limpieza utilizando un método aceptable.
3. Todos los frascos de cultivo inoculados, las agujas para toma de muestras y los dispositivos de extracción de sangre deben ser descontaminados de acuerdo con los procedimientos del centro.
4. Estos frascos deben ser utilizados por personal de laboratorio con la formación adecuada.^{9,11,12}

Notas relativas al procedimiento y precauciones

1. Debe tenerse mucho cuidado de evitar la contaminación de la muestra del paciente durante la venopunción y la inoculación en el frasco de cultivo, ya que la contaminación podría provocar resultados positivos en muestras que en realidad no contienen cepas clínicamente relevantes.
2. Obtenga las muestras de sangre antes de iniciar el tratamiento con antibióticos. Si esto no es posible, extraiga la sangre justo antes de administrar la siguiente dosis de antibiótico.
3. Si los frascos de cultivo inoculados han sufrido algún retraso en su llegada al laboratorio o han sido incubados antes de su introducción en el instrumento BacT/ALERT, deben inspeccionarse visualmente en busca de signos de crecimiento microbiano. Si es evidente el crecimiento microbiano, trate los frascos como positivos y absténgase de introducirlos en el sistema de detección microbiana BacT/ALERT para su control.^{9,11,12}

Precauciones

Deben tomarse precauciones generales al subcultivar los frascos de cultivo positivos, ya que podrían haberse llenado excesivamente o contener organismos productores de cantidades grandes de gas. El contenido de los frascos de cultivo positivos podría encontrarse a una presión interna mayor. Es preciso ventilar momentáneamente los frascos de cultivo positivos antes de teñirlos o desecharlos a fin de liberar el gas que pueda haberse generado durante el metabolismo microbiano.¹⁶

1. Inspeccione los frascos antes del análisis. No utilice frascos que presenten signos de daños, fuga o deterioro. Los frascos que presenten hemólisis, turbidez, presión excesiva de gas, sensores amarillos o signos de crecimiento deben considerarse positivos. Efectúe baciloscopía y subcultivos. No incube los frascos a menos que la baciloscopía sea negativa.
2. Una vez cargados, los frascos de cultivo deben incubarse en el instrumento entre cinco y siete días o hasta que se los designe como positivo.
3. Efectúe baciloscopía y subcultivos de todos los frascos positivos. Si la baciloscopía es negativa, lo cual podría indicar un resultado falsamente positivo, debe volver a colocarse el frasco en el instrumento hasta que sea redesignado como positivo o

hasta que se detecte crecimiento del subcultivo. Los frascos que inicialmente produjeron resultados falsamente positivos y que sean redesignados como positivos deben someterse a baciloscopia y subcultivos.

4. Los frascos negativos se pueden comprobar por baciloscopia y/o subcultivo en algún momento antes de desecharlos como negativos.
5. En el manual del usuario se especifican los procedimientos para cargar y extraer los frascos de cultivo en el instrumento BacT/ALERT.
6. No reutilice los frascos de cultivo BacT/ALERT. Deseche los frascos de cultivo BacT/ALERT inoculados conforme al protocolo del laboratorio. Los frascos BacT/ALERT inoculados pueden procesarse en autoclave o incinerarse.
7. La utilización de dispositivos perforadores (es decir, agujas con punta roma) para perforar el septo puede resultar en fugas del frasco.^{11,12}

Control de calidad

Con cada caja de frascos de cultivo se proporciona un certificado de conformidad. Si se desea, cada laboratorio puede realizar análisis de control de calidad de los frascos de cultivo BacT/ALERT PF.^{9,12}

Resultados

El software de toma de decisiones instalado en los sistemas de detección microbiana BacT/ALERT clasifica los frascos de cultivo como positivos o negativos. No se requiere tomar ninguna medida hasta que el instrumento BacT/ALERT señale un frasco de cultivo como positivo o negativo.^{9,12}

Limitaciones de la prueba

1. Se recomienda un volumen de sangre de 4 ml. Los volúmenes mayores de 4 ml no mantienen la relación óptima sangre:medio de cultivo.
2. Las muestras de paciente que BacT/ALERT señale como positivas pueden contener microorganismos que produzcan resultados positivos por baciloscopia pero que no crezcan en los medios de subcultivo sistemáticos. Si se sospecha esta situación, deben subcultivarse las muestras en medios de cultivo especiales. Además, las muestras clasificadas como positivas por BacT/ALERT pueden contener microorganismos que no se detecten con los métodos sistemáticos de baciloscopia y puede que requieran tanto métodos de baciloscopia como medios de subcultivo especializados para su detección y recuperación.
3. La presencia de carbón activado aparece como un precipitado negro en el frotis, lo que inicialmente podría ser difícil de interpretar. La facilidad de interpretación mejora con la experiencia.
4. Determinadas cepas de *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoeae* y *Peptostreptococcus anaerobius* pueden ser sensibles al anticoagulante SPS, lo cual puede causar la ausencia de crecimiento o una baja producción de CO₂ por estas cepas si se inocula una cantidad insuficiente de muestra de sangre en los frascos de cultivo.
5. En raras ocasiones pueden producirse resultados positivos en los frascos de cultivo BacT/ALERT debido a la presencia de un número muy alto de leucocitos en la muestra de sangre. En estos casos, los resultados de la baciloscopia y del subcultivo pueden ser negativos.

6. Los microorganismos a menudo están presentes en un número escaso y pueden aparecer intermitentemente en el torrente sanguíneo; por consiguiente, deben extraerse muestras de sangre consecutivas de cada paciente.
7. Extraiga sin demora los frascos de cultivo positivos cuando así sean clasificados por el instrumento BacT/ALERT para evitar la posibilidad de cultivos no viables debido a autólisis u otras razones. Ciertas cepas de *Streptococcus pneumoniae* pueden ser especialmente propensas a la autólisis si no se las extrae poco tiempo después de que hayan sido señaladas como positivas.
8. En ocasiones, una extensión teñida con Gram de un frasco negativo puede contener un pequeño número de microorganismos no viables que proceden de componentes del medio de cultivo, reactivos de tinción, aceite de inmersión o de los portaobjetos; por consiguiente, se trata de resultados falsos positivos.^{9,12}

Características de rendimiento de la prueba

Se realizaron estudios internos de siembra utilizando los siguientes microorganismos a niveles de ≤ 10 UFC/frasco y ≤ 100 UFC/frasco en sangre humana de una población adulta sana.

| Microorganismo | Inóculo (UFC/frasco) | Tiempo de detección (horas) ^a BacT/ALERT PF (Plástico) |
|--|-------------------------|---|
| Grampositivos (<i>M. luteus</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>S. agalactiae</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>S. pneumoniae</i> , <i>S. pyogenes</i> , <i>Streptococcus</i> Grupo C, <i>S. sanguis</i> , <i>L. monocytogenes</i>) | ≤ 100 | 13,6 - 34,5 |
| | ≤ 10 | 14,3 - 72,0 |
| Gramnegativos (<i>E. coli</i> , <i>H. influenzae</i> , <i>N. meningitidis</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. maltophilia</i> , <i>A. baumannii</i> , <i>A. faecalis</i> , <i>E. cloacae</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>S. marcescens</i>) | ≤ 100 | 10,4 - 39,8 |
| | ≤ 10 | 12,0 - 43,1 |
| Levaduras (<i>C. albicans</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>T. glabrata</i>) | ≤ 100 | 17,4 - 62,4 |
| | ≤ 10 | 20,5 - 70,4 |

^a Se analizó cada organismo por triplicado y se obtuvieron las medias. Los valores mostrados son un intervalo de estas medias.

NOTA: Puede solicitarse a bioMérieux una lista de organismos raros y exigentes recuperados con los frascos de cultivo BacT/ALERT.⁸

Fuente Peña P. Procedimientos y controles de bacteriología laboratorio clínico dr. Mauricio Heyermann Torres de Angol.¹¹

Diferencias entre hemocultivos PF, FA

| BacT/ALERT PF PLUS | BacT/ALERT® FA PLUS |
|---|--|
| Color Amarillo | Color Verde Claro |
| 4ml para realizar prueba | 10ml para realizar prueba |
| 16 ml de complejo | 22 ml de medio complejo |
| 4 ml de Carbón Activado densidad (1.025g/ml) | 8 ml carbón con una densidad media de 1,0155 g/ml |
| componente del medio digerido caseínico de soja (2,0% p/v) | componente del medio digerido caseínico de soja (2,0% p/v) |
| sólidos de infusión de cerebro-corazón (0,1% p/v), | sólidos de infusión de cerebro-corazón (0,1% p/v) |
| polianetol sulfonato de sodio (SPS) (0,025% p/v) | polianetol sulfonato de sodio (SPS) (0,05% p/v) |
| clorhidrato de piridoxina (0,001% p/v | clorhidrato de piridoxina (0,001% p/v), |
| menadiona (0,0000625% p/v) | menadiona (0,0000725% p/v) |
| hemina (0,000625% p/v) | hemina (0,000725% p/v), |
| L-cisteína (0,025% p/v) | L-cisteína (0,03% p/v) |

Fuente: Biomerux ^{18,21,22}

III. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la eficacia del hemocultivo BacT/ALERT PF vs BacT/ALERT FA en la determinación del crecimiento bacteriano en pacientes con sospecha de sepsis que ingresan a la emergencia de pediatría del Hospital Roosevelt.

3.2 OBJETIVO ESPECIFICOS

3.2.1

Determinar la concordancia del hemocultivo BacT/ALERT PF vs BacT/ALERT FA en pacientes pediátricos con sospecha de sepsis.

3.2.3

Fomentar a las autoridades administrativas en la implementación de hemocultivo pediátrico en el departamento de pediatría

3.2.4

Describir la importancia de la realización de hemocultivo con medio de hemocultivo ideal para la edad.

IV. MATERIAL Y METODOS

4.1 TIPO DE ESTUDIO:

Estudio cuantitativo, longitudinal, no probabilístico y analítico

4.2 POBLACIÓN:

Paciente pediátrico con sospecha de sepsis que asiste a la emergencia del departamento de pediatría del Hospital Roosevelt

4.3 SELECCIÓN Y TAMAÑO DE LA MUESTRA:

Se realizó un muestreo no probabilístico por conveniencia en la cual se seleccionó a todo paciente pediátrico que cursó con sospecha de sepsis que ingresaron a la emergencia de pediatría del Hospital Roosevelt.

4.4 CRITERIOS DE INCLUSION:

- Pacientes Guatemaltecos.
- Pacientes femeninos y masculinos.
- Paciente pediátrico que curse con criterios de sospecha de sepsis que consulten a la emergencia de pediatría del Hospital Roosevelt.
- Hemocultivo realizado, adulto y pediátrico, deberá contener un volumen de 5 cc de muestra sanguínea (adulto) y 3 cc (pediátrico) obtenidos del mismo paciente con sospecha de sepsis previo al inicio de cobertura antibiótica durante la hora de oro.
- Ingresaran al estudio los hemocultivos realizados a pacientes pesar que hayan recibido antibióticos orales una semana antes a su ingreso.

1.5 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

- Paciente que por el estado crítico no sea preciso realizar.
- Hemocultivos que por cualquier motivo no sean entregados al laboratorio de microbiología en un lapso de 2 horas
- Hemocultivo realizado por personal no capacitado para la extracción.

4.6 VARIABLES:

- Edad
- Sexo
- Eficacia
- Septicemia
- Sospecha de sepsis
- Extractor de muestra sanguínea
- Precauciones universales de bioseguridad
- Hemocultivo BacT/ALERT PF pediátrico
- Hemocultivo BacT/ALERT FA Adulto
- Crecimiento y detección bacteriana
- Uso de antibióticos previo al hemocultivo

4.7 OPERALIZACION DE VARIABLES

| Variable | Definición Conceptual | Definición operacional | Tipo de variable | Escala de Medición | Unidad de medida |
|-----------------------------------|--|---|------------------|--------------------|---|
| DEPENDIENTES Edad | Tiempo de vida cumplido desde su nacimiento hasta un momento determinado. | - Neonatos (0 – 28 días) -Lactantes (1 mes a 1 año) -Preescolares (1año a 6 años) -Escolares (7-13 años) | Cuantitativa | Razón | Boleta de recolección de datos. |
| Sexo | Condición orgánica, masculina o femenina, de los seres vivos. | -Masculino -Femenino | Cualitativa | Nominal | Boleta de recolección de datos. |
| INDEPENDIENTES Eficacia | La Real Academia Española define como la capacidad de lograr el efecto que se desea o se espera. | Detección de microorganismos con la misma cantidad de volumen sanguíneo en hemocultivo BacT/ALERT PF PLUS | Cuantitativa | Nominal | BacT/ALERT PF |
| Septicemia | Se define como la presencia y crecimiento de gérmenes en la sangre y aumento de fiebre y manifestaciones clínicas. | Por medio de la realización de hemocultivos BacT/ALERT PF PLUS y FA PLUS se determinará la presencia de microorganismos en sangre del paciente a estudio. | Cualitativa | Nominal | Hemocultivos BacT/ALERT PF PLUS y BacT/ALERT FA PLUS. |

| | | | | | |
|---|--|---|-------------|---------|--|
| Sospecha de Sepsis | Paciente que presenta sintomatología de alteración y deterioro del estado mental, anorexia, taquipnea, taquicardia, hipotermia o fiebre y con historia de estar previamente enfermo, en ausencia de microorganismos en sangre. | Se procederá a obtener la historia de la enfermedad evaluar las siguientes variables Generales: <ul style="list-style-type: none"> • Fiebre >38,3 °C • Hipotermia <36°C • Frecuencia cardíaca >90/min⁻¹ o más de dos ssd por encima del valor normal para la edad • Taquipnea • Estado mental alterado | Cualitativa | Nominal | Hemocultivos BacT/AERT PF PLUS y BacT/ALERT FA PLUS. |
| Precauciones universales de bioseguridad | Prácticas universales que incluyen la higiene de manos, uso de guantes, capas, mascararas protección de ojos y cara y práctica de seguridad con inyecciones. | <ul style="list-style-type: none"> - Gorro y mascarilla. - Lavado quirúrgico de manos. - Delantal de mangas largas estéril. - Guantes estériles. Campo estéril amplio | Cualitativa | Nominal | Se cumple No se cumple |
| Hemocultivo pediátrico BacT/ALERT PF PLUS | Frascos e hemocultivo pediátrico compuestos por: 16 ml de medio complejo y 4 ml de una suspensión de carbón activado con compuesto de digerido caseínico de soja (Ecosorb) el cual | Se utilizará medio de hemocultivo BacT/ALERT PF para la recuperación y detección de microorganismos con un volumen sanguíneo de 3 cc. | Cualitativa | Nominal | Hemocultivo pediátrico BacT/ALERT PF PLUS |

| | | | | |
|---|---|--|--------------------|--|
| <p>neutraliza los efectos antimicrobianos.</p> <p>Sólidos de infusión de cerebro-corazón, polianetol sulfonato de sodio (SPS), clorhidrato de piridoxina, menadiona, hemina, L-cisteína, y otros sustratos de carbohidratos y aminoácidos complejos en agua purificada. Los frascos contienen una atmósfera de CO2 en oxígeno y nitrógeno bajo vacío.</p> | | | | |
| <p>Hemocultivo para adulto Bact/ALERT FA Plus</p> | <p>Fracos de hemocultivo para adulto compuestos por:</p> <p>22 ml de medio complejo y 8 ml de una suspensión de carbón activado con compuesto de digerido caseínico de soja (Ecosorb) el cual neutraliza los efectos antimicrobianos.</p> <p>Sólidos de infusión de cerebro-corazón, polianetol sulfonato de sodio (SPS), clorhidrato</p> | <p>Se utilizará medio de hemocultivo Bact/ALERT PF para la recuperación y detección de microorganismos con un volumen sanguíneo de 5 cc.</p> | <p>Cualitativa</p> | <p>Nominal</p> |
| | | | | <p>Hemocultivo pediátrico Bact/ALERT PF PLUS</p> |

| | | | | | |
|--|---|---|-------------|---------|---|
| <p>de piridoxina, menadiona, hemina, L-cisteína, y otros sustratos de carbohidratos y aminoácidos complejos en agua purificada. Los frascos contienen una atmósfera de CO₂ en oxígeno y nitrógeno bajo vacío.</p> | | | | | |
| Crecimiento y detección microbiana | <p>Sistema de detección microbiana y un medio de cultivo con condiciones nutricionales y ambientales, adecuadas para micro-organismos presentes habitualmente en las infecciones de la sangre y de otros líquidos corporales normalmente estériles.</p> | <p>La detección microbiana se determinará por cromatografía la cual utiliza un sensor colorimétrico y la luz reflejada para controlar la presencia y la producción de dióxido de carbono (CO₂) disuelto en el medio de cultivo. Si hay microorganismos en la muestra de ensayo, se producirá dióxido de carbono a medida que éstos metabolicen los sustratos presentes en el medio de cultivo. Cuando el crecimiento de los microorganismos produce CO₂, el color del sensor permeable a gas instalado en el fondo de cada botella de</p> | Cualitativa | Nominal | <p>Sistema de detección microbiana BacT/ALERT® 3D</p> |

| | | | | |
|--|---|--|-------------|---|
| <p>cultivo cambia de color azul-verdoso a amarillo.¹ El color más claro es resultado de un aumento de las unidades de reflectancia monitorizadas por el sistema. El instrumento monitoriza y registra la reflectancia del frasco cada 10 minutos.</p> | | | | |
| Uso de antibióticos previo al hemocultivo | Es todo paciente que previamente enfermo a realizar hemocultivo ha utilizado antibióticos, ya sea indicado por un médico facultativo, personal de salud, auto-medicado entre otras. | Durante el ingreso a la emergencia del Hospital Roosevelt al momento de realizar la historia clínica se indagará sobre el uso de antibióticos y posteriormente, habiendo o no habiendo recibido antibiótico se procederá a la realización del hemocultivo. | Cualitativa | Nominal |
| | | | | Historia Clínica Uso de antibióticos previamente a la realización de hemocultivos. No uso de antibióticos previamente a la realización de hemocultivos. |

4.8 INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS:

(Ver Anexos)

4.9 PROCEDIMIENTO PARA RECOLECCIÓN DE DATOS:

- Se procedió a seleccionar a todo paciente que cumplía criterios de sospecha de sepsis que ingrese a la emergencia de pediatría del Hospital Roosevelt.
- Posteriormente, se procedió a realizar asepsia y antisepsia y colocación de campos estériles, a la toma de muestra sanguínea del paciente, siendo esta muestra un volumen de 8 cc de los cuales:
 - 5cc serán administrados al medio de hemocultivo BacT/Alert FA y los 3 cc restantes al medio de hemocultivo BacT/Alert PF.
- El medio de hemocultivo BacT/ALERT PF fue proporcionado por mi persona.
- Los medios de hemocultivos fueron llevados a: Hemocultivo de adulto a Laboratorio clínico del Hospital Roosevelt y hemocultivo pediátrico al laboratorio de microbiología de la Unidad Nacional de Oncología Pediátrica (UNOP), en un tiempo no mayor de 2 horas, este se encuentra localizado en la parte posterior del Hospital Roosevelt.
- Los hemocultivos que entraron en el estudio cumplieron los criterios de inclusión.
- Los hemocultivos que entraron al estudio fueron colocados en el equipo BacT/Alert 3D.
- Estos mismos emitieron una alarma al detectar por cromatografía la cual por un sensor colometrico la presencia y producción de CO₂ disuelto en el medio de cultivo.
- Posteriormente al obtener el resultado, se procedió a analizar resultados y eficacia entre los diferentes hemocultivos.

4.11 PROCEDIMIENTOS DE ANALISIS DE INFORMACIÓN:

El análisis e interpretación de los resultados obtenidos se realizó por medio de la prueba Chi cuadrada, en donde el margen de error fue de 0.05.

Tabla No. 1

| | Positivo | Negativo | Total |
|--------------------|----------|----------|-------|
| BacT/Alert FA plus | 5 | 41 | 46 |
| BacT/Alert PF plus | 12 | 34 | 46 |
| Total | 17 | 75 | 92 |

Fuente: Encuesta realizada por investigador

Frecuencia Teórica: Total de cada frecuencia/ Total datos muestra

$$FT \quad 5 = \frac{17 \times 46}{92} \quad 8.5$$

$$FT \quad 12 = \frac{17 \times 46}{92} \quad 8.5$$

$$FT \quad 41 = \frac{75 \times 46}{92} \quad 37.5$$

$$FT \quad 34 = \frac{75 \times 46}{92} \quad 37.5$$

Grados de libertad: $V = (\text{No. de filas} - 1) (\text{No. Columnas} - 1) = (2-1) (2-1) = 1 \quad V=1$

Chi Cuadrado

$$\chi^2 = \sum \frac{(o_i - e_i)^2}{e_i}$$

$$\chi^2 = \frac{(5-8.5)^2}{8.5} + \frac{(41-37.5)^2}{37.5} + \frac{(12-8.5)^2}{8.5} + \frac{(34-37.5)^2}{37.5} = 2.87$$

PERCENTILES DE LA DISTRIBUCIÓN χ^2

$F(\alpha) = P(X \leq \alpha)$

| α | 0.995 | 0.99 | 0.975 | 0.95 | 0.9 | 0.75 | 0.5 | 0.25 | 0.05 | 0.025 | 0.01 | 0.005 |
|----------|--------|--------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1 | 7.879 | 6.635 | 5.024 | 3.841 | 2.706 | 1.323 | 0.455 | 0.102 | 0.004 | 0.001 | 0.000 | 0.000 |
| 2 | 10.597 | 9.210 | 7.378 | 5.991 | 4.605 | 2.773 | 1.386 | 0.575 | 0.103 | 0.051 | 0.020 | 0.010 |
| 3 | 12.838 | 11.345 | 9.348 | 7.815 | 6.251 | 4.108 | 2.366 | 1.213 | 0.352 | 0.216 | 0.115 | 0.072 |
| 4 | 14.860 | 13.277 | 11.143 | 9.488 | 7.779 | 5.585 | 3.357 | 1.923 | 0.711 | 0.484 | 0.287 | 0.207 |



Percentiles de la distribución Chi cuadrada.

$\chi^2 = 3.8415$ χ^2 calculada 2.87

Posteriormente se procedió a medir el coeficiente de concordancia kappa para ambos hemocultivos:

Tabla 2

| Hemocultivo Pediátrico | Hemocultivo Adulto | | Total |
|-----------------------------------|---------------------------|----------|--------------|
| | Positivo | Negativo | |
| Positivo | 5 | 7 | 12 |
| Negativo | 0 | 34 | 34 |
| Total | 5 | 41 | 46 |

Los datos situados en la diagonal formada por los valores 5 y 34, representan el número de hemocultivos en la que hay concordancia entre ambos evaluadores. Mientras que los datos situados en la diagonal formada por los valores 0 y 7 representan los casos en los que hay discordancia entre los dos hemocultivos.

Ahora pues, teniendo en cuenta que, de los 46 hemocultivos, 5 fueron positivos y 34 negativos por ambos hemocultivos. El porcentaje de acuerdo observado es:

$$\text{Pr(a)} = (5 + 34) / 46 = 0.847$$

Pr(e), es decir, la probabilidad de que el acuerdo entre ambos evaluadores se deba al azar, se advierte que:

El hemocultivo pediátrico reportó 12 positivos y 34 negativos. Es decir, el 26% fueron positivos y 74% fueron negativos.

El hemocultivo de adulto reportó 5 positivos y 41 hemocultivos negativos. Es decir, el 11% fueron positivos y el 89% negativos.

Por tanto, la probabilidad de que ambos hemocultivos sean positivos al azar es:

$$\text{Pr (A) * Pr (B)} = 0.26 * 0.11 = 0.028$$

Y la probabilidad de que ambos hemocultivos sean negativos al azar es:

$$\text{Pr (A) + Pr(B)} = 0.74 * 0.89 = 0.659$$

Teniendo en cuenta lo anterior, el valor Pr(e) se calcula como la suma de las probabilidades de ser positivos y negativos.

$$\text{Pr(e)} = 0.659 + 0.028 = 0.687$$

Aplicando los valores de Pr(a) y Pr(e) en la fórmula de Kappa obtenemos

$$K = \frac{\text{Pr(a)} - \text{Pr(e)}}{1 - \text{Pr(e)}}$$

$$K = (0.847 - 0.687) / (1 - 0.687) = 0.52$$

**Tabla 3. Valoración del coeficiente kappa
(Landis y Koch, 1977)⁴**

| Coeficiente kappa | Fuerza de la concordancia |
|--------------------------|---|
| 0,00 | Pobre (<i>Poor</i>) |
| 0,01 - 0,20 | Leve (<i>Slight</i>) |
| 0,21 - 0,40 | Aceptable (<i>Fair</i>) |
| 0,41 - 0,60 | Moderada (<i>Moderate</i>) |
| 0,61 - 0,80 | Considerable (<i>Substantial</i>) |
| 0,81 - 1,00 | Casi perfecta (<i>Almost perfect</i>) |

Considerando que mientras más se acerca a 1 existe mayor concordancia entre ambos hemocultivos. Se determinó $K = 0.52$ por lo que según la valoración del coeficiente de kappa propuesto por Landis y Koch en 1977, se obtiene una concordancia moderada entre ambos hemocultivos, pediátrico y adulto.

V. RESULTADOS

Se estudiaron 46 pacientes pediátricos que acudieron a la emergencia de pediatría del Hospital Roosevelt que cumplieron criterios de sospecha de sepsis a los cuales se procedió a la toma de 2 hemocultivos por paciente, BacT/AlerT PF plus y BacT/AlerT PA plus tanto de sexo masculino como femenino.

De los 46 hemocultivos BacT/AlerT PA plus realizados a los pacientes con sospecha de sepsis, 5 resultaron positivos y 41 fueron negativos; mientras que los hemocultivos BacT/AlerT PF plus tomados al mismo paciente 12 resultaron positivos y 34 negativos.

Se aplicó la prueba estadística chi cuadrado para determinar la relación entre ambas variables con un grado de libertad de 1, significancia de 0.05 y una p de 0.95, se evidenció un chi cuadrado de 2.87 en comparación con chi crítico 3.8415; Se concluyó que los hemocultivos BacT/ALERT PF plus realizados a pacientes con sospecha de sepsis, no demostraron tener mayor eficacia que los hemocultivos BacT/ALERT PA Plus en la determinación del crecimiento bacteriano, así mismo se evaluó el grado de concordancia que existe entre los hemocultivos por medio de la valoración del coeficiente de kappa, y se determinó $K = 0.52$ por lo que según la valoración del coeficiente de kappa propuesto por Landis y Koch en 1977, se obtiene una concordancia moderada entre ambos hemocultivos, pediátrico y adulto.

VI. DISCUSION Y ANALISIS

El hemocultivo continúa siendo desde 1970 el Gold estándar en la detección de bacteriemia y fungemia. Actualmente existen métodos de identificación sistematizados por sensor de colometría, en la cual evalúa la presencia y producción de dióxido de carbono disuelto en el hemocultivo, producido por el metabolismo de algunas bacterias, capaz de inhibir antibióticos previamente utilizados por el paciente.^{1,2,9}

Se estudiaron 46 pacientes pediátricos que acudieron a la emergencia de pediatría del Hospital Roosevelt que cumplieron criterios de sospecha de sepsis a su ingreso, según los criterios de la Surviving sepsis campaign, a los cuales se procedió a la toma de 2 hemocultivos por paciente, BacT/AlerT PF plus y BacT/AlerT PA plus, durante la hora de oro a su llegada; se realizaron ambos hemocultivos a todo paciente tanto de sexo masculino como femenino por personal capacitado previo a la realización. Estos fueron tomados de vía periférica o de catéter venoso central en su momento.

De los 46 hemocultivos BacT/AlerT PA plus realizados a los pacientes con sospecha de sepsis, 5 resultaron positivos y 41 fueron negativos; mientras que los hemocultivos BacT/AlerT PF plus tomados al mismo paciente 12 resultaron positivos y 34 negativos.

Se evaluó el acuerdo o concordancia que existe entre ambos hemocultivos por medio de la valoración del coeficiente de kappa, y se determinó $K = 0.52$. Esto indica que por lo que observamos en la valoración del coeficiente de kappa propuesto por Landis y Koch en 1977, se obtiene una concordancia moderada entre ambos hemocultivos, esto indica que, aunque la concordancia no es muy buena, el hemocultivo pediátrico replica en alguna medida en los resultados de los hemocultivos de adultos en la determinación del crecimiento bacteriano en pacientes con sospecha de sepsis sin embargo la obtención de una simple estimación puntual del valor kappa no nos proporciona ninguna precisión exacta de dicha estimación ya que existe variabilidad de los hemocultivos a pesar de ser ambos el Gold estándar por tanto, por ser paciente pediátrico y por la difícil obtención de una muestra sanguínea en un estado crítico como es sepsis se recomienda la utilización del hemocultivo pediátrico BacT/AlerT PF plus y sería práctico implementar y fomentar la utilización del mismo en el departamento del Pediatría del hospital Roosevelt. Tanto el hemocultivo pediátrico como el adulto demostraron tener un índice de concordancia moderada, sin embargo, el hemocultivo pediátrico demostró ser superior, 26% respecto al 11% del hemocultivo de adulto

6.1 CONCLUSIONES

- 6.1.1** En el presente estudio, el hemocultivo pediátrico constituye el método más adecuado para el diagnóstico de sepsis en el paciente pediátrico.
- 6.1.2** En el presente estudio el hemocultivo pediátrico no es estadísticamente significativo comparado con el hemocultivo de adulto.
- 6.1.3** Tanto el hemocultivo pediátrico como el adulto demostraron tener un índice de concordancia moderada, sin embargo, el hemocultivo pediátrico demostró ser superior, 26% respecto al 11% del hemocultivo de adulto.

6.2 RECOMENDACIONES

6.2.1 Implementar el uso de dispositivos BacT/Alert PF Plus (pediátrico) como método diagnóstico de sepsis en pediatría ya que posee una mejor sensibilidad comparado con el de adulto.

6.2.2 Aplicar los hemocultivos pediátricos ya que favorecen la menos extracción de sangre con tendencia de mayores resultados de la captación de microorganismos.

6.2.3 Fomentar en el personal administrativo del Hospital Roosevelt la adquisición de hemocultivos propiamente pediátricos en el área de pediatría ya que el hemocultivo pediátrico suele ser más eficaz que el de adulto en paciente pediátrico.

6.2.5 Incentivar el uso de hemocultivos pediátricos en el laboratorio de microbiología del Hospital Roosevelt.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Mervyn S, Deutschman C, Seymour C, Shankar M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). JAMA [en línea] 2016 feb [citado 6 Jul 2017]; 315(8):801-810. Doi: 10.1001/jama.2016.0287
2. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, et al: Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock 2012. [en línea] 2012 [citado 15 enero 2016]; Disponible en: <http://www.survivingsepsis.org/guidelines/Pages/default.aspx>
3. Novak S, Dunne M. Blood culture a key investigation for diagnosis of bloodstream infections. Biomérieux [en línea] 2016 [citado 5 Mar 2016]; 1-36. Disponible en: http://www.biomerieuxusa.com/sites/subsidiary_us/files/blood_culture_booklet_-_prn_16_0097a_00_mk_approved13jul161.pdf
4. Macedo M, Algorta G, Vola M, Pardo L. Bacteriemias y sepsis. Endocarditis [en línea] 2008 [citado 5 Mar 2016]; 197-211. Disponible en: <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/bacteriemiasysepsis.pdf>
5. Cercenado E, Canton R, Fernández E, Rodríguez M, Planes A. Recomendaciones de la Sociedad Española de enfermedades infecciosas y Microbiología [en línea] 2003 [citado 17 May 2016]; 3ra Edición: 1-23. Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia3a.pdf>
6. Reimer LG, Wilson ML, Weinstein MP. Update on detection of bacteremia and fungemia. Clin Microbiol [en línea] 1997 [citado 24 Mar 2016] Rev 1997;10:444-65. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9227861>
7. Hospital Infantil de México Federico Gómez. Guías clínicas del departamento de neonatología. Sepsis bacteriana del recién nacido, no especificada. [en línea]. México: 2011 [citado 23 Ab 2016]. Disponible en: <http://himfg.com.mx/descargas/documentos/planeacion/guiasclinicasHIM/Gmobimortalidad.pdf>
8. Coronell W, Pérez C, Guerrero C, Bustamante H. Sepsis neonatal. Rev Enf Inf Ped [en línea] 2009 Oct-Dic (XXIII) [accesado 15 Feb 2015]; Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/revenfinfped/eip-2009/eip094f.pdf>
9. García M, Lastra G, Medina A, Sánchez T. Protocolo diagnóstico de infección [en línea] Madrid: Asociación española de pediatría; 2008 [citado 13 Mar 2016]. Disponible en: <https://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/23.pdf>

10. Cueto M, Pascual A. El Hemocultivo Pediátrico: Indicaciones y Técnicas. An Pediatr Contin [en línea] 2007 [citado 18 May 2016]; 5(5): 279-82. Disponible en: http://appswl.elsevier.es/watermark/ctl_servlet?_f=10&pident_articulo=80000273&pident_usuario=0&pcontactid=&pident_revista=51&ty=146&accion=L&origen=apccontinuada&web=www.apcontinuada.com&lan=es&fichero=v5n5a273pdf001.pdf&anuncioPdf=ERROR_publi_pdf

11. Peña P. Procedimientos y controles de bacteriología laboratorio clínico dr. Mauricio Heyermann Torres de Angol. [en línea]. Malleco [Chile]; 2013. [citado 19 May 2016] Disponible en: <http://docplayer.es/28622853-Instructivo-de-siembra-bacteriologica-instructivo-de-indice.html>

12. Analuisa G, Erazo M. Prevalencia de contaminación por estafilococo coagulasa negativo en hemocultivos tomados de pacientes de los servicios de medicina interna y uci del hospital general de las fuerzas armadas n.1, durante el período del 1 de mayo del 2010 al 30 de junio del 2011 [en línea] [tesis médica y cirujana] Ecuador: Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Facultad de Ciencias Médicas; 2011. [citado 22 Jun 2016]. Disponible en: <http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/5323/T-PUCE-5549.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

13. Instructivo de siembra bacteriológica instructivo de. Índice - pdf [internet]. [citado 6 de agosto de 2016]. Disponible en: <https://docplayer.es/28622853-instructivo-de-siembra-bacteriologica-instructivo-de-indice.html>

14. Kellogg JA, Manzella JP, Bankert D. Frequency of low-level bacteremia in children from birth to fifteen years of age. J Clin Microbiol. [en línea]. 2000 [citado 24 Jun 2016]; 38: 2181-5. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC86758/pdf/jm002181.pdf>

15. Kumar Y, Qunibi M, Neal TJ, Yoxall CW. Time to positivity of neonatal blood cultures. Arch Dis Child Fetal Neonatal [en línea]. 2001 [citado 20 Jul 2016]; 85:F182-F186. Disponible en: https://www.nice.org.uk/media/default/sharedlearning/592_36hrbcnicu.pdf

16. Kennaugh JK, Gregory W, Powell K, Hendley J. The effect of dilution during culture on detection of low concentrations of bacteria in blood. J clin Microbiol [en línea]. 2016 [citado 19 Oct 2016]; 1984;3:317-8. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4879304/>

17. Reza M, Rastiany S. conventional, molecular methods and biomarkers molecules in detection of septicemia [en línea] 2015 [citado 28 Jun 2016]; 4:120. doi: 10.4103/2277-9175.158027

18. Lee D, Kim M, Bae I, Koh E, Kim S. Clinical evaluation of BacT/Alert FA plus and FN plus bottles compared with standard bottles [en línea] 2013 [citado 9 Ago 2016] 51(12):4150-5. doi: 10.1128/JCM.01935-13
19. Walkty A, Edagiz S, Wiens L, Karlowsky J. Pediatrics Blood Cultures-Are Anaerobs Important?. Micro Notes. Clin Micro Disci Pub [en línea] 2014 Jun (1): [citado 20 Feb 2015]; Disponible en: <http://dsmanitoba.ca/wp-content/uploads/2014/09/MNJun201.pdf>
20. BacT/ALERT® PF Plus package insert, Biornerieux, Inc., Durham, NorthCarolina. Disponible en: <https://www.mybiomerieux.com>
21. BacT/ALERT® FA Plus package insert, Biornerieux, Inc., Durham, NorthCarolina. Disponible en: <https://www.mybiomerieux.com>

VIII. ANEXOS

BOLETA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Eficacia de hemocultivo BacT/ALERT PF vs hemocultivo BacT/ALERT FA en la determinación del crecimiento bacteriano en pacientes pediátricos con sospecha de sepsis

La *European Society of Intensive Care Medicine* y de la *Society of Critical Care Medicine*, han definido la sepsis como “la disfunción orgánica causada por una respuesta anómala del huésped a la infección que supone una amenaza para la supervivencia”. El hemocultivo es considerado “patrón de oro” para el diagnóstico de sepsis. Los medios de hemocultivos utilizados en el hospital Roosevelt son principalmente para obtención de muestras sanguíneas para pacientes adultos, y estos mismos son utilizados para pacientes pediátricos, debido a esto se ven dificultades para obtener resultados adecuados, por obstáculos como cantidad de muestra significativa; lo que lleva a hacer el estudio sobre la eficacia de utilizar hemocultivos de acuerdo a la edad.

Boleta de recolección de datos

| | |
|--------------------------|------------------------|
| No. de Boleta | Fecha |
| No. Registro de paciente | Sexo F M |

| | SI/NO | Antes del Procedimiento | SI/NO |
|---|-------|--|-------|
| Material necesario para realizar Hemocultivo | | Cumple criterios de sospecha de sepsis <ul style="list-style-type: none"> • Fiebre $>38,3$ o $<36,5$ • Frecuencia cardíaca >90 min o más de dos SD por encima del valor normal según edad • Taquicardia • Estado mental alterado • Hiperglicemia $>$ (glucosa en plasma $>140\text{mg/dl}$) • Presión arterial sistólica (PAS) < 90 mm Hg, PAM < 70 mm Hg o una disminución de la PAS $>$ a 2 SD por debajo de lo normal para la edad. | |
| Ropa estéril (campos, bata) | | Uso de antibiótico previo | |
| Set de BacT Alert/ FA y PF | | Se realiza previo a la administración de antibióticos durante la primera hora de oro. | |

| | | | |
|--|--|---|--|
| Guantes estériles | | Conocimiento sobre técnica de realización de hemocultivo | |
| Gorro, mascarilla | | Colocación de equipo estéril | |
| Antiséptico (Gluconato de clorhexidina/ iodopovidona) | | Lavado de manos | |
| Jeringas / agujas hipodérmicas | | Limpieza del sitio de punción | |
| | | Protección personal | |
| Gasas estériles | | Volumen sanguíneo para hemocultivo igual a 3cc | |

**Seguimiento por Microbiología Laboratorio clínico Hospital Roosevelt, Unidad
Nacional de Oncología Pediátrica UNOP**

| | | |
|---|----------------------|----------------------|
| Seguimiento en área de laboratorio | BacT/AlerT PF | BacT/Alert PA |
| Volumen necesario de muestra | (Si/No) | (Si/No) |
| Tiempo de detección microbiano | (Horas) | (Horas) |
| Patógeno detectado | | |
| | | |

PERMISO DE AUTOR PARA COPIAR TRABAJO

El autor concede permiso para reproducir total o parcialmente y por cualquier medio la tesis titulada "EFICACIA SOBRE USO DE HEMOCULTIVO BACT/ALERT PF PLUS (PEDIÁTRICO) VS HEMOCULTIVO BACT/ALERT FA PLUS (ADULTOS) EN LA DETERMINACIÓN DEL CRECIMIENTO BACTERIANO EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON SOSPECHA DE SEPSIS" para propósito de consulta académica. Sin embargo, quedan reservados los derechos de autor que confiere la ley cuando sea cualquier otro motivo diferente al que se señala lo que conduzca a su reproducción total o parcial.