



UNIVERSIDAD DEL VALLE DE MÉXICO

CAMPUS CHAPULTEPEC

ESCUELA DE QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

INCORPORADA A LA UNAM

**“UTILIDAD DE UN SISTEMA
DE MINIHEMOCULTIVO PARA EL
DIAGNOSTICO DE SEPSIS NEONATAL”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

P R E S E N T A:

ZORAYDA ALMANZA GUTIÉRREZ

DIRECTOR DE TESIS: M. en C. GUILLERMO DEL REY PINEDA

MÉXICO D.F.

2006



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIAS

A MI ABUELITO CHUCHO Y MI ABUELITA ESTHER

*Quienes son los pilares de una gran familia,
llena de unidad y amor.
De la cual estoy orgullosa de pertenecer.*

A MIS PADRES

*Quienes me brindaron cariño y apoyo,
Dándome la oportunidad de luchar por mis sueños*

A MI HERMANO

*Quien a su estilo fue parte importante
para mi crecimiento y madurez.*

A MI ABUE Y MARY

*Quienes me apoyaron para seguir con mis estudios,
y con ello heredarme una profesión,
con la cual salir adelante en la vida.*

AGRADECIMIENTOS

A **Dios** por haberme dado la oportunidad de nacer y crecer dentro de una gran familia.

A **mis tíos y tías** que siempre estuvieron para darme una palabra de aliento o un consejo cuando los necesite.

A **mi cuñada y mi hermano** por haberme dado la oportunidad de estar cerca de mis sobrinos Brasito y Ximenita.

A mis **primos y primas** quienes crecieron junto a mí y compartimos grandes momentos inolvidables, y de los cuales aprendí.

A toda la **familia Gutiérrez** por ser parte integral de nuestra formación como personas. Y por su confianza y apoyo brindado durante toda mi vida

A la familia **Almanza** por ser parte de mi familia y creer en mí.

A la Familia **Osnaya Vigil** que forman parte de la familia y se les quiere como tal.

Al **Dr. del Rey y su esposa** por haber confiado en mí y dado la oportunidad de realizar mi tesis en su proyecto de investigación.

A la **Q. F. B. Lilia Pichardo** por su instrucción y enseñanza pero sobre todo su por brindarme su amistad.

A las **Dras. Dina Villanueva y Mary Carmen Melo** por sus atenciones para mi persona y por compartir conmigo sus conocimientos.

A la **Dra. Briceida López** por su apoyo y por permitirme la estancia en el laboratorio de Bacteriología

A **Lucy, Isa, Ara, Carmen, Vicky, Yoli, Mari, Roció y Don Rafa;** personal del Laboratorio de Bacteriología del HIMFG por su apoyo y comprensión durante mi estancia dentro del mismo.

A todo el **personal del laboratorio** de Bacteriología Intestinal del HIMFG por su apoyo brindado para la realización del proyecto.

A mis **profesores** de la UVM por sus enseñanzas académicas y morales, para hacer de sus alumnos buenos profesionistas y buenas personas.

ÍNDICE

<u>Índice.</u>	3
<u>Resumen.</u>	6
<u>Objetivos.</u>	8
<u>Justificación.</u>	9
<u>Hipótesis.</u>	10
<u>Antecedentes</u>	11
1. <u>Generalidades.</u>	11
1.1. Incidencia en México.	11
1.2. Tasa de mortalidad.	11
2. <u>Sepsis neonatal.</u>	11
2.1. Definición de sepsis.	11
2.2. Definición de choque séptico.	13
2.3. Importancia del diagnóstico.	13
2.4. Tipos de sepsis.	14
2.5. Etiología microbiana.	14
2.6. Factores de riesgo.	15
2.7. Manifestaciones clínicas.	16
2.8. Mecanismos de infección.	17
3. <u>Diagnóstico.</u>	17
3.1. Hemocultivo.	19
3.1.1. Tradicional.	19
3.1.2. Automatizado BACTEC™.	22

4. <u>Tratamiento.</u>	24
4.1. Medidas generales.	24
4.2. Antibiótico-terapia.	24
4.3. Tratamiento de soporte.	26
5. <u>Población.</u>	27
6. <u>Criterios de inclusión.</u>	27
7. <u>Criterios de no inclusión</u>	28
8. <u>Criterios de exclusión.</u>	28
9. <u>Métodos.</u>	29
9.1. Formulación del minihemocultivo HIM-1.	29
9.2. Preparación del minihemocultivo HIM-1.	29
9.3. Formulación del minihemocultivo HIM-3	30
9.4. Preparación del minihemocultivo HIM-3.	30
9.5. Métodos estadísticos.	31
10. <u>Procedimiento.</u>	32
10.1. Frecuencia de bacterias comunes en sepsis en HIMFG.	32
10.2. Control de calidad de sistema automatizado.	32
10.3. Control de calidad de minihemocultivos.	33
10.4. Cuenta viable en placa.	35
10.5. Control de calidad	36
10.6. Determinación de sensibilidad.	39
10.7. Hemocultivos de pacientes.	39
10.8. Toma de la muestra.	41
10.9. Incubación de los hemocultivos.	43

10.10. Aislamiento del agente microbiano.	45
10.11. Identificación del agente microbiano.	46
11. <u>Resultados.</u>	48
11.1. Frecuencias de microorganismos.	48
11.2. Minihemocultivos HIM-1.	52
11.2.1. Cuenta viable en placa.	52
11.2.2. Control de calidad.	52
11.2.3. Sensibilidad HIM-1.	53
11.2.4. Hemocultivos de pacientes.	54
11.3. Minihemocultivos HIM-3.	56
11.3.1. Cuenta viable en placa.	56
11.3.2. Control de calidad.	56
11.3.3. Sensibilidad HIM-1.	57
11.3.4. Hemocultivos de pacientes.	58
11.4. Control de calidad sistema automatizado.	60
11.5. Comparación de sensibilidades.	61
12. <u>Discusión.</u>	63
13. <u>Conclusión.</u>	66
14. <u>Bibliografía.</u>	68
15. <u>Anexos.</u>	72
15.1. Anexo I: Seguimiento de hemocultivos de pacientes HIM-1.	72
15.2. Anexo II: Seguimiento de hemocultivos de pacientes HIM-3.	74
15.3. Anexo III:	
15.3.1. Sección i: Material y equipo.	77
15.3.2. Sección ii: Reactivos comerciales.	78
15.3.3. Sección iii: Reactivos preparados en el laboratorio.	80
15.3.4. Sección iv: Cepas ATCC utilizadas.	80
15.4. Anexo IV: Hoja de consentimiento informado.	81

RESUMEN

La sepsis es una de las principales causas de muerte en neonatos. En México por cada 1000 recién nacidos, de 4% a 15.4% presentan esta patología y de estos del 34% al 44% mueren^{1,2,3}. En la actualidad existen equipos automatizados que detectan la presencia en sangre de los microorganismos causantes de sepsis, los cuales utilizan de 1 a 3 mL, lo que puede derivar en una transfusión sanguínea al neonato.

El objetivo del proyecto es el diseño de un minihemocultivo y la comparación de la formulación utilizando un volumen de 200 a 300µL de muestra sanguínea, con el hemocultivo de referencia BACTEC pedis plus/F™BD.

La justificación del proyecto es disminuir el número de transfusiones sanguíneas a los recién nacidos, ya que en la sepsis el diagnóstico se realiza con el apoyo de numerosas pruebas de laboratorio, que en ocasiones hacen necesaria la transfusión.

Material y Métodos: Se preparó un lote de minihemocultivos HIM-1, cuya composición principal es: Tioglicolato, Polienriquecimiento, Citrato de sodio e Infusión cerebro corazón. Y un lote de HIM-3 de misma composición con la adición de Polianetol Sulfonato de Sodio (SPS) y rojo de fenol. A los cuales se les realizó el control de calidad que se lleva a cabo en el hemocultivo automatizado BACTEC™ 9120 BD, utilizado como referencia. Se inocularon los hemocultivos HIM-1 y BACTEC™ pediátrico con pacientes de la UCIN, con diagnóstico probable de sepsis. Trabajándose 48 muestras de 20 pacientes. Los viales HIM-1

se incubaron a 37°C, realizando lecturas cada 24 horas. Las botellas BACTEC™ pediátrico se incubaron en el equipo BACTEC 9120 BD.

Resultados: En el control de calidad se encontró que los minihemocultivos HIM-1 y HIM-3 permitieron el crecimiento de los microorganismos: *E. coli*, *Ps. aeruginosa*, *K. pneumoniae* y *Enterococcus spp* hasta 10²UFC/mL. Y no favorecieron el crecimiento de *S. epidermidis*, *S. aureus* y *St. pneumoniae* a las concentraciones de 10²UFC/mL, que es la concentración mínima de recuperación del hemocultivo de referencia. El HIM-1 permitió el crecimiento de *Clostridium perfringens* que es un anaerobio estricto.

HIM-1: De las 48 muestras clínicas trabajadas se tiene: 1 BACTEC™ Positivo y su HIM-1 positivo para *E. coli*. 11 BACTEC™ positivos y sus HIM-1 negativos para *S. epidermidis*. 3 BACTEC™ positivos y sus HIM-1 negativos para *S. haemolyticus*.

HIM-3: De 50 muestras clínicas se tiene: 1 BACTEC™ positivo y su HIM-3 positivo para *Streptococcus spp*. 2 BACTEC™ positivos y sus HIM-3 positivos para *E. cloacae*. 1 BACTEC™ positivo y su HIM-3 positivo para *K. pneumoniae*. 9 BACTEC™ positivos y sus HIM-3 negativos para *S. epidermidis*.

Conclusiones: El minihemocultivo HIM-1 no es el medio adecuado para la utilización en el diagnóstico de sepsis neonatal causada por cocos gram positivos, sobre todo cuando los principales agentes son *Staphylococcus*, debido a la baja concentración a la que se encuentran en la sangre y en los cuales no se evidencia crecimiento; y si se observa a concentraciones superiores a las 10⁶ UFC/mL y el HIM-3 a 10⁴ UFC/mL. La recuperación del BACTEC™ pediátrico fue del 39% y la sensibilidad del 84.4% contra una sensibilidad de 50.6% del HIM-1. El BACTEC™ y el HIM-1 tuvieron la misma especificidad.

OBJETIVOS

Objetivo General.

Diseño y desarrollo de un minihemocultivo que requiera de 200 a 300 μ L de sangre; y su validación con un hemocultivo comercial BACTEC Peds plus™/F pediátrico.

Objetivos Específicos

- a) Realizar el control de calidad a los minihemocultivos HIM-1 y HIM-3.

- b) Determinar los microorganismos más frecuentes causantes de sepsis en el Hospital Infantil de México “Federico Gómez” (HIMFG) en el periodo 2002-2004.

- c) Probar la formulación del Minihemocultivo HIM-1 y el HIM-3 con los microorganismos más frecuentes en el HIMFG.

J U S T I F I C A C I Ó N

En la actualidad existen equipos para la detección y recuperación de los microorganismos involucrados en el desarrollo de sepsis con la ventaja de reducción del tiempo de detección, pero con la desventaja del volumen de muestra que requieren.

El método convencional automatizado de hemocultivo utilizado en el Hospital Infantil de México “Federico Gómez” (HIMFG) para el diagnóstico de sepsis, es el equipo BACTEC™ 9120 Becton Dickinson, el cual requiere de 1 a 3 mL de sangre; tomando en cuenta el número de hemocultivos que se le toman a los neonatos y de las muestras para las pruebas auxiliares de diagnóstico, es frecuente provocar que los pacientes de neonatología sean transfundidos.

Por lo que se propone el desarrollo de un minihemocultivo que requiere de 200 a 300µL de muestra con una sensibilidad y especificidad comparable con el BACTEC™ pediátrico.

HIPÓTESIS

El control de calidad del minihemocultivo HIM-1 y HIM-3 es comparable con el del sistema BACTEC™ pediátrico.

Los minihemocultivos HIM-1 y HIM-3 son capaces de permitir el desarrollo de las principales bacterias causantes de sepsis neonatal con un volumen de muestra de 200 a 300 µL.

La utilidad de los minihemocultivos en el diagnóstico de sepsis neonatal es mayor o igual a la del BACTEC™ pediátrico.

PROYECTO

El presente trabajo es parte de un proyecto multidisciplinario aceptado por el Comité de Investigación, Ética y RPBI's del HIMFG con el nombre:

UTILIZACIÓN DE SECUENCIAS GENÓMICAS PANESPECÍFICAS BACTERIANAS PARA
DISCRIMINAR INFECCIÓN BACTERIANA DE VIRAL

Registro: HIM/2005/048 (SSA648)

ANTECEDENTES

1. GENERALIDADES

1.1. INCIDENCIA EN MÉXICO

La sepsis es una de las causas principales de muerte en neonatos. En México por cada 1000 recién nacidos, de 4% a 15.4% presentan esta patología¹ y del 34 al 44% mueren^{2,3}. Un estimado de 4 millones de neonatos mueren cada año en el mundo; el 98% de estas muertes ocurre en países en vías de desarrollo⁴. En la revista medica del Hospital General de México en el 2003 se reportó a la sepsis neonatal como la primer causa de muerte en la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales (UCIN) con un 59.6% de defunciones⁵.

1.2. TASA DE MORTALIDAD

La tasa de mortalidad por sepsis neonatal temprana oscila entre el 10-30% y es mayor comparada con la de inicio tardío que oscila entre el 10-15%^{2,6}.

2. SEPSIS NEONATAL

2.1 DEFINICIÓN DE SEPSIS

La sepsis es una entidad clínica compleja con diferentes formas clínicas de expresión: sepsis, sepsis severa, choque séptico y disfunción múltiple de órganos; de acuerdo con el momento evolutivo en que se encuentre. Se desarrolla después

de una infección por microorganismos infecciosos entre los que se cuentan bacterias, hongos, parásitos o virus. A la etiología bacteriana se le atribuye el 90% del total de los agentes, los cuales pueden invadir cualquier parte del organismo^{7,8}. Pero tienen la característica de aislarse en sangre y/o LCR.

La sepsis es una infección aguda con manifestaciones tóxico-sistémicas, ocasionada por la invasión y proliferación bacteriana dentro del torrente sanguíneo⁹. Se establece la presencia de esta con cuatro criterios clínicos que son: a) distemia, b) taquipnea, c) taquicardia y d) cambios importantes en la fórmula leucocitaria⁴.

Durante el período neonatal la sepsis es causa importante de mortalidad y morbilidad, se caracteriza por una respuesta inflamatoria sistémica, sin evidencias iniciales de disfunción orgánica o hipotensión arterial. Los signos y síntomas de la sepsis no son específicos, antes de la fiebre se pueden presentar escalofríos, malestar, e hiperventilación; algunos pacientes como neonatos o ancianos pueden no presentar fiebre¹. La enfermedad y sus secuelas se manifiestan como estadios progresivos de un mismo proceso en la cual esta respuesta sistémica puede generar una reacción inflamatoria generalizada en órganos distantes a la lesión inicial y eventualmente inducir disfunción multiorgánica¹⁰.

2.2. CHOQUE SÈPTICO

El choque séptico se define como la falla circulatoria aguda caracterizada por hipotensión arterial. Los criterios diagnósticos de hipotensión en sepsis son: disminución en la presión sistólica bajo el percentil 5 para la edad, es decir, menos de 65mmHg en el niño menor de siete días y menos de 75mmHg en el niño de siete días a un mes de vida; o presión arterial media <60mmHg o una reducción de la presión sistólica de >40mmHg del basal^{10,11,12}.

2.3. IMPORTANCIA DEL DIAGNÓSTICO

Es importante diagnosticar rápidamente la sepsis neonatal para evitar secuelas neurológicas permanentes y disminuir la mortalidad del neonato, e instaurar un tratamiento precoz con el antibiótico adecuado lo cual es muy importante para mejorar la evolución y el pronóstico de esta entidad clínica. Por esta razón se hace necesario encontrar una prueba o pruebas diagnósticas con adecuada sensibilidad, especificidad y valor predictivo negativo y positivo, que permitan identificar al neonato infectado, evitando la antibiótico-terapia en el neonato no infectado^{13,14,15}.

La incidencia es muy superior en los recién nacidos de menos de 1500g 15.7%, contra 0.8% en los de peso superior⁶. La sepsis temprana afecta a 1-2 de 1000 recién nacidos de término y llega a afectar hasta 19 de 1000 prematuros menores de 1000g. La sepsis tardía afecta a un 2 a 5% de todos los recién nacidos hospitalizados y hasta un 15% de los recién nacidos ingresados en la Unidad de Terapia Intensiva (UTI) por mas de 48 horas. Los prematuros son los mas

afectados desarrollando sepsis nosocomial en un 25-50% de los menores de 29 semanas y un 50-80% de los menores de 25 semanas¹⁰.

2.4. TIPOS DE SEPSIS

Se describen en el recién nacido dos modelos de sepsis en relación con el modo de contaminación, la sepsis se puede diferenciar en: Sepsis de Transmisión Vertical o Temprana en los primeros cuatro días de vida, que son causadas por microorganismos localizados en el canal genital materno que contaminan al feto por vía ascendente (progresando por el canal de parto hasta alcanzar el líquido amniótico) o por contacto directo del feto con secreciones contaminadas al pasar por el canal del parto; y Sepsis Nosocomial o Tardía del quinto día en adelante, que es debida a microorganismos localizados en los servicios de neonatología, que son transportados al niño por el personal sanitario y/o por el material de diagnóstico y/o tratamiento contaminado^{12,16,17,18}.

2.5. ETIOLOGÍA MICROBIANA

Los gérmenes mas habitualmente responsables de la sepsis de transmisión vertical son: el estreptococo beta-hemolítico del grupo B (EGB) y *Escherichia coli*, que son los que con mayor frecuencia se aíslan del recto o vagina materna al final de la gestación⁶. El espectro de los patógenos responsables de sepsis nosocomial predominando entre los gram-positivos el *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* y entre los gram-negativos *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* y otras enterobacterias^{6,19,20}.

2.6. FACTORES DE RIESGO

Las bacterias patógenas a través de diversos mecanismos pueden ser causa de parto prematuro espontáneo, rotura prolongada de membranas amnióticas de más de 18 horas antes del parto y de corioamnionitis (fiebre materna, dolor abdominal, taquicardia fetal y líquido amniótico maloliente). por lo cual se han descrito como factores de riesgo para adquirir sepsis temprana, además de bajo peso al nacer, malformaciones congénitas, infección ovular, sexo masculino, preclampsia, hipoxia perinatal y prematuridad^{2,12,16,17}.

La sepsis de inicio tardío se relaciona principalmente con procedimientos de diagnóstico invasivos tales como: invasividad por sondas, catéteres, ventilación mecánica, alimentación parenteral o tratamiento durante el periodo de hospitalización^{2,12,21}.

La inmadurez de las defensas del huésped neonatal es el principal factor de riesgo que predispone al desarrollo de sepsis⁶. Los niveles de inmunoglobulinas en el recién nacido prematuro son un 40% de los del recién nacido de término; aparentemente existe una inmadurez de los linfocitos B de las células plasmáticas secretoras de inmunoglobulinas y de los linfocitos T facilitadores (T helper)¹⁰.

2.7. MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Las manifestaciones clínicas de la sepsis vertical existen en una presentación sobreaguda con fallo multisistémico, distres respiratorio grave y/o meningitis, hipertensión pulmonar; mientras que en la sepsis nosocomial son a menudo difíciles de identificar por producirse sobre enfermedades subyacentes graves, que requieren terapia intensiva. En ambas sepsis es común la:

Dificultad respiratoria: quejido, retracciones intercostales, taquipnea, cianosis, apnea.

Cardiovascular: Mala perfusión, taquicardia, hipotensión arterial, choque.

Alteraciones en la termorregulación: Fiebre infrecuente o hipotermia.

Gastrointestinal: Distensión abdominal, regurgitación, vómitos.

Neurológico: Convulsiones, letargia, hipotonía, hipoactividad, irritabilidad.

Piel: Petequias, púrpuras, palidez, cianosis, ictericia.

Metabólico: Acidosis metabólica, hipo o hiperglicemia

General: Decaimiento y mal aspecto en general^{6,12,19,22,23,24}.

Más del 90% de los neonatos con sepsis tienen al menos un síntoma. Se sospecha de sepsis cuando el paciente tiene dos o más de los siguientes criterios:

a) Temperatura corporal $> 38^{\circ}\text{C}$ o $< 36^{\circ}\text{C}$, b) Frecuencia cardíaca $> 90\text{pm}$, c) Hiperventilación evidenciada por una frecuencia respiratoria $> 20/\text{min}$ o una $\text{PaCO}_2 < 32\text{mmHg}$, d) Cuenta leucocitaria $> 12.000 \text{ cel/uL}$ $< 4.000\text{uL}$ o bandas $> 10\%$ ^{11,22}.

2.8. MECANISMOS DE INFECCIÓN

Los microorganismos patógenos pueden contaminar al recién nacido a nivel de la piel y/o mucosas respiratoria o digestiva y según sus características dividirse y ser capaz de atravesar la barrera cutáneo-mucosa y alcanzar el torrente circulatorio. Una vez en la sangre pueden ser destruidas por las defensas del recién nacido o continuar dividiéndose de forma logarítmica y dar lugar a la sepsis neonatal dependiendo de las características de las bacterias y de las defensas del recién nacido¹⁶.

3. DIAGNÒSTICO

El diagnóstico de sepsis neonatal es un reto médico que debe apoyarse en cuatro pilares básicos: la anamnesis para investigar los factores de riesgo infeccioso, la evaluación clínica, los exámenes complementarios de laboratorio y los datos bacteriológicos^{13,24}. Datos clínicos como la variabilidad anormal del ritmo cardiaco o la reactividad vascular han tomado incidencia en la valoración del neonato con sospecha de infección¹³.

La evaluación temprana del neonato con signos sospechosos de sepsis obliga a efectuar exámenes de laboratorio iniciales como: Recuento de leucocitos, Proteína C reactiva, Hemocultivos, Radiografías de tórax si hay dificultad respiratoria, Punción lumbar si hay síntomas relacionados a meningitis^{24,25,26}.

El conteo leucocitario puede ser normal en la tercera parte de los recién nacidos infectados. La neutropenia es el dato del recuento leucocitario que mejor predice la sepsis, no obstante, su sensibilidad no supera el 70%. La

trombocitopenia puede estar presente en la infección pero su sensibilidad como test diagnóstico es muy baja^{13,27}.

La mayoría de los exámenes de screening tienen poco valor predictivo positivo; por lo que el aislamiento bacteriano de un líquido corporal central es el método más específico para diagnosticar a la sepsis²². El aislamiento de un microorganismo en los hemocultivos es trascendente porque establece el diagnóstico etiológico de la bacteriemia²⁸.

El aislamiento del microorganismo de cualquier fluido biológico confirma definitivamente la infección por lo que, el estándar de oro es el hemocultivo, que desgraciadamente tiene una baja sensibilidad. No existe en la actualidad una sola prueba de laboratorio que, de forma aislada, haya demostrado adecuadas sensibilidad y especificidad para identificar la infección, lo que representa una gran cantidad de sangre que debe extraerse del neonato, al cual no en pocas ocasiones habrá que transfundir^{23,29}. Siendo esta la importancia de la utilidad del minihemocultivo que emplea tan solo de 200 a 300 µL de sangre.

3.1. HEMOCULTIVO

El hemocultivo es un examen para determinar la presencia de microorganismos en la sangre, como bacterias, micobacterias u hongos, se realiza con la adición de

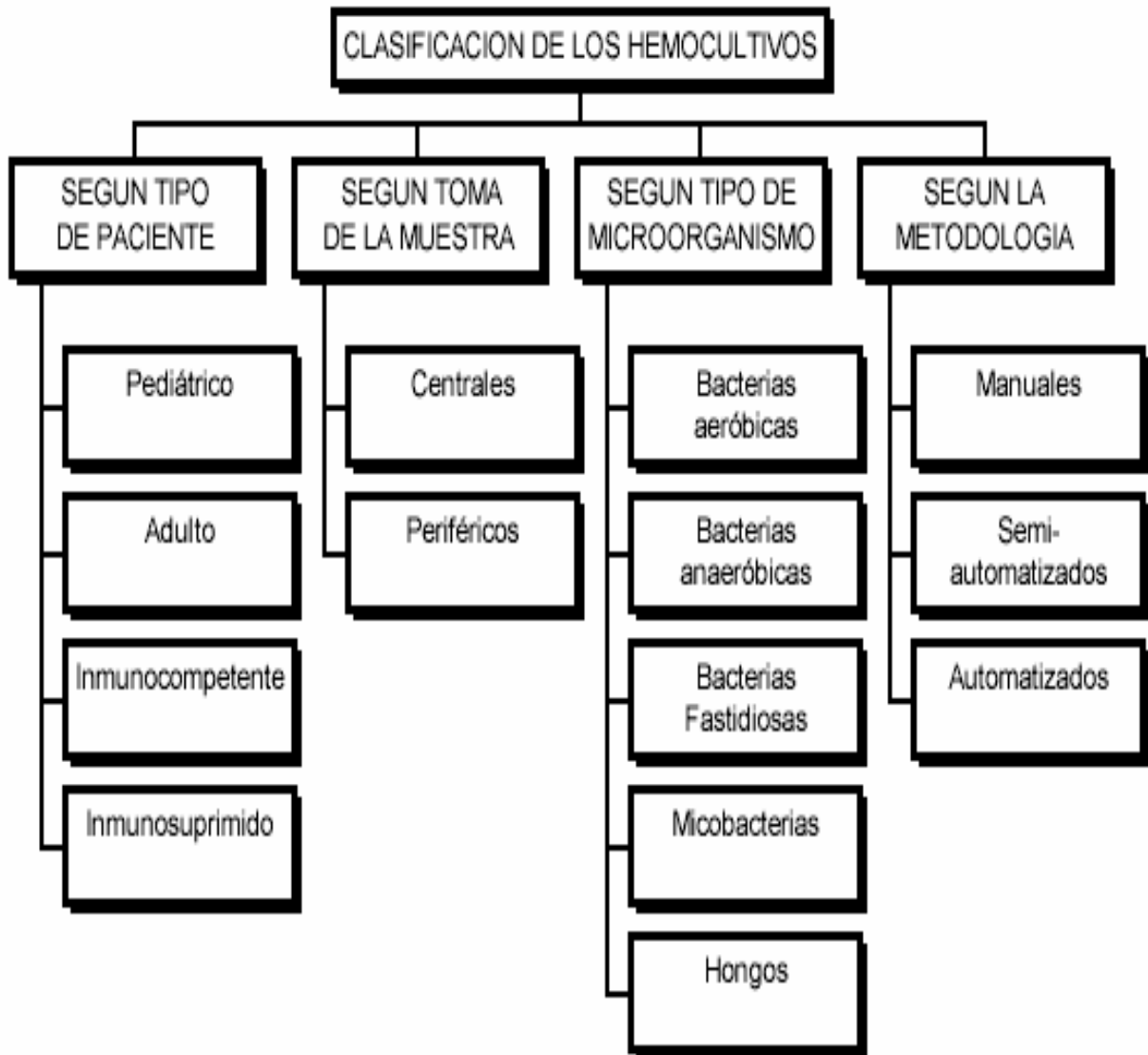
sangre en una preparación especial (infusión de extractos de carne y peptona, con la adición de otros reactivos) incubado en ambiente controlado de 1 a 7 días. Para que las bacterias crezcan adecuadamente, el medio debe reunir una serie de condiciones como: temperatura, grado de humedad, grado de acidez o alcalinidad y presión de oxígeno adecuadas; así como contener los nutrientes necesarios^{30,31}.

La indicación clásica para la obtención de hemocultivos es la sospecha de sepsis en pacientes con o sin foco aparente de infección.

3.1.1. TRADICIONAL

En el hemocultivo tradicional se emplea el medio de infusión cerebro corazón, conteniendo un 0.0025 a 0.05% de polianetol sulfonato de sodio (SPS), el cual tiene un efecto anticoagulante e inhibe la actividad bactericida del suero y la fagocitosis de los leucocitos, inactiva el complemento, neutraliza lisozimas y antibióticos aminoglucosidos^{32,37}.

Los hemocultivos se clasifican según el sitio de toma de la muestra en: centrales o periféricos; según el paciente en: pediátrico, adulto. Existen tres tipos de sistemas de hemocultivos que son: convencionales o manuales, semiautomatizados y en sistemas automatizados⁴.



Profesionales de la Sección Bacteriología General, Dra. Patricia García C.* y Carlos Pérez C.*
 *Pontificia Universidad Católica de Chile

Es realizado mediante punción estéril venosa o arterial, incubado de 5 a 7 días.
 La sensibilidad para la identificación de sepsis neonatal es de 50-80%; el 2.7% de los neonatos con sepsis clínica tienen hemocultivo positivo; por lo que un

hemocultivo positivo con un microorganismo patógeno es diagnóstico de sepsis; sin embargo un hemocultivo negativo no descarta la enfermedad^{22,24}. No todos los hemocultivos positivos son clínicamente significativos; se acepta un porcentaje de contaminación que varía entre 2 a 3%⁴.

Es imprescindible tomar 2 hemocultivos antes de iniciar el tratamiento antibiótico así se trate solo de sospecha de infección. La positividad de los hemocultivos en septicemia evidente es menor al 50%¹⁹. La positividad del hemocultivo mejora mucho en rendimiento cuando la muestra es tomada de vena periférica y mejor cuando se toman dos muestras de venas distintas; cuando existe sospecha de sepsis relacionada a catéter se realiza cultivo de sangre obtenida del catéter⁶.

La dilución de la sangre es necesaria con el fin de neutralizar las propiedades bactericidas de la misma; se recomienda una dilución 1 a 10. En recién nacidos y prematuros el volumen de extracción es de 1 a 5mL²⁸.

En la actualidad existen equipos para la detección y recuperación de los microorganismos involucrados en el desarrollo de sepsis con la ventaja de reducción del tiempo de detección, pero con la desventaja del volumen de muestra que se requiere.

3.1.2. AUTOMATIZADO

El método convencional automatizado utilizado en el Hospital Infantil de México "Federico Gómez" (HIMFG) para el diagnóstico de sepsis es el sistema

BACTEC peds plus/F™BD³³ (Foto 1), el cual requiere de 1 a 3 mL de sangre; Tomando en cuenta el número de hemocultivos que se le toman a los neonatos, y las pruebas auxiliares de diagnóstico como la biometría hemática, es frecuente que los pacientes de neonatología sean transfundidos³⁴. Se calcula que el 80% de los neonatos de bajo peso al nacer reciben al menos una transfusión durante su estancia hospitalaria y el promedio de transfusiones en prematuros es de 8 a 10 en este lapso. El número de transfusiones en neonatos críticamente enfermos se asocia al volumen de sangre extraído para estudios de laboratorio; el volumen de concentrado eritrocitario transfundido depende principalmente del tiempo de estancia hospitalaria^{35,36}.



Foto 1: Equipo BACTEC™ 9120

Las botellas de hemocultivo de BACTEC™ pediátrico (Foto 2), contienen un medio de caldo enriquecido de digerido de soya-caseína con CO₂, además de una resina que permite neutralizar la carga de antimicrobianos que pudiera tener el

paciente al momento de la toma de la muestra como: ampicilina, aztreonam, cefazolin, cefotaxime, cefoxitin, ceftriaxone, cefalotina, cloranfenicol, ciprofloxacina, gentamicina, imipenem, estreptomina y vancomicina³⁷. Las cuales se incuban en equipo con agitación constante con sistemas de monitoreo continuo con detección microbiana mediante el índice de CO₂ producido dentro de la botella.



Foto 2: Hemocultivo BACTEC™ pediátrico

Cada botella contiene un sensor que puede detectar aumentos de CO₂ producido por el crecimiento de microorganismos; cada diez minutos el instrumento verifica el aumento de la fluorescencia del sensor, la que se relaciona con cantidad de CO₂ presente. Si existen microorganismos en la muestra inoculada en el frasco BACTEC™, estos metabolizarán los sustratos presentes en el frasco y producirán CO₂. Mayor fluorescencia del sensor en el frasco producirá

el aumento de CO₂. El análisis del ritmo y monto del aumento del CO₂ hace que el instrumento BACTEC™ de la serie fluorescente pueda determinar si el frasco es positivo, es decir, que la muestra contiene organismos viables³⁸.

4. TRATAMIENTO

4.1. MEDIDAS GENERALES.

El tratamiento debe efectuarse en la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales (UCIN), con monitoreo de constantes vitales y controles analíticos frecuentes a fin de prevenir y/o detectar precozmente la presencia de complicaciones. Inicialmente se mantendrá a dieta absoluta, hidratación, control de temperatura, equilibrio hidroelectrolítico y se realizarán aspiraciones gástricas repetidas, sobre todo en sepsis grave, para disminuir el riesgo de broncoaspiración. Se procurará un aporte glucídico-proteico por vía parenteral^{6,24}.

4.2. ANTIBIOTICOTERAPIA

La elección del antibiótico depende de varios factores como son: el agente etiológico sospechado, susceptibilidad del microorganismo, capacidad de penetración del antibiótico en el SNC, toxicidad; así como de la función hepática y renal del neonato y tolerancia del neonato a los fármacos^{8,23}.

Los neonatos prematuros tienen órganos inmaduros por lo que no pueden tolerar algunos antibióticos como lo hacen los neonatos nacidos a término. El tratamiento antibiótico empírico debe iniciarse inmediatamente después de obtener las muestras para cultivos. Debe tenerse en cuenta la flora presuntamente

responsable y su susceptibilidad a los antibióticos. La mayoría de los medicamentos se administran por vía intravenosa (IV)^{6,8,39}.

En la sepsis de transmisión vertical, la antibiótico-terapia debe cubrir EGB, enterobacterias (*E. coli*) lo cual se consigue con la asociación ampicilina + gentamicina en dosis de 100 a 200 mg/kg/día. La utilización de ampicilina + cefotaxima esta indicada cuando existe meningitis y cuando hay colonización del canal vaginal con *H. influenzae* al final de la gestación.

Cuando se trata de infección bacteriana de transmisión nosocomial, la antibiótico-terapia debe ser efectiva frente a los gérmenes mas frecuentes responsables (*S. epidermidis*, *S. aureus*, *Enterococo*, *Klebsiella*, *Enterobacter* y *P. aeruginosa*). Se recomienda la asociación de vancomicina o teicoplanina y un aminoglicosido (gentamicina), teniendo en cuenta la sensibilidad de la flora predominante^{6,19,40}.

Una vez que el germen ha sido identificado por los cultivos y comprobada su sensibilidad a los antibióticos, la antibioterapia debe ser revisada y modificada en función del antibiograma para reducir los riesgos en las alteraciones de la flora normal^{6,22}.

La duración del tratamiento ha sido establecida clásicamente en 10-14 días para la sepsis sin infección focal. Para la meningitis a gram-negativos se recomienda mantener el tratamiento un mínimo de 21 días después de que el LCR ha sido esterilizado y en la meningitis por EGB un mínimo de 14 días⁶.

El uso de antibióticos de amplio espectro puede alterar la flora intestinal y aumentar la resistencia a los antibióticos; esta alteración puede aumentar el riesgo de contraer enterocolitis necrotizante después de la interrupción del tratamiento³⁹.

4.3. TRATAMIENTO DE SOPORTE

La ventilación mecánica está indicada en sepsis con alteración respiratoria asociada y cuando la respiración es ineficaz. Cuando se asocia choque séptico con disfunción miocárdica es necesario recurrir al empleo de expansores plasmáticos y aminas vasoactivas como dopamina, noradrenalina y epinefrina; corregir trastornos de coagulación con vitamina K y plasma fresco congelado^{6,23,24}.

P O B L A C I Ò N

Pacientes con diagnóstico probable de sepsis internados en la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales "UCIN" del Hospital Infantil de México "Federico Gómez".

HIM-1: Cuarenta y ocho hemocultivos obtenidos de Febrero a Abril del 2006.

HIM-3: Cincuenta hemocultivos obtenidos de Septiembre a Octubre del 2006.

C R I T E R I O S D E I N C L U S I Ò N

- 1.- Pacientes con diagnóstico probable de sepsis.
- 2.- Toma de la muestra aséptica.
- 3.- Volumen en paralelo de la muestra para BACTEC™ y minihemocultivo.

CRITERIOS DE NO INCLUSIÓN

- 1.- Pacientes sin síntomas o diagnóstico presunto de sepsis.
- 2.- Cantidad de muestra obtenida insuficiente.
- 3.- Sin la toma de uno de los hemocultivos (minihemocultivo o BACTEC™).
- 4.- Toma de la muestra sin la asepsia adecuada.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- 1.- Aislamiento de microorganismos contaminantes.
- 2.- Ruptura de esterilidad de la muestra.
- 3.- Perdida o ruptura del BACTEC™ o minihemocultivo

MÉTODOS

9.1. Formulación Del Minihemocultivo HIM-1

- Caldo BHI
- Tioglicolato al 0.1% (1g/1L de BHI)
- Citrato de sodio al 2% (20g/1L de BHI)
- Polienriquecimiento para gelosa chocolate (1L)

9.2. Preparación del Medio Minihemocultivo HIM-1

1.- Adicionar 37g de infusión cerebro corazón en 500mL, mezclar cbp 1L, calentar con agitación.

2.- Adicionar al caldo BHI:

- Tioglicolato 1g
- Citrato de sodio 20g
- Polienriquecimiento 10 mL

3.- Esterilizar a 121°C por 15min

4.- Adicionar 1.8 mL a 200 viales de 2 mL

5.- Tapar con tapón de hule

6.- Engargolar en forma manual

7.- Realizar la prueba de esterilidad: Incubar a 37°C por 24 hrs.

8.- Almacenar a 2-30°C

9.3. Formulación Del Minihemocultivo HIM-3

- Caldo BHI
- Tioglicolato al 0.1% (1g/1L de BHI)
- Citrato de sodio al 2% (20g/1L de BHI)
- Polienriquecimiento para gelosa chocolate (1L)
- Polianetol Sulfonato de Sodio (SPS)
- Rojo de fenol

9.4. Preparación del Medio Minihemocultivo HIM-3

1.- Pesar 9.75 g de infusión cerebro corazón (BHI), disolver cbp 250 mL, calentar a ebullición 1 min.

2.- Adicionar al caldo BHI:

- Tioglicolato de sodio (1%) 0.25 g
- Citrato de sodio (20%) 5.0 g
- Polienriquecimiento 2.5 mL
- Rojo de fenol (0.24%) 0.06 g
- SPS a los 250mL (0.2%) 50 mg

3.- Adicionar 1.0 mL a 200 viales

4.- Tapar con tapón de hule y Esterilizar

120°C 15 lb/in² por 15 min.

5.- Engargolar en forma manual

6.- Realizar la prueba de esterilidad: Incubar a 37°C por 24 hrs.

7.- Almacenar a 2-30°C

9.5. Métodos Estadísticos

Se utiliza la dònima χ^2 para la comparaciòn de los resultados obtenidos del HIM y BACTEC™ pediàtrico⁴¹.

La χ^2 se calculò con la tabla de contingencia. Y se utilizò la fòrmula de correcciòn de Yates:

$$\chi^2 = \frac{n ([ad - bc] - n/2)^2}{(a+b) (c+d) (a+c) (b+d)}$$

a = pacientes positivos BACTEC™
b = pacientes positivos HIM-1
c = pacientes negativos BACTEC™
d = pacientes negativos HIM-1
n = nùmero total de pacientes

Tabla de contingencia

a	b	a+b
c	d	c+d
a+c	b+d	n

La especificidad y sensibilidad fueron calculadas con las fórmulas:

$$\text{Especificidad} = \frac{\text{verdaderos negativos}}{\text{verdaderos negativos} + \text{falsos positivos}}$$

$$\text{Sensibilidad} = \frac{\text{verdaderos positivos}}{\text{verdaderos positivos} + \text{falsos negativos}}$$

Utilizando las siguientes tablas de contingencia:

	SEPSIS			SEPSIS			HIM	
BACTEC™	+	-	HIM	+	-	BACTEC™	+	-
+			+			+		
-			-			-		

PROCEDIMIENTO

10.1. Frecuencia de microorganismos

Se realizó la revisión retrospectiva de los microorganismos más frecuentes causantes de sepsis de los años 2002, 2003 y 2004 de los resultados obtenidos por el Laboratorio de Bacteriología del Laboratorio Central del Hospital Infantil de México “Federico Gómez” HIMFG. (Ver Tabla I, Grafico 1).

Estos microorganismos se utilizan como estándar para realizar el control de calidad a los hemocultivos desarrollados en el Hospital Infantil de México “Federico Gómez” HIM-1 y HIM-3; ya que son los más frecuentes en la sepsis en

el HIMFG y se trata de comprobar que el HIM-1 y el HIM-3 son capaces de soportar su crecimiento.

10.2. Control de calidad sugerido para el sistema automatizado

Además para el control de calidad de los minihemocultivos se utilizan las cepas con las que se realiza el control de calidad del equipo automatizado BACTEC 9120 Becton Dickinson, las cuales son:

- *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
- *Clostridium perfringens* ATCC 13124
- *Haemophilus influenzae* ATCC 10211. (Ver Tabla X).

10.3. Control de calidad del minihemocultivo

Para el control de calidad, es necesario tener a las cepas ATCC en su fase logarítmica para lo cual se realizan siembras de las mismas en gelosa sangre cada 24 horas. Las cuales fueron: *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Escherichia coli* ATCC 25422, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Clostridium perfringens* ATCC 13124, *Haemophilus influenzae* ATCC 10211, *Enterococcus spp* y *Staphylococcus epidermidis* silvestres.

De la última siembra se prepara una suspensión al 0.5 de Mac Farland en el VITEK colorimeter Biomerieux® (Foto 3), con el objeto de tener una concentración

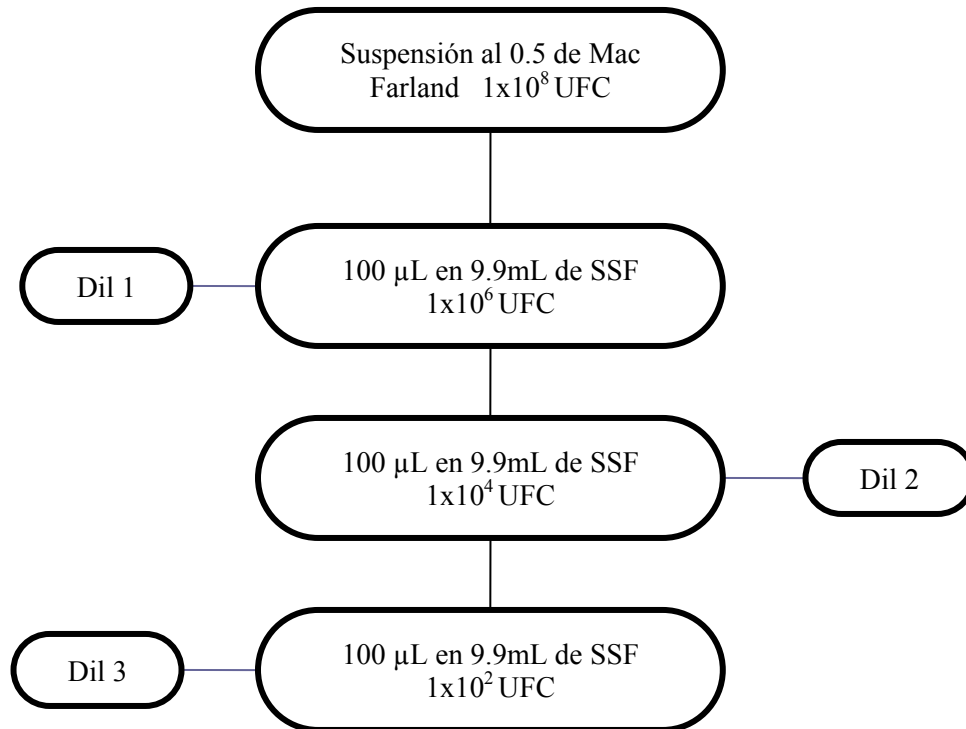
de 1×10^8 UFC/mL, de la cual se realiza una dilución 1:100 en solución salina fisiológica para obtener 1×10^6 UFC/mL, de esta primera se hace una segunda dilución 1:100 para tener 1×10^4 UFC/mL, se realiza una tercera dilución 1:100 con el fin de tener 1×10^2 UFC/mL es decir de 100 a 200 colonias. (Diagrama 1).



Foto 3: VITEK colorimeter Biomerieux®

DIAGRAMA 1.

Diluciones Para El Control De Calidad De Minihemocultivos HIM-1 Y HIM-3

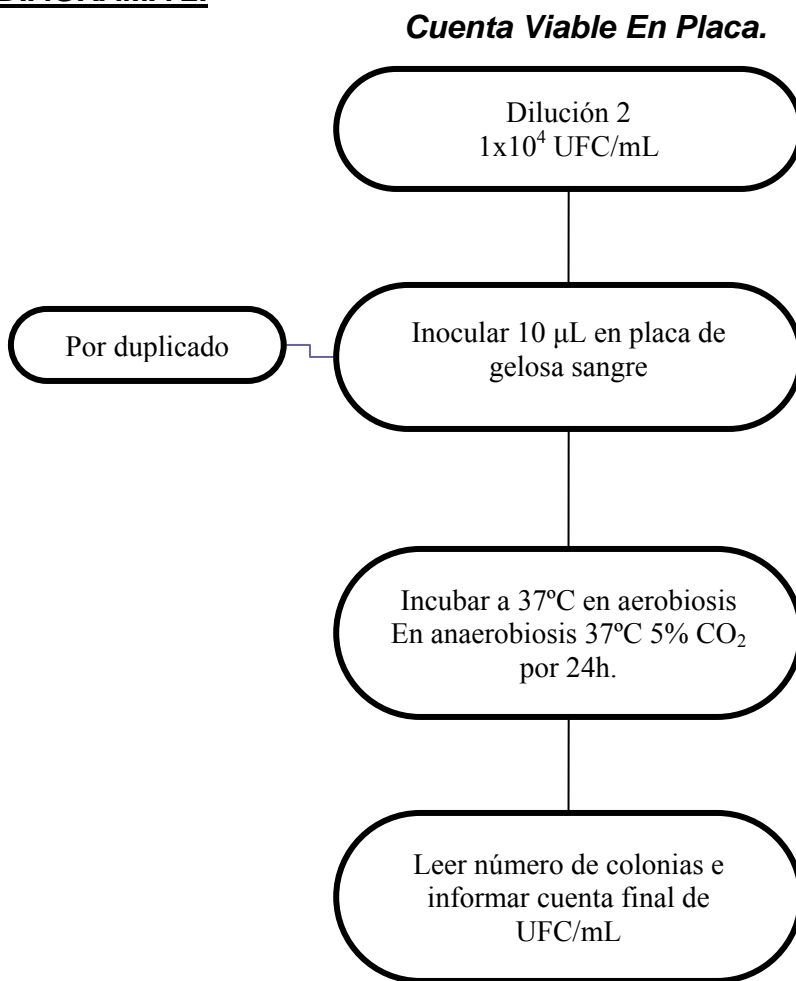


10.4. Cuenta viable en placa

De la segunda dilución de cada cepa (concentración final 1×10^4 UFC/mL) se inoculan 10 μ L en placa de gelosa sangre por duplicado con el fin de realizar una

cuenta viable de 100 a 200 UFC/mL y corroborar que las diluciones y la viabilidad fueron las adecuadas. Se incuban las placas en condiciones adecuadas para cada microorganismo, para aerobios a 37°C durante 24 horas y para anaerobios 37°C 5% de CO₂ durante 24h. Se lee el número de colonias que se desarrollan y se informa la cuenta final de UFC/mL correspondiente para cada cepa bacteriana. (Diagrama 2). (Ver Tablas II y VII).

DIAGRAMA 2.



10.5. Control de calidad

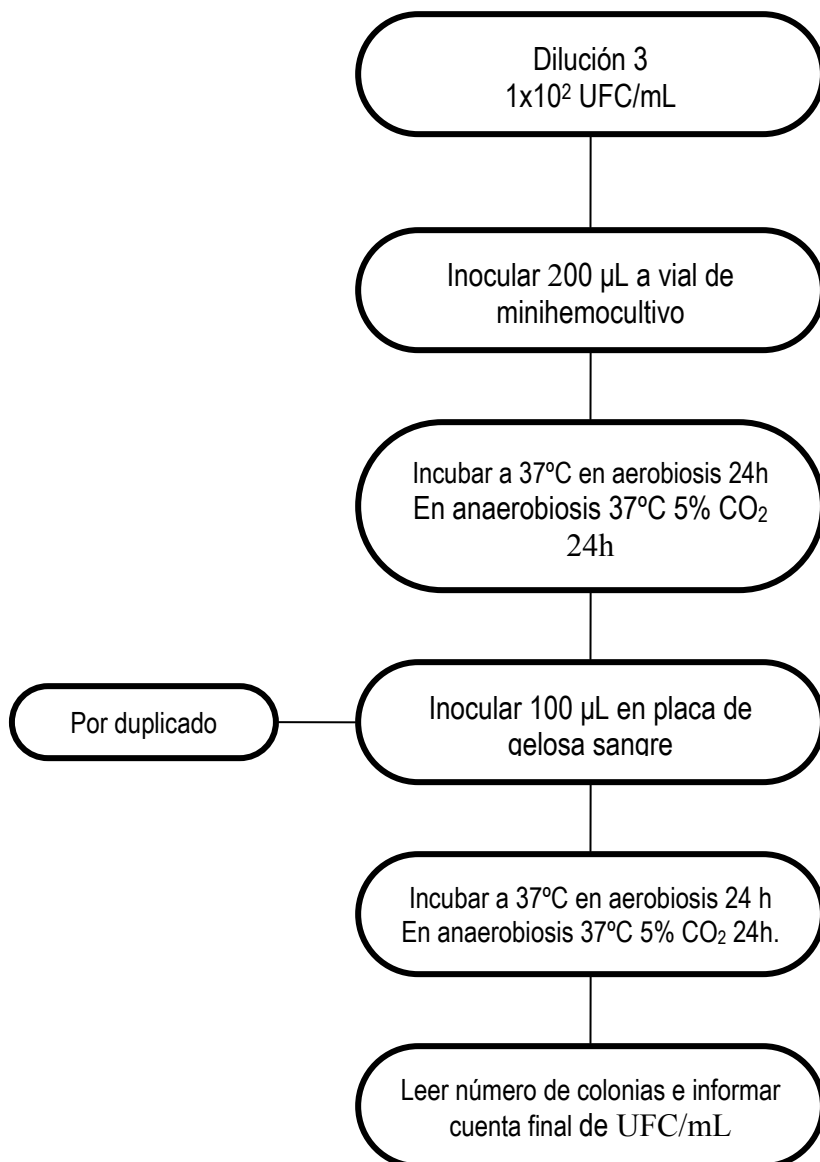
De la tercera dilución de cada cepa (concentración final 1×10^2 UFC/mL) se inoculan 200 μ L a los viales de minihemocultivo (Foto 4), los cuales son incubados en condiciones adecuadas de crecimiento para cada microorganismo, para aerobios a 37°C durante 24, 48 ò 72 horas y para anaerobios 37°C 5% de CO₂ por 24, 48 ò 72 horas. A las 24 horas se realiza una siembra en placa de gelosa sangre, por duplicado tomando una alícuota de 100 μ L, con el fin de realizar una cuenta viable. Se incuban las placas en condiciones adecuadas de crecimiento durante 24 horas. Se lee el número de colonias que se desarrollan y se informa la cuenta final de UFC/mL correspondiente para cada cepa bacteriana. Obteniendo las UFC/mL mínimas que evidencian los hemocultivos, ya sea BACTEC™ o HIM-1 y HIM-3. (Diagrama 3). (Ver Tablas III y VIII).



Foto 4: Inoculación de minihemocultivos

DIAGRAMA 3.

Inoculación De Minihemocultivos HIM-1 Y HIM-3



Una vez evidenciado el crecimiento en las placas de gelosa sangre se procede a la identificación del microorganismo por medio de la realización de un frotis y las pruebas bioquímicas tradicionales correspondientes; así como el sistema de identificación de tarjeta VITEK BIOMERIEUX® (Foto 5). De esta manera se comprueba la viabilidad y permisividad de crecimiento de los microorganismos aislados en el minihemocultivo, los cuales podrían ser los causantes de la sepsis neonatal diagnosticada.

A)



B)



Foto 5: Tarjetas VITEK® de identificación. A) Sin muestra. B) Con muestra

10.6. Determinación de la sensibilidad de los minihemocultivos

HIM-1 y HIM-3

Para demostrar que el minihemocultivo soporta el crecimiento de cocos gram positivos se realiza la inoculación de una concentración de 1×10^8 UFC/mL hasta 1×10^2 UFC/mL en un volumen final de 200 μ L, a cada vial, por duplicado. Los cuales se incuban en condiciones adecuadas de crecimiento para cada microorganismo, para aerobios a 37°C durante 24, 48 o 72 horas. Posterior a las 24 hrs. se realiza una siembra en placa de gelosa sangre en condiciones estériles y por duplicado tomando una alícuota de 100 μ L, con el fin de realizar una cuenta viable en placa. Se incuban las placas en condiciones adecuadas de crecimiento durante 24 horas. Se lee el número de colonias que se desarrollan y se informa la cuenta final de UFC/mL correspondiente para cada cepa bacteriana. Ver Tablas IV y IX.

10.7. Muestras de pacientes.

Comparación del BACTEC™ contra Minihemocultivo HIM

Se tomaron muestras de pacientes internados en la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales (UCIN) del Hospital Infantil de México “Federico Gómez”, Firmándose previamente la carta de consentimiento informado por los padres o tutor legal de los neonatos. Ver Anexo III.

Los viales son inoculados con 200 a 300 μ L de sangre del neonato con diagnóstico probable de sepsis (Foto 6). Se incuban en aerobiosis a 37°C, a las 24 hrs. se realiza del vial un frotis y siembra a ciegas en gelosa sangre. Esto se realiza cada 24 hrs. con el fin de determinar la positividad de los viales. Cuando sea positivo el frotis y en la placa se detecte crecimiento se realizan las pruebas bioquímicas tradicionales correspondientes así como el empleo de la tarjeta VITEK BIOMERIEUX® para la identificación del microorganismo causante de la sepsis; si al 7° día el vial sigue siendo negativo, se reporta como negativo a los 7 días.



Foto 6: Minihemocultivos de pacientes

Paralelamente a la inoculación del vial se inocula la botella del hemocultivo comercial BACTEC™ pediátrico, el cual es procesado en el equipo BACTEC 9120 peds/F™BD con la técnica provista por el fabricante Beckton-Dickinson. Lo cual sirve para tener un control con el cual verificar la funcionalidad del minihemocultivo, ya que el BACTEC™ pediátrico es un hemocultivo estandarizado. Ver Tablas V y VI.

10.8. Toma De Producto:

- Preparar los hemocultivos comerciales BACTEC™ pediátrico y los minihemocultivos.
- Solicitar a los médicos de la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales “UCIN” del Hospital Infantil de México “Federico Gómez”, tomar la muestra de sangre con jeringa en el momento de sospecha de sepsis (presencia de fiebre), e inocular cambiando la aguja de la jeringa en el vial de HIM de 200 a 300 μ L de sangre y a la botella BACTEC™ pediátrico de 1 a 3mL de sangre (Foto 7). Agitando suavemente para la homogenización de las muestras.
- Incluir en la solicitud del estudio: nombre completo del paciente, fecha y hora de la toma, edad, registro del paciente, diagnóstico.
(Diagrama 4).



Foto 7: Hemocultivo BACTEC™ y Minihemocultivo

DIAGRAMA 4.

Toma De Muestra De Pacientes De La UCIN.



10.9. Incubación De Los Hemocultivos:

- Los viales de minihemocultivo:
 - En condiciones de esterilidad:
 - colocar una aguja estéril en los viales de minihemocultivo
 - introducirlos en la incubadora a 37°C en condiciones de aerobiosis (Foto 8A).
 - Cada 24 horas realizar un frotis con tinción de Gram y siembra a ciegas para evidenciar crecimiento microbiano.

- Las botellas de BACTEC™ pediátrico:
 - se incuban en el equipo BACTEC 9120 peds plus/F™BD (Foto 8B), el cual cuenta con un lector y un dispositivo electrónico que registra la positividad de las botellas y lo presenta en un monitor. (Diagrama 4).

A)



B)



Foto 8: Incubación de hemocultivos A) Incubación a 37°C.
B) Incubación en equipo BACTEC™ 9120

10.10. Aislamiento Del Agente Microbiano de Minihemocultivo y BACTEC™:

Cuando se ha detectado un hemocultivo positivo se procede de la siguiente manera:

- Agitar suavemente la botella

- Retirar con jeringa aproximadamente 0.4 mL del medio.
 - Colocar una gota sobre el portaobjetos.
 - Dejar secar y fijar a la flama.
 - Realizar tinción de Gram.
 - Observar al microscopio.

 - Con el resto de la muestra colocar una gota en placas de:
 - Gelosa chocolate, Gelosa sangre y Agar McConkey.
 - Estriar para aislar colonias.
 - Incubar a 37°C por 24hrs la Gelosa sangre y McConkey
 - Incubar a 37°C por 24hrs en atmósfera de CO₂ Gelosa chocolate.

10.11. Identificación Del Agente Microbiano:

- Revisión de las placas después de la incubación

- Realizar tinción de Gram a las colonias

- Bacilos Gram negativos:

- Realizar una suspensión al 0.5 de Mac Farland e inocular la tarjeta VITEK BIOMERIEUX® (Foto 9), para bacilos gram negativos
- Inocular tubos para pruebas bioquímicas tradicionales e incubarlos a 37°C por 24 horas.
 - MIO
 - KLIGER
 - LIA
 - Urea
 - Citrato de Simmons

- Cocos Gram Positivos

- Realizar una suspensión al 0.5 de Mac Farland e inocular la tarjeta VITEK BIOMERIEUX® (Foto 9), para cocos gram positivos
- Inocular tubos para pruebas bioquímicas tradicionales e incubarlos a 37°C por 24 horas.
 - Coagulasa
 - Manitol

A)



B)



Foto 9: A) Equipo VITEK BIOMERIEUX®. B) Tarjetero del equipo VITEK®

RESULTADOS

Frecuencia de microorganismos

De los datos resientes disponibles se tiene que los microorganismos más frecuentes en la sepsis en el HIMFG en el periodo 2002-2004 fueron: Estafilococos coagulasa negativa, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus spp*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Streptococcus pneumoniae* (Tabla I. Grafico 1)

Tabla IA: Frecuencia de microorganismos presentes en sepsis 2002

<i>Microorganismos Frecuentes en el HIMFG 2002</i>	
MICROORGANISMO	PORCENTAJE %
<i>Staphylococcus coag neg</i>	33.45
<i>Escherichia coli</i>	7.81
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6.11
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4.07
<i>Enterococcus spp</i>	3.74
<i>Staphylococcus aureus</i>	3.40
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2.38

Grafico 1A: Frecuencia de microorganismos 2002

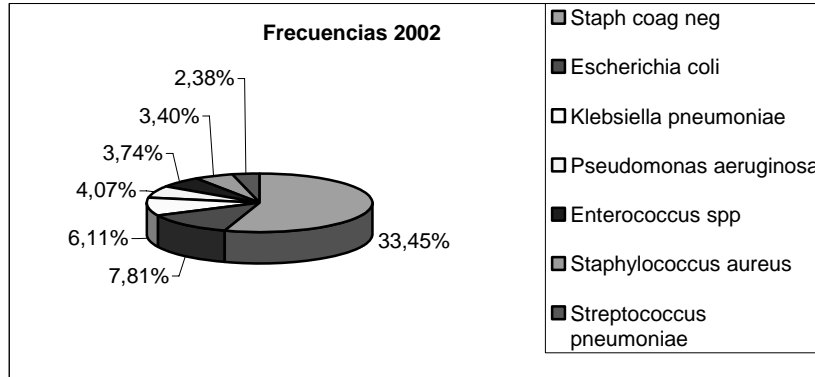


Tabla IB: Frecuencia de microorganismos presentes en sepsis 2003

Microorganismos Frecuentes en el HIMFG 2003

MICROORGANISMO	PORCENTAJE %
<i>Staphylococcus coag neg</i>	35.65
<i>Escherichia coli</i>	6.39
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5.40
<i>Enterococcus spp</i>	4.40
<i>Staphylococcus aureus</i>	3.84
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3.55
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1.14

Grafico 1B: Frecuencia de microorganismos 2003

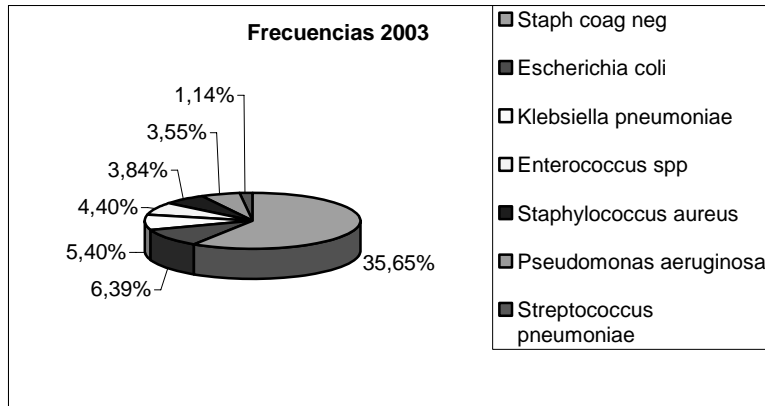


Tabla IC: Frecuencia de microorganismos presentes en sepsis 2004

Microorganismos Frecuentes en el HIMFG 2004

MICROORGANISMO	PORCENTAJE %
<i>Staphylococcus coag neg</i>	33.98
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6.99
<i>Escherichia coli</i>	6.02
<i>Staphylococcus aureus</i>	4.10
<i>Enterococcus spp</i>	3.86
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3.86
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2.65

Grafico 1C: Frecuencia de microorganismos 2004

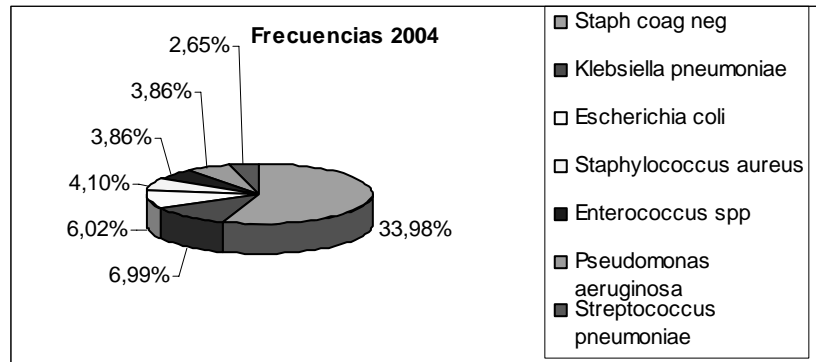
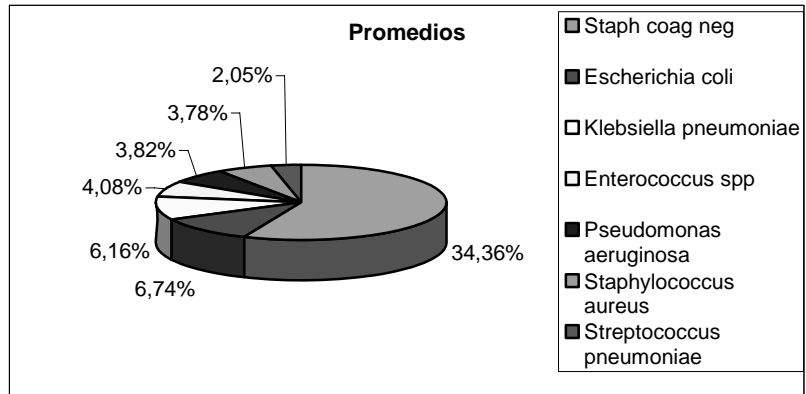


Tabla ID: Frecuencia de microorganismos presentes en sepsis 2002-04

Microorganismos Frecuentes en el HIMFG Periodo 2002-2004

MICROORGANISMO	PORCENTAJE %
<i>Staphylococcus coag neg</i>	34.36
<i>Escherichia coli</i>	6.74
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6.16
<i>Enterococcus spp</i>	4.08
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3.82
<i>Staphylococcus aureus</i>	3.78
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2.05

Grafico 1D: Frecuencia de microorganismos periodo 2002-04



MINIHEMOCULTIVO HIM-1:

Cuenta viable en placa

La cantidad de unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL), obtenidas en la cuenta viable en placa, para el control de calidad del minihemocultivo HIM-1 se encuentran en la *Tabla II*.

Tabla II: Cuenta Viable en Placa

Cuenta Viable En Placa HIM-1					
PLACA	MEDIO	DIL	ALICUOTA	CUENTA	CON. REAL
<i>K. pneumoniae</i>	GS	10 ⁴	10 uL	36 / 55	46 x 10 ⁴ UFC/ mL
<i>Staph. aureus</i>	GS	10 ⁴	10 uL	149 / 144	147 x 10 ⁴ UFC/ mL
<i>S. epidermidis</i>	GS	10 ⁴	10 uL	153 / 171	162 x 10 ⁴ UFC / mL
<i>Enterococcus spp</i>	GS	10 ⁴	10 uL	45 / 43	44 x 10 ⁴ UFC / mL
<i>E. coli</i>	GS	10 ⁴	10 uL	17 / 26	22 x 10 ⁴ UFC / mL
<i>Ps. Aeruginosa</i>	GS	10 ⁴	10 uL	35 / 64	50 x 10 ⁴ UFC / mL

<i>St. Pneumoniae</i>	GS	10 ⁴	10 uL	3 / 5	4 x 10 ⁴ UFC / mL
-----------------------	----	-----------------	-------	-------	------------------------------

GS = Gelosa sangre

Control de calidad

Los microorganismos que se desarrollaron satisfactoriamente en el minihemocultivo HIM-1 fueron: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus spp* y *Clostridium perfringens* en una concentración de 1x10² UFC/mL. Y no soportó el crecimiento de los *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Streptococcus pneumoniae* a una concentración de 1x10² UFC/mL. (Tabla III).

Tabla III: Control de calidad realizado a minihemocultivos HIM-1

MINIHEMOCULTIVO HIM - 1		
MICROORGANISMO	CONCENTRACION 1 X 10 ² UFC / mL	
	DESARROLLO	TIEMPO DE DETECCION
<i>K. pneumoniae</i>	Crecimiento	24 hrs
<i>S. aureus</i>	Sin crecimiento	7 días
<i>S. epidermidis</i>	Sin crecimiento	7 días
<i>Enterococcus spp</i>	Crecimiento	24 hrs.
<i>E. coli</i>	Crecimiento	24 hrs.
<i>P. aeruginosa</i>	Crecimiento	24 hrs.
<i>C. perfringens</i>	Crecimiento	24 hrs.
<i>S. pneumoniae</i>	Sin crecimiento	7 días

Determinación de la sensibilidad de los minihemocultivos HIM-1

En las diluciones al límite de las cepas de *S. epidermidis* y *S. aureus* se tiene que los viales de minihemocultivo HIM-1 soportan el crecimiento de los cocos en concentraciones iguales o superiores de 1×10^6 UFC/mL y no permite el desarrollo en concentraciones iguales o menores de 1×10^4 UFC/mL. (Tabla IV).

Tabla IV: **Dilución al límite.**

MINIHEMOCULTIVOS del HIMFG HIM -1										
	DIL	1er PASE	ALICUOTA	CUENTA	2do PASE	ALICUOTA	CUENTA	3er PASE	ALICUOTA	CUENTA
<i>S. epidermidis</i>	10 ⁸	24 hrs	100 uL	in / in
<i>Staph. aureus</i>	10 ⁸	24 hrs	100 uL	in / in
<i>S. epidermidis</i>	10 ⁶	24 hrs	100 uL	144 / 158
<i>Staph. aureus</i>	10 ⁶	24 hrs	100 uL	125 / 133
<i>S. epidermidis</i>	10 ⁴	24 hrs	100 uL	sin / sin	48 hrs.	100 uL	sin / sin	72 hrs.	100 uL	sin / sin
<i>Staph. aureus</i>	10 ⁴	24 hrs	100 uL	sin / sin	48 hrs.	100 uL	sin / sin	72 hrs.	100 uL	sin / sin
<i>S. epidermidis</i>	10 ²	24 hrs.	100 uL	sin / sin	48 hrs.	100 uL	sin / sin	72 hrs.	100 uL	sin / sin
<i>Staph. aureus</i>	10 ²	24 hrs	100 uL	sin / sin	48 hrs.	100 uL	sin / sin	72 hrs.	100 uL	sin / sin

in = colonias incontables
sin = sin desarrollo

Hemocultivos de pacientes

Se trabajaron con 20 pacientes de los cuales se obtuvieron 48 hemocultivos debido a que algunos pacientes requirieron de mas de un hemocultivo,

1	1 NEG	1 NEG	...	Ausente
1	1 NEG	1 NEG	...	Ausente
1	1 NEG	1 NEG	...	Ausente

NEG = Hemocultivo negativo

POS = Hemocultivo positivos

Tabla VI: Comparación preliminar de resultados del hemocultivo BACTEC™ pediátrico vs minihemocultivo HIM-1 ($J_i^2=7.1$ $p=0.5$)

BACTEC™	HIM-1	Nº DE MUESTRAS POSITIVAS	%	MICROORGANISMO
POSITIVO	POSITIVO	1	2.08	<i>Escherichia coli</i>
POSITIVO	NEGATIVO	10	20.83	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
POSITIVO	NEGATIVO	3	6.25	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>

MINIHEMOCULTIVO HIM-3:

Cuenta viable en placa

La cantidad de unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL), obtenidas en la cuenta viable en placa, para el control de calidad del minihemocultivo HIM-3 se encuentran en la *Tabla VII*.

Tabla VII: Cuenta Viable en Placa

PLACA	MEDIO	DIL	ALICUOTA	CUENTA	CON. REAL
<i>K. pneumoniae</i>	GS	10 ⁴	10 uL	86 / 93	90 x 10 ⁴ UFC / mL
<i>Staph. aureus</i>	GS	10 ⁴	10 uL	167 / 172	170 x 10 ⁴ UFC / mL
<i>S. epidermidis</i>	GS	10 ⁴	10 uL	143 / 156	150 x 10 ⁴ UFC / mL
<i>H. influenzae</i>	GC	10 ⁴	10 uL	43 / 38	93 x 10 ⁴ UFC / mL
<i>Enterococcus spp</i>	GS	10 ⁴	10 uL	75 / 64	70 x 10 ⁴ UFC / mL

<i>E. coli</i>	GS	10 ⁴	10 uL	96 / 103	100 x 10 ⁴ UFC / mL
<i>Ps. Aeruginosa</i>	GS	10 ⁴	10 uL	95 / 83	89 x 10 ⁴ UFC / mL
<i>St. Pneumoniae</i>	GS	10 ⁴	10 uL	5 / 12	8.5 x 10 ⁴ UFC / mL

GS = Gelosa sangre
GC = Gelosa chocolate

Control de calidad

Los microorganismos que se desarrollaron satisfactoriamente en el minihemocultivo HIM-3 a concentraciones de 1x10⁸ UFC/mL, 1x10⁶ UFC/mL, 1x10⁴ UFC/mL y 1x10² UFC/mL fueron: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* y *Enterococcus spp.* Y no soportó el crecimiento de *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* y *Clostridium perfringens.* (Tabla VIII).

Tabla VIII: **Control de calidad realizado a minihemocultivos HIM-3**

MINIHEMOCULTIVO HIM - 3		
MICROORGANISMO	CONCENTRACIONES 1 X 10 ² UFC / mL, 1x10 ⁴ UFC / mL 1x10 ⁶ UFC / mL y 1x10 ⁸ UFC / mL	
	DESARROLLO	TIEMPO DE DETECCION
<i>K. pneumoniae</i>	Crecimiento	24 hrs
<i>H. influenzae</i>	Sin crecimiento	7 días
<i>Enterococcus spp</i>	Crecimiento	24 hrs.
<i>E. coli</i>	Crecimiento	24 hrs.
<i>P. aeruginosa</i>	Crecimiento	24 hrs.

<i>C. perfringens</i>	Sin crecimiento	7 días
<i>S. pneumoniae</i>	Sin crecimiento	7 días

Determinación de la sensibilidad de los minihemocultivos HIM-3

El minihemocultivo HIM-3 soporta el crecimiento de los *Staphylococcus aureus* en concentraciones mayores o iguales a 1×10^4 UFC/mL y de los *Staphylococcus epidermidis* en concentraciones mayores o iguales a 1×10^6 UFC/mL. (Tabla IX).

Tabla IX: **Dilución al límite**

MINIHEMOCULTIVOS del HIMFG HIM -3										
	DIL	1er PASE	ALICUOTA	CUENTA	2do PASE	ALICUOTA	CUENTA	3er PASE	ALICUOTA	CUENTA
<i>S. epidermidis</i>	10 ⁸	24 hrs	100 uL	in / in
<i>Staph. aureus</i>	10 ⁸	24 hrs	100 uL	in / in
<i>S. epidermidis</i>	10 ⁶	24 hrs	100 uL	196 / 203
<i>Staph. aureus</i>	10 ⁶	24 hrs	100 uL	in / in
<i>S. epidermidis</i>	10 ⁴	24 hrs	100 uL	sin / sin	48 hrs.	100 uL	sin / sin	72 hrs.	100 uL	sin / sin
<i>Staph. aureus</i>	10 ⁴	24 hrs	100 uL	87 / 77
<i>S. epidermidis</i>	10 ²	24 hrs.	100 uL	sin / sin	48 hrs.	100 uL	sin / sin	72 hrs.	100 uL	sin / sin
<i>Staph. aureus</i>	10 ²	24 hrs.	100 uL	sin / sin	48 hrs.	100 uL	sin / sin	72 hrs.	100 uL	sin / sin

in = colonias incontables

sin = sin desarrollo

Hemocultivos de pacientes

Se trabajaron con 19 pacientes de los cuales se obtuvieron 50 hemocultivos debido a que algunos pacientes requirieron de mas de un hemocultivo, obteniéndose: Un minihemocultivo HIM-3 positivo para *Streptococcus spp* así como su correspondiente hemocultivo BACTEC™. Dos minihemocultivos HIM-3 positivos para *Enterobacter cloacae* y sus correspondientes hemocultivos BACTEC™. Un minihemocultivos HIM-3 positivo para *Klebsiella pneumoniae* y su correspondiente hemocultivo BACTEC™. De las 46 muestras restantes se obtuvieron 9 hemocultivos BACTEC™ positivos para *Staphylococcus epidermidis* y sus minihemocultivos HIM-3 correspondientes fueron negativos. (Tabla X).

Tabla X: Hemocultivos BACTEC™ y Minihemocultivos HIM-3 de Pacientes "UCIN"

<i>MINIS HIM - 3 Y BACTEC™ DE PACIENTES "UCIN"</i>				
NÚMERO DE HEMOCULTIVOS POR PACIENTE	HIM - 3	BACTEC™	MICROORGANISMO AISLADO	SEPSIS
3	1 POS 2 NEG	1 POS 1 POS	<i>Streptococcus spp</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i>	Presente
2	1 POS 1 NEG	1 POS 1 POS	<i>Enterobacter cloacae</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i>	Presente
3	1 POS	1 POS	<i>Enterobacter cloacae</i>	Presente
5	1 POS	1 POS	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Presente
6	6 NEG	6 NEG		Ausente
5	5 NEG	2 POS	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Presente
4	4 NEG	2 POS	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Presente
4	4 NEG	4 NEG	...	Ausente
3	3 NEG	3 NEG		Presente

3	3 NEG	2 POS	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Presente
2	2 NEG	2 NEG	...	Presente
2	2 NEG	2 NEG	...	Ausente
2	2 NEG	2 NEG	...	Ausente
1	1 NEG	1 NEG	...	Ausente
1	1 NEG	1 POS	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Presente
1	1 NEG	1 NEG	...	Ausente
1	1 NEG	1 NEG	...	Ausente
1	1 NEG	1 NEG	...	Ausente
1	1 NEG	1 NEG	...	Ausente

NEG = Hemocultivo negativo

POS = Hemocultivo positivos

Tabla XI: Comparación preliminar de resultados del hemocultivo BACTEC™ pediátrico vs minihemocultivo HIM-3 ($Ji^2=5.74$ $p=0.5$)

BACTEC™ PEDIATRICO VS HIM-3				
BACTEC™	HIM-3	Nº DE MUESTRAS POSITIVAS	%	MICROORGANISMO
POSITIVO	POSITIVO	1	2.0	<i>Streptococcus spp</i>
POSITIVO	NEGATIVO	9	18.0	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
POSITIVO	POSITIVO	2	4.0	<i>Enterobacter cloacae</i>
POSITIVO	POSITIVO	1	2.0	<i>Klebsiella pneumoniae</i>

Control de calidad sugerido para el sistema automatizado

En la realización del control de calidad sugerido para los hemocultivos comerciales BACTEC™ pediátrico y realizado a los minihemocultivos HIM-1 y HIM-3; se tiene que el BACTEC™ y el HIM-3 no soportan el crecimiento de anaerobios como *Clostridium perfringens* y el HIM-1 si permite su desarrollo. (Tabla XII).

Tabla XII.: Resultados del CC del BACTEC™ y hemocultivos HIM-1 y HIM-3

VALIDACION DE: HIM-1, HIM-3 Y BACTEC™				
CEPAS ATCC	ATMOSFERA DE CRECIMIENTO	HIM-1	HIM-3	BACTEC™
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	aerobiosis	Incontables	Incontables	Incontables
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	aerobiosis o 5% O ₂ y 5 a 10% CO ₂	Sin crecimiento	Sin crecimiento	Incontables
<i>Haemophilus influenzae</i>	5% O ₂ y 5 a 10% CO ₂	Sin crecimiento	Sin crecimiento	Incontables
<i>Clostridium perfringens</i>	anaerobiosis Gas Pak System 5% O ₂ y 5 a 10% CO ₂	incontables	Sin crecimiento	Sin crecimiento

Comparación de la sensibilidad de minihemocultivos HIM-1 y HIM-3

En el control de calidad realizado a los minihemocultivos HIM-1 y HIM-3 con los microorganismos más frecuentes causantes de sepsis en el HIMFG, se tiene que ambos minihemocultivos soportan el crecimiento de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* y *Enterococcus spp* a concentraciones mínimas de 1×10^2 UFC/mL y no evidencia el crecimiento del *Streptococcus pneumoniae* a las concentraciones probadas. El *Staphylococcus aureus* se desarrolla en el HIM-3 en una concentración de 1×10^4 UFC/mL y en el HIM-1 de 1×10^6 UFC/mL. El *Staphylococcus epidermidis* se desarrolla en ambos minihemocultivos a una concentración de 1×10^6 UFC/mL. (Tabla XIII).

Tabla XIII: Comparación De Sensibilidad De Detección Del HIM-1 Y HIM-3

SENSIBILIDADES DE DETECCIÓN DEL HIM-1 VS HIM-3			
CEPAS	HIM-1	HIM-3	MEJOR MEDIO
<i>K. pneumoniae</i>	1×10^2 UFC / mL	1×10^2 UFC / mL	AMBOS
<i>Ps. Aeruginosa</i>	1×10^2 UFC / mL	1×10^2 UFC / mL	AMBOS
<i>Enterococcus spp</i>	1×10^2 UFC / mL	1×10^2 UFC / mL	AMBOS
<i>E. coli</i>	1×10^2 UFC / mL	1×10^2 UFC / mL	AMBOS
<i>St. pneumoniae</i>	Sin crecimiento	Sin crecimiento	NINGUNO

<i>H. influenzae</i>	Sin crecimiento	1x10 ⁸ UFC / mL	HIM-3
<i>C. perfringens</i>	1x10 ² UFC / mL	Sin crecimiento	HIM-1
<i>S. aureus</i>	1x10 ⁶ UFC / mL	1x10 ⁴ UFC / mL	HIM-3
<i>S. epidermidis</i>	1x10 ⁶ UFC / mL	1x10 ⁶ UFC / mL	AMBOS

DISCUSIÓN

La formulación de los minihemocultivos HIM-1 y HIM-3 tienen una utilidad comparable con el BACTEC™ cuando los agentes causales de sepsis son bacilos gram negativos.

Cuando los principales agentes causantes de sepsis como *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* se encuentran en mínimas concentraciones; el BACTEC™ pediátrico tiene una mayor sensibilidad de detección de 10² UFC/mL en comparación con el minihemocultivo HIM-1 que es de 10⁶ UFC/mL y en el

minihemocultivo HIM-3 para *Staphylococcus epidermidis* es de 10^6 UFC/mL y para el *Staphylococcus aureus* es de 10^4 UFC/ml.

El minihemocultivo HIM-1 presenta una ventaja sobre el BACTEC™ al ser un medio eficiente en el desarrollo de microorganismos anaerobios como el *Clostridium perfringens* en comparación con el BACTEC™ pediátrico el cual no soporta el crecimiento de microorganismos anaerobios; no obstante para este sistema, si se tiene la sospecha de un anaerobio se inocula la muestra en un hemocultivo especial BACTEC™ para anaerobios.

Análisis estadístico

La recuperación del BACTEC™ pediátrico fue del 39% y la sensibilidad del 58.33% contra una sensibilidad del 4.16% del minihemocultivo HIM-1 en el campo clínico. Ambos presentan la misma especificidad reflejado en el análisis de la dònima Ji^2 para muestras pequeñas (corrección de Yates) en la cual el resultado obtenido no evidencia diferencia al 99.5% de confianza entre ambas metodologías.

En la comparación del minihemocultivo HIM-3 con el BACTEC™ pediátrico, la recuperación del BACTEC™ fue del 29% y la sensibilidad del 41.93% contra una recuperación del 8% y una sensibilidad del 9.75% del minihemocultivo HIM-3 en el campo clínico.

Es un método que tiene una recuperación de 3.25 veces menor que la del BACTEC™ pediátrico debido a que en el minihemocultivo HIM-3 no se recuperan los microorganismos del género *Staphylococcus* en una concentración de 10^2 UFC/mL.

La formulación del HIM-3 monofásico presenta una mayor sensibilidad en la detección de microorganismos causantes de sepsis y por consiguiente mayor utilidad con respecto al minihemocultivo HIM-1 para el diagnóstico de sepsis neonatal debido a que contiene un inhibidor de la fagocitosis en las células y de antibióticos como el SPS a diferencia de la formulación del HIM-1 que no lo contiene. La adición del rojo de fenol no fue trascendente debido a la baja concentración del mismo en la formulación.

El sistema automatizado BACTEC™ 9120 maneja un monitoreo constante de fluorescencia basal, la cual aumenta a medida de que existan productos metabólicos de las bacterias en crecimiento en las botellas de hemocultivo por lo que la detección de positividad de las mismas es detectable en menor tiempo desde 7 horas, que el de los minihemocultivos manuales HIM-1 y HIM-3, los cuales se evidencian hasta la realización de una tinción de gram y siembra en pase ciego hasta las 24 horas.

Se fabricó un lote de minihemocultivo bifásico HIM-2 el cual fue descartado para la realización de su validación debido al gran porcentaje de contaminación, (38%); esta contaminación fue atribuida a que los viales son manipulados dos veces para la adición de los medios en fase sólida y líquida. Por lo que la dificultad en su producción que trasciende en la gran contaminación de dichos

minihemocultivos bifásicos, y en base a la escasa utilidad del medio sólido, se decidió no utilizarlo, por lo que se fabricó el HIM-3 con la misma formulación, sólo que monofásico.

CONCLUSIÓN

Los minihemocultivos HIM-1 y HIM-3 presentan ventajas significativas en comparación con el sistema automatizado BACTEC™ pediátrico, las cuales son:

- Cantidad de muestra: Al requerir de 200 a 300uL de sangre.
- Facilidad: En la elaboración al ser diseñados como medios monofásicos por la nula contaminación.
- Economía: Al ser fabricados en el laboratorio sin equipamiento sofisticado, solo con una campana de flujo laminar.

Se ha logrado obtener un método auxiliar para el diagnóstico de sepsis neonatal, que son los minihemocultivos HIM-1 y HIM-3 gracias a su capacidad de detección de las principales bacterias causantes de la misma y mejorando la cantidad de unidades formadoras de colonias detectables para cocos gram positivos.

Las unidades formadoras de colonias detectables para bacilos gram negativos son comparables entre los minihemocultivos HIM-1 y HIM-3 con el BACTEC™ pediátrico de 10^2 UFC/mL. Sin embargo para los cocos gram positivos como

Staphylococcus, el HIM-3 tiene una sensibilidad de 10^4 UFC/mL y el HIM-1 de 10^6 UFC/mL en comparación con el BACTEC™ de 10^2 UFC/mL.

Los minihemocultivos no son útiles para evidenciar el crecimiento de bacterias de difícil crecimiento como *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae* los que afortunadamente no son agentes importantes en la nosología de la sepsis neonatal.

Los minihemocultivos son de gran utilidad en el diagnóstico de sepsis neonatal debido a la gran ventaja de disminuir el volumen total de sangre extraída a los neonatos y de esta forma disminuir el número de transfusiones realizadas a los pacientes de neonatología.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Segura CE, Arredondo GJL. Sepsis Neonatal. En: Arredondo JL, Figueroa DR, ed. Temas actuales en infectología. México DF. Íntersistemas, 2000: 323-335.
- 2.- Rodríguez-Weber MA, López-Candiani C, Arredondo-García JL, et al. Morbidity and mortality due to neonatal sepsis in a tertiary care hospital. Salud Pública de México 2003; 45 (2): 90-5.
- 3.- Zamora-Castorena S, Murguía-de Sierra MT. Cinco años de experiencia con sepsis neonatal en un centro pediátrico. Rev Invest Clin 1998; 50: 463-470.
- 4.- Ríos-Valdez CV, Navia-Bueno MP, Díaz-Villegas M, Salazar-Fuentes J. Risk factors associated to neonatal sepsis. Rev Soc Bol Ped 2005; 44(2): 87-92.
- 5.- Miranda-Del Olmo H, Cardiel-Marmolejo LE, Reinoso E, Oslas LP, Acosta-Gómez Y. Morbilidad y mortalidad en el recién nacido prematuro del Hospital General de México. Revista Medica del Hospital General de México S.S. Ene-Mar. 2003; 66 (1): 22-8.
- 6.- Coto-Cotallo GD, Ibáñez-Fernández A. Protocolo diagnostico-terapéutico de la sepsis neonatal. En: Protocolos de Neonatología. Bol Pediatr 2006; 46 (Supl. 1): 125-134.
- 7.- Estrada-Tamayo Y. Sepsis en edad pediátrica. Código ISPN de la Publicación: EEVplkylAuRuocsRJe.
[http://xads.zedo.com/ads2/r?n=419;c=89;s=87;x=2048;u=j;z=\[timestamp\]](http://xads.zedo.com/ads2/r?n=419;c=89;s=87;x=2048;u=j;z=[timestamp])
- 8.- El Recién Nacido de Alto Riesgo
<http://www.driscollchildrens.org/health/speds/hrnewborn/sepsis.htm>
- 9.- Ruiz-Gaiardin JM, Noguero-Asensio A. Bacteriemias. An Med Interna (Madrid) 2005; 22 (3):105-7.
- 10.- Orfali José Luis. Sepsis Néonatal. Nuevas estrategias terapéuticas. Rev. Ped. Elec. [en línea] ISSN 0718-0918. 2004; 1(1): 25-31.
- 11.- Carrillo-Esper R, Carvajal-Ramos R. Sepsis. Conceptos actuales. Rev Fac Med UNAM Noviembre-Diciembre 2004; 47 (6): 238-245.
- 12.- Lucas-García N. Manejo de la sepsis grave en el neonato. En: Curso sepsis grave: capitulo 31. Revista electrónica de Medicina Intensiva UNINet. Artículo nºC31. Junio 2005; 5 (6). <http://remi.uninet.edu>

13.- Santana Reyes. Avances en el diagnóstico de la sepsis neonatal. BSCP Can Ped 2004; 28 (1): 91-95.

14.- Pérez-Rodríguez J. Errores médicos en pediatría y neonatología. An Pediatr (Barc) 2006; 64 (4): 327-9.

15.- García-Sánchez JE. García-Sánchez E. Infecciones en el Feto y Neonato. Mj. Fresnadillo 2006.

16.- López-Sastre GD, Coto-Cotallo A, Ramos-Aparicio A, Alaiz-Rojo M, Polo-Mellado C. Sepsis neonatal. En: Capítulo 36. Protocolos diagnósticos y terapéuticos en pediatría. 307-316.

17.- Perotti E, Cazales C, Martell M. Estrategias para el diagnóstico de sepsis neonatal tardía. Rev Med Uruguay 2005; 21: 314-320.

18.- Pérez-Solís D, López-Sastre JB, Coto-Cotallo GD, Dieguez-Junquera MA, Deschamps-Mosquera EM, Crespo-Hernández M. Procalcitonina para el diagnóstico de sepsis neonatal de transmisión vertical. An Pediatr (Barc) 2006; 64 (4): 341-8.

19.- Sfeir J. Infecciones bacterianas en el recién nacido. En: Capítulo 20. Edición Servicio Neonatología Hospital Clínico Universidad de Chile. Publicación Noviembre 2001; 145-8.

20.- Jorda-Vargas L, Vila A, Lanza A, Bonvehi P, Nazar J, Mikietuk A, et al. Utilidad del sistema VITEK en la identificación bacteriana y estudios de sensibilidad antimicrobiana. Acta Bioquím. Clin Latinoam 2005; 39 (1): 19-25.

21.- Lizarralde-Palacios E, Gutiérrez-Macias A, Martínez-Odriozola J, Ibarria-Lahuerta J, De la Villa FM. Pronóstico de las bacteriemias adquiridas en la comunidad ingresadas en un servicio de medicina interna. An Med Interna (Madrid) 2005; 22 (3): 108-113.

22. - Jeffrey S. Gerdes, MD. Infecciones bacterianas neonatales University of Pennsylvania School of Medicine, Philadelphia, USA. Pediatric Clinics of North America (August 2004); 51 (Issue 4): 939– 959.

23.- Barranco-Ruiz F, Blasco-Morilla J, Mérida-Morales A, Muñoz-Sánchez M, Jareño-Chamuel A, Cozar-Carrasco J, et al. Sepsis en el recién nacido. En: Capítulo 12. 5. Cuidados intensivos neonatales.
<http://tratado.uninet.edu/c120503.html>

24.- Corrales-Mayorga CB, García-Blanco I, López-Rosales C. Guía de práctica clínica para el manejo de la sepsis neonatal temprana. Unidad técnica de

evaluación médica. Instituto Nicaragüense de Seguridad Social. Mayorga, Nicaragua. Enero 2006.

25.- Cobo-Reinoso J, Pujol-Rojo M. et al. Guía para el diagnóstico y tratamiento del paciente con bacteriemia. Guías clínicas SEIMC 2006.

26.- Instituto Nacional de Salud. Ministerio de Salud. Manual de Procedimientos Bacteriológicos en Infecciones Intrahospitalarias. Serie de Normas Técnicas N°28, Lima 2005.

27.- Murillo-Mayoral G. Sepsis, pronóstico de gravedad y comorbilidad. Rev Fac Med UNAM Septiembre-Octubre. 2003; 46 (5):193-6.

28.- Recomendaciones de la Sociedad Española en Enfermedades Infecciosas y Microbiología clínica Romero-Vivas J, Bouza-Santiago E, Boza-Fernández E, Planes-Reig A. Hemocultivos. En: Capítulo 3. Procedimientos en Microbiología Clínica; 1993.

29. - St. Geme JW jr, Murria DL, Carter J, Hobel J, Leake M, Anthony B, et al. Perinatal infection after prolonged rupture of membranes: an analysis of risk and management. J Pediatr 1984; 104: 608-613.

30.- Rey-Vásquez CM. Guía para la toma de hemocultivos. Actualización. Actual. Enferm. 2004; 7(3): 37-9.

31.- Arias S, Frutos F, Parra ML, Ramos B, Cerda E, Sánchez-Concheiro M, et al. Utilización y rendimiento de los hemocultivos en una unidad de cuidados intensivos médicoquirúrgica. Med Intensiva 2003; 27 (10): 647-652.

32.- Ruiz-Giardin J.M, Del Rey R, Serrano-López, Isasia-Muñoz T. Rentabilidad de hemocultivos para anaerobios en urgencias. Emergencias 2006; 18: 82-96.

33.- Patricia García C* y Carlos Pérez C*. Profesionales de la Sección de Bacteriología General. Hemocultivos. *Pontificia Universidad Católica de Chile.

34.- Weinstein MP, Joho KL, Quartey SM. Assessment of the third blood culture bottle: Does it increase detection of bacteraemia. General Meeting of the American Society for Microbiology. Las Vegas. Mayo 1994; 23-8.

35.- López-Candiani C, Eguigurems-Zamora I, Valencia-Salazar G, Chang-Yui A, Rodríguez-Weger MA. Associated factors for blood transfusion in critically ill neonates. Revista Mexicana de Pediatría. Ene-Feb 2003; 70 (1): 10-3.

36.- Andrew F, William L, Kathleen M, Marin H. Transfusion Practice and Blood Stream Infections in Critically Ill Patients. Clinical investigations in critical care. CHEST 2005; 127: 1722-8.

37.- Bolaños-Muñoz M, Barrantes-Valverde E. Detección de hemocultivos positivos por el método tradicional y el sistema automatizado BACTEC 9050. Rev. Costarric. Cienc. Med San José jun. 1998; 19 (1-2).

38.- Panfleto de Frascos de Cultivo BACTEC Peds Plus™/F. Beckton Dickinson. Patente EE.UU. N° 4,63,902. 2004/06.

39.- Mtitimila EI, Cooke RWI. Regímenes de antibiótico para la presunta septicemia neonatal temprana (Revisión Cochrane traducida). En: *La Biblioteca Cochrane Plus*, 2006 Número 2. Oxford: Update Software Ltd. Disponible en: <http://www.update-software.com>. (Traducida de *The Cochrane Library*, 2006 Issue 2. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.).

40.- Shimabuku R, Velásquez P, Yabar J, Zerpa R, Arribasplata G, Fernández S, et al. Etiología y susceptibilidad antimicrobiana de las infecciones neonatales. Anales de la Facultad de Medicina. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. ISSN1025-5583. 2004; 65 (1): 19-24.

41.- Roy N, Barnett. Clinical Laboratory Statistics. 2nd. ed. Norwalk, Connecticut: Brown and Company; 1979: 26-31.

42.- Velásquez-Jones L. Redacción de escrito medico. 4ta. ed. Editorial Prado. 2005: 97-116.

ANEXO I: Cuadro I: Seguimiento De Hemocultivos HIM-1 Y BACTEC™

Nº	REGISTRO	SITIO DE TOMA	DIA / HORA DE TOMA	DIA / HORA POSITIVO	GRAM	MICROORGANISMO	Nº BACTEC	DIA / HORA TOMA	DIA / HORA POSITIVO	GRAM	MICROORGANISMO
1		CENTAL	20-feb-06 17:00	21/02/2006 10:00	bg-	E. coli	778	20/02/2006 10:00	21-feb-06	bg-	E. coli
											23/02/2006
2	777543	PERIF	20-feb-06 23:59	neg 7 días	N	N	788	20/02/2006 23:59	21-feb-06	cg+	Staph. epidermidis + 27/02/2006
3	777635	PERIF	23-feb-06 14:30	neg 7 días	N	N	827	23/02/2006 14:30	neg 7 días	N	N
4	777336	PERIF	25-feb-06 7:00	neg 7 días	N	N	873	25/02/2006 7:00	neg 7 días	N	N
5	777644		27-feb-06 19:50	neg 7 días	N	N	926	27/02/2006 19:50	neg 7 días	N	N
6	777582	PERIF	4-mar-06 0:38	neg 7 días	N	N	95	04/03/2006 0:38	neg 7 días	N	N
7	777722	PERIF	4-mar-06 13:50	neg 7 días	N	N	104	04/03/2006 13:50	neg 7 días	N	N
8	777543	PERIF	5-mar-06 1:15	neg 7 días	N	N	115	05/03/2006 1:15	neg 7 días	N	N
9	777582	PERIF	7-mar-06 24:00 /8	neg 7 días	N	N	160	07/03/2006 24:00:00	neg 7 días	N	N
10	777710	PERIF	10-mar-06	neg 7 días	N	N	244	10/03/2006	neg 7 días	N	N
11	777747	PERIF	10-mar-06	neg 7 días	N	N	237	10/03/2006	neg 7 días	N	N
12	777543	PERIF	13-mar-06 17:00	neg 7 días	N	N	294	13/03/2006 17:00	15-mar-06	cg+	Staph. epidermidis + 17/03/2006
13	777543	PERIF	16-mar-06 20:30	neg 7 días	N	N	388	16/03/2006 20:30	20-mar-06	cg+	Staph. epidermidis 24/03/2006
14	777786	PERIF	16-mar-06 23:00	neg 7 días	N	N	391	16/03/2006 23:00	neg 7 días	N	N
15	777784	PERIF	18-mar-06 20:00	neg 7 días	N	N	433	18/03/2006 20:00	neg 7 días	N	N
16	777748	PERIF	20-mar-06 14:00	neg 7 días	N	N	472	20/03/2006 14:00	neg 7 días	N	N
17	777747	CENTRAL	20-mar-06 1:00	neg 7 días	N	N	490	20/03/2006 1:00	neg 7 días	N	N
18	777747	PERIF	21-mar-06 5:30	neg 7 días	N	N	493	21/03/2006 5:30	22-mar-06	cg+	S. epidermidis 27/03/06
19	777537	PERIF	21-mar-06 5:40	neg 7 días	N	N	494	21/03/2006 5:40	neg 7 días	N	N
20	777784	PERIF	22-mar-06 4:30	neg 7 días	N	N	523	22/03/2006 4:30	neg 7 días	N	N
21	777789	CENTRAL	22-mar-06 19:00	neg 7 días	N	N	554	22/03/2006 19:00	neg 7 días	N	N
22	777336	CENTRAL	22-mar-06 19:00	neg 7 días	N	N	556	22/03/2006 19:00	23-mar-06	cg+	S. epidermidis 28/03/2006
23	777821	PERIF	26-mar-06 17:00	neg 7 días	N	N	652	26/03/2006 17:00	neg 7 días	N	N
24	777890	ARTE	27-mar-06 0:30	neg 7 días	N	N	660	27/03/2006 0:30	neg 7 días	N	N

Continuación del Cuadro I. Seguimiento de Hemocultivos HIM-1 Y BACTEC™

Nº	REGISTRO	SITIO DE TOMA	DIA / HORA DE TOMA	DIA / HORA POSITIVO	GRAM	MICROORGANISMO	Nº BACTEC	DIA / HORA TOMA	DIA / HORA POSITIVO	GRAM	MICROORGANISMO
25	777890	PERIF	27-mar-06 0:30	neg 7 días	N	N	661	27/03/2006 0:30	neg 7 días	N	N
26	777821	CAT VE CE	27-mar-06 1:00	neg 7 días	N	N	663	27/03/2006 1:00	neg 7 días	N	N
27	777821	ARTE	27-mar-06 1:00	neg 7 días	N	N	664	27/03/2006 1:00	neg 7 días	N	N
28	777336	CENTRAL	27-mar-06 11:26	neg 7 días	N	N	666	27/03/2006 11:26	28-mar-06	cg+	Staph. epidermidis 31/03/2006
29	777543	PERIF	28-mar-06 5:30	neg 7 días	N	N	701	28/03/2006 5:30	neg 7 días	N	N
30	777620	LINEA ART	28-mar-06 22:00	neg 7 días	N	N	708	28/03/2006 22:00	30-mar-06	cg+	S. haemolyticus 31/03/2006
31	777620	PERIF	28-mar-06 22:00	neg 7 días	N	N	709	28/03/2006 22:00	30-mar-06	cg+	S. haemolyticus 31/03/2006
32	777709	PERIF	29-mar-06 4:20	neg 7 días	N	N	715	29/03/2006 4:20	neg 7 días	N	N
33	777543	CENTRAL	28-mar-06 17:30	neg 7 días	N	N	702	28/03/2006 17:30	29-mar-06	bg.	No esporulados pb. Cont 30/03/06
34	777543	CENTRAL	30-mar-06 12:25	neg 7 días	N	N	764	30/03/2006 12:25	31-mar-06	cg+	Staph. epidermidis 04/04/2006
35	777336	CENTRAL	30-mar-06 12:00	neg 7 días	N	N	765	30/03/2006 12:00	neg 7 días	N	N
36	777336	PERIF	30-mar-06 11:50	neg 7 días	N	N	766	30/03/2006 11:50	neg 7 días	N	N
37	777786	CENTRAL	30-mar-06 21:00	neg 7 días	N	N	769	30/03/2006 21:00	neg 7 días	N	N
38	777786	PERIF	30-mar-06 21:00	neg 7 días	N	N	771	30/03/2006 21:00	neg 7 días	N	N
39	777620	CENTRAL	31-mar-06 14:20	neg 7 días	N	N	787	31/03/2006 14:20	31-mar-06	cg+	S. haemolyticus 04/04/2006
40	777789	PERIF	3-abr-06 12:20	neg 7 días	N	N	859	03/04/2006 12:20	4-abr-06 8h	cg+	Staph. epidermidis 06/04/2006
41	777728	PERIF	3-abr-06 14:00	neg 7 días	N	N	867	03/04/2006 14:00	neg 7 días	N	N
42	777789	CENTRAL	3-abr-06 18:00	neg 7 días	N	N	868	03/04/2006 18:00	4-abr-06 8h	cg+	Staph. epidermidis 06/04/2006
43	777789	PERIF	5-abr-06 9:20	neg 7 días	N	N	899	05/04/2006 9:20	06/04/2006	cg+	Staph. epidermidis 10/04/2006
44	777859	CENTRAL	5-abr-06 8:45	neg 7 días	N	N	901	05/04/2006 8:45	neg 7 días	N	N
45	777789	CENTRAL	5-abr-06 18:20	neg 7 días	N	N	912	05/04/2006 18:20	06/04/2006	cg+	Staph. epidermidis 10/04/2006
46	777336	PERIF	5-abr-06 17:40	neg 7 días	N	N	913	05/04/2006 17:40	neg 7 días	N	N
47	777537	PERIF	5-abr-06 21:10	neg 7 días	N	N	924	05/04/2006 21:10	neg 7 días	N	N
48	777882	PERIF	9-abr-06 10:30	neg 7 días	N	N	999	09/04/2006 10:30	neg 7 días	N	N

ANEXO II: Cuadro II: De Seguimiento De Hemocultivos HIM-3 Y BACTEC™

Nº	REGISTRO	SITIO DE TOMA	DIA / HORA DE TOMA	DIA / HORA POSITIVO	GRAM	MICROORGANISMO	Nº BACTEC	DIA / HORA TOMA	DIA / HORA POSITIVO	GRAM	MICROORGANISMO
1	778189	PERIF	07-sep-06 4:20	neg 7 dias	N	N	493	07/09/2006 4:20	N	N	N
2	778112	PERIF	7-sep-06 4:45	08/09/2006	bg-	Enterobacter cloacae	495	07/09/2006 4:45	7-sep-06	bg-	Enterobacter cloacae
						11/09/2006					11/09/2006
3	778442	CENTRAL	7-sep-06 12:30	neg 7 dias	N	N	502	07/09/2006 12:30	N	N	N
4	778189	PERIF	9-sep-06 23:15	neg 7 dias	N	N	550	09/09/2006 23:15	N	N	N
5	778251	CENTRAL	10-sep-06 18:00	neg 7 dias	N	N		10/09/2006 18:00	N	N	N
6	778336	PERIF	18-sep-06 18:30	neg 7 dias	N	N	775	18/09/2006 18:30	19-sep-06	cg+	Staph eidermidis
											22/09/2006
7	778189	PERIF	18-sep-06 12:00	19/09/2006	bg-	K. pneumoniae	763	18/09/2006 12:00	19-sep-06	bg-	K. pneumoniae
						19/09/2006					19/09/2006
8	778572	PERIF	3-oct-06 17:20	04/10/2006	bg-	Enterobacter cloacae	166	03/10/2006 17:20	4-oct-06	bg-	Enterobacter cloacae
						06/10/2006					06/10/2006
9	778532	PERIF	3-oct-06 22:40	neg 7 dias	N	N	171	03/10/2006 22:40	N	N	N
10	778123	CENTRAL	4-oct-06 1:00	neg 7 dias	N	N	172	04/10/2006 1:00	5-oct-06	cg+	Staph eidermidis
											09/10/2006
11	778428	CENTRAL	4-oct-06 3:20	neg 7 dias	N	N	174	04/10/2006 3:20	N	N	N
12	778428	PERIF	4-oct-06 3:15	neg 7 dias	N	N	175	04/10/2006 3:15	N	N	N
13	778443	PERIF	5-oct-06 10:30	neg 7 dias	N	N	198	05/10/2006 10:30	N	N	N
14	773498	PERIF	4-oct-06 13:00	neg 7 dias	N	N	186	04/10/2006 13:00	N	N	N
15	778251	PERIF	5-oct-06 11:00	neg 7 dias	N	N	202	05/10/2006 11:00	N	N	N
16	778252	PERIF	05-oct-06 12:30	neg 7 dias	N	N	218	05/10/2006 12:30	N	N	N
17	778527	CENTRAL	6-oct-06 19:30	neg 7 dias	N	N	239	06/10/2006 19:30	N	N	N
18	778317	PERIF	9-oct-06	11/10/2006	cg+		279	09/10/2006	12-oct-06	cg+	Streptococcus spp
19	778428	PERIF	9-oct-06	neg 7 dias	N	N	282	09/10/2006	N	N	N
20	778123	PERIF	9-oct-06 9:09	neg 7 dias	N	N	289	09/10/2006 9:09	10-oct-06	cg+	Staph eidermidis
											12/10/2006
21	778251	PERIF	9-oct-06 11:30	neg 7 dias	N	N	290	09/10/2006 11:30	N	N	N
22	778112	PERIF	10-oct-06 10:00	neg 7 dias	N	N	312	10/10/2006 10:00	11-oct-06	cg+	Staph eidermidis
											13/10/2006
23	887428		11-oct-06 19:00	neg 7 dias	N	N	355	11/10/2006 19:00	N	N	N

Continuación del Cuadro II Seguimiento De Hemocultivos HIM-3 Y BACTEC™

Nº	REGISTRO	SITIO DE TOMA	DIA / HORA DE TOMA	DIA / HORA POSITIVO	GRAM	MICROORGANISMO	Nº BACTEC	DIA / HORA TOMA	DIA / HORA POSITIVO	GRAM	MICROORGANISMO
47	778393	PERIF	23-oct-06 14:00	neg 7 dias	N	N	631	23/10/2006 14:00	24-oct-06	cg+	Staph eidermidis 25/10/2006
48	778123	PERIF	23-oct-06 18:15	neg 7 dias	N	N	636	23/10/2006 18:15	N		N
49	778943	PERIF	23-oct-06 18:44	neg 7 dias	N	N	637	23/10/2006 18:44	N		N
50	778943	CENTRAL	23-oct-06 20:15	neg 7 dias	N	N	640	23/10/2006 20:15	N		N

A N E X O III

SECCIÒN I

Material:

- Frasco vial de 2 mL.
- Tapón de goma del N°. 2
- Gárgola del N°. 2
- Jeringa de 1, 3 y 20 mL.
- Matraz elermeyer de 500 mL.
- Tubo de ensaye de 16 x 150 mm.
- Asa de siembra bacteriológica.
- Porta objetos.
- Cajas de petri
- Micropipetas de 1 a 10uL y 10 a 200uL
- Botellas de hemocultivo BACTEC™ pediátrico
- Generador de anaerobiosis: GENbag anaer. Biomerieux.

Equipo:

- Engargoladora de 13mm
- Autoclave.
- Incubadora de CO₂.
- VITEK Colorimeter Biomeireux®
- Incubadora a 37°C.
- BACTEC™ 9120 Becton Dickinson
- VITEK BIOMERIEUX®
- Balanza analítica.
- Gradilla.
- Mechero Bunsen.
- Campana de flujo laminar

SECCION ii

Reactivos Comerciales:

- CALDO INFUSION CEREBRO CORAZÓN:

Marca: BD BIOXON Infusión Cerebro Corazón
Lote: 30H11221
Caducidad: 2006-08-01
Registro N°: 0108R82 SSA 500g

- ROJO DE FENOL:

Marca: BBL™ Phenol Red Broth Base
Lote: 5237727
Caducidad: 2009-07-31
Referencia: 211506 500g

- POLIANETOL SULFONATO DE SODIO.

Marca: SIGMA® SPS
Lote: 035k0152 CAS 22963-78-5
Referencia: P2008-1G

- POLIENRIQUECIMIENTO:

Marca: Erlic^{MR} Enriquecimiento GC. Suplemento para medios de cultivo.
Lote: GC031204050
Caducidad: 2007-12-15

- TIOGLICOLATO DE SODIO:

Lote: 3006K6TGS
Caducidad: 13-NOV-89
Catalogo: 164.2

- AGAR INFUSIÓN CEREBRO CORAZON:

Marca: BD BIOXON Infusión Cerebro Corazón

Lote: 11F14732

Caducidad: 2008-06-09

Registro N°. 0125R83 SSA

- CITRATO DE SODIO:

Marca: J.T BAKER

Lote: M-22118

Referencia: 3646

SECCION iii

Reactivos Preparados En El Laboratorio:

- Agua destilada.
- Solución salina fisiológica
- Gelosa sangre.
- Gelosa chocolate.
- Agar McConkey.
- Plasma sanguíneo humano.
- Pruebas bioquímicas en tubo de: Citrato de Simmons, Medio de Ureasa, Kligler, MIO, LIA, Bilis esculina, Leche tornasol, Cloruro de sodio al 6.5%.
- Caldo manitol.
- Colorantes de Gram.
- Reactivo de Ehrlich.

SECCION iv

Cepas ATCC:

- *Staphylococcus aureus* ATCC 43300
- *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619
- *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883
- *Escherichia coli* ATCC 25422
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
- *Clostridium perfringens* ATCC 13124
- *Haemophilus influenzae* ATCC 10211
- *Enterococcus faecalis* ATCC 29212
- *Staphylococcus epidermidis* silvestre.

ANEXO IV

Hoja de consentimiento informado

*Carta De Consentimiento Informado Para Participar En El Estudio De
Investigación
Utilización De Secuencias Geonómicas Panespecíficas Bacterianas Para
Discriminar Infección Bacteriana De Viral*

Investigador.- Dr. Guillermo del Rey Pineda. Investigador en Ciencias Médicas, adscrito al Laboratorio de Virología del HIM "FG"

Objetivo y Antecedentes

Es un estudio en el que se pretende comparar los métodos de diagnóstico usuales de detección de infección contra uno de Biología Molecular, que ha demostrado en la literatura que tiene mayor capacidad de detectar a los agentes causantes de la infección, por lo que la infección puede ser detectada en una fase más temprana y/o más rápidamente que los procedimientos usuales.

Procedimientos

Si consiento en participar sucederá lo siguiente:

- 1.- Responderé a preguntas sobre la historia clínica del paciente, que durará si procede aproximadamente 15 minutos.
- 2.- Se extraerán 0.5 mL (medio mililitro) extra de sangre o de otro líquido biológico para el ensayo.
- 3.- Se realizarán los ensayos usuales de detección de infección, según los haya solicitado el médico tratante.
- 4.- Se le informará del resultado del ensayo de Biología Molecular, el cual no tendrá ningún costo extra para Ud.

Beneficios

Es posible que el método de Biología Molecular ayude a tomar medidas más tempranas para tratar el diagnóstico, así como también es posible que no produzca un beneficio en ese momento y que el resultado junto con el de otros pacientes sirva para evaluar su utilidad.

Riesgos

En términos generales el tomar medio mililitro de sangre o líquido biológico no conlleva ningún riesgo para el paciente, sin embargo si el médico tratante indica por cualquier motivo que no es conveniente el hacerlo, automáticamente no se tomará la muestra.

El paciente será monitoreado en el área de UCIN, por si apareciera algún efecto colateral.

Alternativas

Puede no participar en el estudio y al paciente se le tomarán los estudios que indique el médico tratante, sin embargo si decide participar puede ser que el resultado ayude al tratamiento del paciente.

Confidencialidad

Los resultados de todas las pruebas del estudio se discutirán con Ud. o el médico tratante. Con excepción de esta revelación toda la información obtenida en este estudio será considerada confidencial y será usada sólo a efectos de investigación. La identidad del paciente será mantenida confidencial en la medida en que la ley lo permita.

_____, colaborador en el proyecto de investigación, ha discutido esta información conmigo, y se ha ofrecido a responder a mis preguntas. Si tengo más preguntas, puedo ponerme en contacto con él en el teléfono 5228-9917 ext 1211 o con la Dra. Dina Villanueva coautora del proyecto en el mismo teléfono.

Derecho a rehusar o Abandonar

La participación del paciente en el estudio es enteramente voluntaria y Ud. como su padre y/o madre es libre de rehusar a tomar parte o abandonar en cualquier momento el estudio, sin afectar ni poner en peligro la atención médica futura.

Consentimiento

Consiento en participar en este estudio. He recibido una copia de este impreso y he tenido la oportunidad de leerlo.

Nombre del Padre o Madre _____

Firma _____

Firma del Colaborador del proyecto o clínico _____