



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIO DE POSGRADO
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

RELACIÓN ENTRE HALLAZGOS CLÍNICOS EN
SEPSIS NEONATAL Y DETECCIÓN DE
BACTERIEMIA POR 2 SISTEMAS DE
HEMOCULTIVO

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE
SUBESPECIALISTA EN:

NEONATOLOGÍA

PRESENTA:

Dra. Michelle Jazmín Segundo Zavala.

DIRECTOR DE TESIS:

Dra. Dina Villanueva García.

ASESORES DE TESIS:

M. en C. Rubén De la Cruz González.

Dr. y M. en C. Rodolfo Rivas Ruiz.



HOSPITAL INFANTIL de MÉXICO
FEDERICO GÓMEZ
Instituto Nacional de Salud

MÉXICO, D. F

Febrero 2013





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

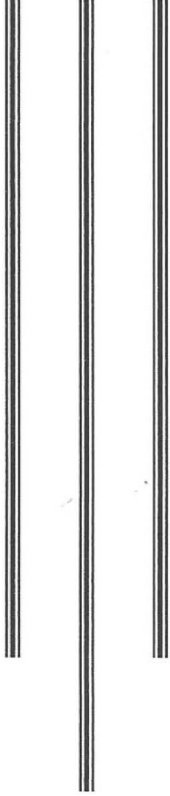
DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIO DE POSGRADO
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ



TESIS

RELACIÓN ENTRE HALLAZGOS CLÍNICOS EN
SEPSIS NEONATAL Y DETECCIÓN DE
BACTERIEMIA POR 2 SISTEMAS DE
HEMOCULTIVO

DIRECTOR DE TESIS:

Dra. Dina Villanueva García.
Jefe de Servicio del Departamento de Neonatología.

ASESORES DE TESIS:

M. en C. Rubén De la Cruz González.
Coordinador de Microbiología.
Departamento de Epidemiología Hospitalaria.

Dr. y M. en C. Rodolfo Rivas Ruiz.
M. en C. del Departamento de Epidemiología Clínica.



HOSPITAL INFANTIL de MÉXICO
FEDERICO GÓMEZ
Instituto Nacional de Salud

MÉXICO, D. F

Julio 2012

ÍNDICE

CONTENIDO	PÁGINA
I. Introducción	2
II. Marco Teórico	14
III. Pregunta de Investigación	15
IV. Hipótesis	15
V. Planteamiento del Problema	15
VI. Justificación	16
VII. Objetivos	16
VIII. Material y Métodos	16
IX. Criterios de Selección	17
X. Definición de Variables	18
XI. Resultados	20
XII. Discusión	29
XIII. Conclusiones	31
XIV. Referencias Bibliográficas	33

I. INTRODUCCIÓN:

La sepsis neonatal es un problema mundial de salud pública que afecta a los recién nacidos. Ocurre en 8 de cada 1,000 nacimientos; sin embargo, el riesgo de morbilidad y mortalidad neonatal ocurre en el 50% de los casos. Así la mortalidad hospitalaria global corresponde a 9-12.4% de los casos reportados.⁽¹⁾

La sepsis se define como un síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS) en presencia, o como resultado de infección sospechada o confirmada. El espectro clínico de la sepsis comienza cuando una infección sistémica (bacteriemia, viremia, fungemia) o una infección localizada (meningitis, neumonía, pielonefritis, entre otros) producen alteración sistémica y pueden progresar a sepsis grave, choque séptico y muerte.⁽²⁾ Este síndrome clínico caracterizado por signos y síntomas de infección sistémica, que se confirma al aislarse en hemocultivo, la presencia de bacterias, hongos o virus y que se manifiesta dentro de los primeros 28 días de vida; aunque actualmente se tiende a incluir las sepsis diagnosticadas después de esta edad, en recién nacidos de muy bajo peso (RNMBP < 1.500 g). Siendo la inmadurez de las defensas del huésped neonatal, el principal factor riesgo que predispone al desarrollo de sepsis.⁽³⁾ Así mismo, se ha reportado que alrededor del 85% de los neonatos sépticos presentan los síntomas en las primeras 24 horas de vida, un 5% entre las 24-48 horas y el resto los presenta después de las 48 horas⁽⁴⁾.

En 1992 una conferencia de expertos planteó un nuevo conjunto de definiciones para sepsis y cuadros similares (infección, bacteriemia, hipotensión, sepsis, choque séptico y disfunción multiorgánica), acuñándose también el término de Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica (SIRS). El cual se define como la respuesta clínica frente a insultos no específicos.⁽⁵⁾

Los ejemplos más representativos incluyen situaciones clínicas no infecciosas como pancreatitis aguda, politraumatismos, quemaduras, postoperatorio de cirugía mayor, entre otros.

Por lo anterior se considera SIRS: cuando existe presencia de al menos 2 de los siguientes 4 criterios, uno de los cuales debe ser alteración de la temperatura o recuento leucocitario:⁽¹⁾

1. Temperatura corporal central > 38.5°C o < 36°C (rectal, vesical, oral).
2. Taquicardia, definida como una elevación >2 DE (desviaciones estándar) de la media para su edad en ausencia de estímulos externos, medicación o estímulo doloroso; o elevación persistente inexplicable durante 0.5-4 horas; o bradicardia < percentil 10 para la edad en ausencia de estímulo vagal, medicación con betabloqueadores, cardiopatía congénita o disminución de la frecuencia inexplicable durante más de 0.5 horas.

3. Taquipnea: frecuencia respiratoria >2 DE sobre la media para la edad; o ventilación mecánica para un proceso agudo no relacionado con enfermedad neuromuscular o anestesia general.

4. Recuento leucocitario elevado o disminuido para la edad (no secundario a quimioterapia) ó >10% de neutrófilos inmaduros.

En tanto que, bacteriemia se define como la presencia de bacterias viables en sangre. Puede ser transitoria y asintomática. Las bacterias viables en sangre solo se encuentran en el 50% de los casos de sepsis graves y choque séptico.⁽¹⁾

El Consenso definió sepsis severa como al cuadro séptico al que se le agrega una disfunción orgánica, hipoperfusión y/o hipotensión arterial. En tanto, choque séptico consiste en sepsis severa con presencia de hipotensión arterial que no responde a expansión adecuada con volumen. A la secuela del cuadro de SIRS-sepsis se denominó Síndrome de Disfunción Orgánica Múltiple (MODS).

Por otro lado, es importante considerar que la sepsis neonatal se diagnostica en las primeras 24 horas, en el 85% de los casos y sólo el 5% se diagnostica entre las primeras 48 horas.⁽⁵⁾ Y puede clasificarse de la siguiente manera:

1. Sepsis temprana: se presenta en las primeras 48-72 horas. La infección generalmente ocurre “*in útero*”. La enfermedad ocurre al nacimiento y la evolución suele ser fatal. Predomina el compromiso pulmonar.

2. Sepsis tardía: se presenta después de las 48-72 horas hasta los 28 días de vida. La infección generalmente ocurre cuando el recién nacido pasa por el canal del parto o bien, ocurre en el ambiente postnatal, siendo la evolución más lenta. Predomina el compromiso del sistema nervioso central.

También se ha considerado que cuando los tests de diagnóstico rápido son positivos se considera *sepsis probable* y se inicia antibioticoterapia empírica. Si son negativos se considera *sepsis no probable* y no se realiza tratamiento. No obstante, si persiste clínica compatible, se repite la analítica a las 12-24 horas y se actúa en función de los resultados. Una vez conocida la microbiología, si es positiva se diagnostica *sepsis probada* y si es negativa, sepsis clínica.⁽⁶⁾

3. Sepsis nosocomial: es producida por microorganismos del entorno hospitalario, sobre todo en las Unidades de Cuidados Intensivos Neonatales. La colonización al neonato ocurre por contacto con el personal médico, con familiares o a partir de material contaminado utilizado en procedimientos invasivos de diagnóstico y de tratamiento. La sintomatología aparece 48-72 horas después de la hospitalización, sin existir infección previa o en periodo de incubación. La tasa de mortalidad oscila entre 10 y 15%.⁽¹⁰⁾

Para el diagnóstico de sepsis nosocomial relacionada con catéter, se requiere el aislamiento del mismo microorganismo (mismo tipo y antibiograma) en hemocultivo y punta de catéter (método de Maki) con ausencia de otro foco

evidente responsable de bacteriemia.

De acuerdo al mecanismo de transmisión se diferencian 2 tipos de infección: sepsis de transmisión vertical y sepsis de transmisión nosocomial. La sepsis de transmisión vertical es causada por microorganismos localizados en el canal del parto, produciéndose infección por vía ascendente al final de la gestación; o por contacto en el momento del nacimiento. La clínica suele iniciarse en las primeras 72 horas de vida, con frecuencia en forma de enfermedad aguda y habitualmente es posible constatar la existencia de complicaciones obstétricas que se consideran factores de riesgo para infección bacteriana fetal. Los microorganismos más frecuentes son: *Streptococcus beta-hemolítico del grupo B (EGB)* y *Escherichia coli (E. coli)*. La tasa de mortalidad oscila entre el 10-30%.⁽³⁾

La sepsis de transmisión nosocomial es producida por microorganismos procedentes del entorno hospitalario, sobre todo en las unidades de cuidados intensivos neonatales (UCIN), que colonizan al neonato por contacto del personal sanitario (manos contaminadas) o a partir de material contaminado. La clínica se inicia después de las 72 horas de vida, aunque puede comenzar antes, y siempre se constata algún factor riesgo relacionado con el empleo de procedimientos invasivos de diagnóstico y tratamiento. El espectro de los patógenos responsables de sepsis nosocomial es distinto al de la sepsis vertical, predominando entre los gram-positivos el *Staphilococcus epidermidis (S. epidermidis)* y entre los gram-negativos *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* y otras enterobacterias. Actualmente ha incrementado la incidencia de *Candida spp* en relación a la mayor supervivencia de los RNMBP (Recién Nacidos de Muy Bajo Peso). Así, se ha reportado una tasa de mortalidad es del 10-15%, siendo mayor en las sepsis por *gram-negativos* y *Candida spp*.⁽³⁾

Factores de riesgo:

Existen diversos factores de riesgo que predisponen al desarrollo de sepsis neonatal, entre ellos destacan:⁽³⁾

1. Rotura prematura de membranas (RPM) >18 horas.
2. Corioamnionitis materna e infección cervicovaginal o urinaria.
3. Vía de nacimiento y nacimiento múltiple.
4. Género.
4. Malformaciones.
5. Síndrome de dificultad respiratoria (SDR).
6. Aspiración de meconio.
7. Asfixia.

8. Dermatitis generalizadas.

9. Prematuridad.

a. Con RPM, la edad gestacional <37 semanas, aumenta 10 veces el riesgo de sepsis.

b. En este grupo, es importante considerar algunos factores extrínsecos como los procedimientos invasivos.

10. Peso bajo al nacimiento.

11. Inmadurez del sistema inmune en el recién nacido.

a. Paso transplacentario reducido de IgG materna (recién nacido pretérmino).

b. Inmadurez relativa de los mecanismos inmunes (fagocitosis, actividad del complemento, función de células T).

12. Exposición a microorganismos del tracto genital materno.

a. Infección amniótica por vía ascendente.

b. Contacto con microorganismos durante el parto.

c. Parto prematuro desencadenado por infección.

13. Factores periparto.

a. Traumatismos de piel y vasos durante el parto.

b. Escalpe del cuero cabelludo por electrodos u otros procedimientos.

14. Procedimientos invasivos en la UCIN.

a. Intubación endotraqueal prolongada.

b. Colocación de catéteres intravasculares.

c. Administración de nutrición parenteral.

d. Drenajes pleurales.

e. Corto-circuitos de líquido cefalorraquídeo.

15. Incremento de la exposición postnatal: presencia de otros recién nacidos colonizados.

16. Maniobras pediátricas invasivas y cirugías.

Específicamente, en cuanto al riesgo de desarrollar sepsis; ésta se debe en parte a la mayor vulnerabilidad de las barreras naturales y al compromiso del sistema inmune:

- La transferencia placentaria materna de IgG al feto, comienza a las 32 semanas de gestación.

- La IgA secretora está muy disminuida tanto a nivel pulmonar, como en el sistema gastrointestinal. Además las barreras físicas naturales son inmaduras, especialmente piel, cordón umbilical, pulmón e intestino. Hay una disminución de la actividad de la vía alterna del complemento (C3). Y Existe una deficiencia en la opsonización de los gérmenes con cápsula polisacárida. ⁽³⁾

- Existe un rápido agotamiento de los depósitos de neutrófilos maduros

medulares cuando hay exposición a infección. Estos neutrófilos tienen menor capacidad de adherencia y fagocitosis, así como menor capacidad bactericida.

- La inmunidad mediada por linfocito T helper y linfocito natural killer está alterada y la memoria inmunológica es deficiente.
- A mayor prematuridad hay más inmadurez inmunológica y mayor frecuencia de infecciones.

Inflamación:

La inflamación es una respuesta rápida, humoral y celular amplificada, ante diversos insultos. Las citocinas son los mensajeros fisiológicos de la respuesta inflamatoria. Dentro de las cuales, se encuentran: el factor activador de plaquetas (PAF), radicales libres de oxígeno, óxido nítrico (NO) y proteasas. Muchos de estos mediadores secundarios son producidos también por los leucocitos.

Las células endoteliales activadas y el incremento de citocinas en el medio activan la cascada de la coagulación provocando fenómenos trombóticos locales.

Para evitar que esos mediadores desarrollen efectos nocivos por sobrestimulación, el organismo rápidamente desarrolla una respuesta anti-inflamatoria. En esta reacción compensatoria intervienen las interleucinas 4 (IL-4), 10 (IL-10) y 11 (IL-11), receptores solubles y antagonistas de receptores.

En el proceso séptico se induce la liberación de metabolitos del ácido araquidónico (prostaglandinas y leucotrienos). Su efecto se ejerce fundamentalmente sobre las células que rodean a la célula emisora (efecto paracrino). Las principales citocinas pro-inflamatorias son el factor de necrosis tumoral (TNF- α), las interleucinas (IL-1 β , IL-6 e IL-8) y los interferones. La infección es el mayor estímulo para la liberación de citocinas por la acción de moléculas bacterianas, como la endotoxina (LPS), que son reconocidas por células del sistema inmune innato. Por lo anterior los recién nacidos comprenden una población mucho más susceptible.

Otro componente fundamental del sistema es el endotelio. Normalmente las células endoteliales expresan un fenotipo anticoagulante, anti-adhesión celular y vasodilatador. Cuando son activadas, como en la inflamación, expresan propiedades procoagulantes y pro-adhesión celular.

Los polimorfonucleares, monocitos, macrófagos y las células endoteliales son los efectores celulares de la respuesta inflamatoria. La activación leucocitaria lleva a la agregación de leucocitos en la microcirculación con liberación de mediadores. Las células endoteliales, expuestas a este medio de factores humorales y leucocitarios, también se activan y comienza la expresión de diversas moléculas de adhesión y receptores en su superficie que favorecen el paso de polimorfonucleares a los tejidos lesionados junto con la síntesis y secreción de citocinas y otros mediadores inflamatorios secundarios como las

prostaglandinas, leucotrienos, tromboxano activador de plaquetas (PAF) y radicales libres.

Por otro lado, se ha reportado que la endotoxina de los microorganismos gram-negativos, que entra a la circulación sistémica, es el principal inductor primario de la reacción séptica. Sin embargo, en recién nacidos los agentes causales de la sepsis son gram-positivos y sus exotoxinas. Aunado a otras circunstancias como ocurre en las infecciones nosocomiales, donde la utilización de catéteres, alimentación parenteral, apoyo ventilatorio, tratamiento farmacológico no justificado y abuso del mismo, procedimientos invasivos favorecen el desarrollo de estos patógenos. ⁽⁴⁾

Todos estos eventos se relacionan con la presencia de microorganismos viables en el torrente sanguíneo. La bacteriemia aparece cuando la velocidad de reproducción microbiana sobrepasa la capacidad del sistema reticuloendotelial para eliminarlos. Y cuando este proceso es persistente, se debe a la incapacidad de las defensas del organismo para confinar la infección a su foco primario, o bien cuando el tratamiento médico no remueve, drena o trata adecuadamente la infección. Si a partir de un hemocultivo se aísla un patógeno clínicamente significativo, además de establecer la etiología infecciosa de la enfermedad que presenta el paciente, se tiene la posibilidad de realizar las pruebas de sensibilidad antimicrobiana *in vitro*, cuyos resultados eventualmente guiarán u optimizarán la terapia. ⁽⁴⁾

Las infecciones nosocomiales son 100 veces más frecuentes que las infecciones de inicio precoz, provocadas por microorganismos adquiridos en el útero o en el periodo perinatal. Según los datos registrados en el National Institute of Child Health and Human Development (NICHD), se refiere que el 19% de los recién nacidos pretérmino entre las 25 y 28 semanas de gestación y el 46% de los recién nacidos menores de 25 semanas de gestación, sufren infección nosocomial grave durante su hospitalización.

El CDC a través del NICHD reportan que las bacteriemias, seguidas de neumonía, infecciones gastrointestinales y conjuntivitis son las principales causas de infecciones nosocomiales. El principal factor de riesgo es el uso prolongado de catéteres, que multiplica el riesgo de bacteriemia y que de acuerdo con los reportes del NNIS (National Nosocomial Infections Surveillance System) las tasas de bacteriemia asociadas a catéter corresponde a 4.7 y 3.8 por cada 1000 días de estancia de catéter, en recién nacidos menores de 1500g y mayores de 1500g, respectivamente. Los microorganismos involucrados muestran relaciones significativas en cuanto al tiempo de presentación de la infección (temprana o tardía), así como los diferentes factores de riesgo. Dichos patógenos usualmente alcanzan el torrente sanguíneo desde sitios extravasculares, generalmente a través de vasos linfáticos. Así mismo, se produce la entrada directa de bacterias en la sangre cuando se presentan infecciones intravasculares como endocarditis infecciosa, tromboflebitis supurativa y con dispositivos intravasculares que se encuentran colonizados. ⁽⁵⁾ En condiciones normales, la repentina entrada de bacterias es removida de la circulación sanguínea en un lapso de minutos a horas, excepto en el caso de una infección masiva o cuando existe un foco intravascular. ⁽⁶⁾

Manifestaciones clínicas:

El diagnóstico de la sepsis grave y el choque séptico es clínico y debe hacerse precozmente, por lo que es importante tener un alto grado de sospecha ante datos físicos potencialmente compatibles. Actualmente y debido a que en muchas ocasiones estas alteraciones son inespecíficas, el diagnóstico se ha visto beneficiado del uso de estudios de laboratorio, entre los que destaca la biometría hemática, la proteína C reactiva, procalcitonina y el hemocultivo.

En relación a los hallazgos clínicos, éstos pueden variar en función del tiempo de evolución de la infección, el microorganismo causal y el estado previo de salud del paciente. Ya que son consecuencia de alguno de los siguientes hechos: inflamación sistémica, disfunción cardiovascular, disponibilidad de oxígeno disminuida o metabolismo tisular alterado.

Los signos de sepsis neonatal son inespecíficos en la mayoría de los casos, no obstante incluyen:

1. Dificultad respiratoria: quejido, retracciones intercostales, taquipnea, cianosis, apnea. El pulmón es el sitio más común de infección en el neonato.
2. Cardiovascular: mala perfusión, taquicardia, hipotensión, llenado capilar prolongado, choque.
3. Alteraciones en la termorregulación: fiebre infrecuente o hipotermia (frecuente en recién nacidos pretérmino).
4. Gastrointestinal: pobre alimentación, mala tolerancia al alimentar, distensión abdominal, regurgitación, vómitos, íleo.
5. Neurológico: crisis convulsivas, letargia, hipotonía, hipoactividad, irritabilidad, fontanela abombada.
6. Piel: petequias, púrpura, palidez, cianosis, ictericia.
7. Metabólico: hipo/hiperglucemia, acidosis metabólica.
8. General: Mal aspecto general.

Estudios de laboratorio complementarios:

A) Biometría Hemática: es el más usado para tratar de identificar a los recién nacidos con sepsis. Hasta el momento no existe un criterio uniforme para distinguir al recién nacido infectado del que no lo está. Esto se dificulta aún más por la repercusión sobre la citología hemática que tienen algunas enfermedades maternas como la toxemia/hipertensión, en la cual los recién nacidos presentan leucopenia con neutropenia y trombocitopenia. Los últimos estudios demuestran que la sospecha diagnóstica de sepsis depende de los factores de riesgo y de signos clínicos, que de acuerdo con la definición actual

consideran los datos de respuesta inflamatoria sistémica: taquicardia, taquipnea, alteraciones de curva térmica y alteraciones en la biometría hemática (BH). El impacto de esta última ha permitido asignar puntajes a cada una de las variables estudiadas, como la cuenta de leucocitos totales, de bandas, total de neutrófilos, índice elevado de polimorfonucleares (PMN) inmaduros/PMN totales, relación bandas/neutrófilos >0.2 , cuenta de plaquetas $< 100,000/\text{mm}^3$ y cambios degenerativos en PMN. En estos análisis la sensibilidad es variable, se reportan desde 40-90% sin que se relacione directamente el tipo de microorganismo, lo que entre otros factores, podría afectar los resultados. Aunque sin perder de vista que cuando se utilizan los parámetros: número total de PMN, número absoluto de neutrófilos y la relación I/T la posibilidad de detectar un neonato séptico es del 94 al 100%. 1c, A.

En el recuento de plaquetas, se debe considerar, como elemento que sugiere infección, la presencia de trombocitopenia <100.000 , aunque es un cambio tardío que suele aparecer después de las 72 horas de vida. 1c, A.

Existen factores clínicos distintos a infección que pueden alterar los índices de recuento leucocitario, como la hipertensión materna y la asfixia perinatal que pueden causar neutropenia. Otras situaciones de estrés no específicas, tales como asfixia, fiebre materna ó trabajo de parto prolongado pueden elevar el cociente I/T. Los parámetros que han mostrado mayor sensibilidad son el número absoluto de neutrófilos, sobre todo neutropenia $< 1.750 \text{ células}/\text{mm}^3$, el índice neutrófilos inmaduros/neutrófilos maduros (I/M) $>0,20$ y el índice neutrófilos inmaduros/neutrófilos totales (I/T) $>0,16$. Trombocitopenia (No. de plaquetas $< 100.000/\text{mm}^3$). Lo cual se observa en el 60% de las sepsis, sobre todo cuando se trata de candidiasis invasiva.

B) Otros estudios de laboratorio: Se han utilizado otros exámenes para identificar infección sistémica con diferentes resultados, tal es el caso de la Proteína C Reactiva, Procalcitonina, velocidad de sedimentación globular y alteración en la morfología de células sanguíneas. Sin embargo, ninguna de estas pruebas complementarias se pueden relacionar directamente con el agente causal de la sepsis.

-Reactantes de fase aguda: son proteínas inespecíficas, producidas por el hígado en respuesta a inflamación tisular, infección y trauma. Se usan independientemente o en combinación con otros tests diagnósticos como marcadores de sepsis en el periodo neonatal. Los de mayor utilidad actualmente por su eficacia y operatividad son la Proteína C Reactiva (PCR) y la Procalcitonina (PCT). Diferentes trabajos comunican que la PCR está elevada entre el 70-90% de los RN (recién nacidos) con infección sistémica, si bien el valor predictivo negativo es superior al 90%. Repitiendo la prueba a las 12-24 horas se incrementa la sensibilidad al 90% y el valor predictivo negativo al 98%. Por otra parte, la determinación seriada de la PCR ha demostrado su validez para el control evolutivo y de eficacia terapéutica. El límite superior de la normalidad se sitúa en $15\text{mg}/\text{L}$ en la primera semana de vida y en $10 \text{ mg}/\text{L}$ a partir de la primera semana. ⁽⁶⁾

1. Procalcitonina: La PCT es la prohormona de la calcitonina. En la sepsis se sintetiza en gran cantidad, por parte de casi todos los tejidos, aumentando sus niveles en sangre de manera significativa a partir de las 3 horas del estímulo infeccioso.⁽⁶⁾ Y se eleva de manera fisiológica en las primeras 48 horas de vida estableciéndose el límite superior de la normalidad en 3 ng/ml en los 3 primeros días de vida y en 0.5 ng/ml posteriormente.⁽⁶⁾

2. Proteína C reactiva: Este examen es útil en la confirmación diagnóstica. La PCR elevada es útil como indicativo de infección neonatal, cuando se determina en forma seriada cada 12-24 horas. Se consideran valores normales < 10mg/L (que equivale a 1mg/dL). 2 niveles de PCR < 10mg/L obtenidos con 24 horas de diferencia sugieren que la sepsis es improbable.

A pesar de los datos descritos, en la práctica, se ha observado que ningún examen tiene suficiente valor predictivo positivo como para confirmar o descartar sepsis por sí solo. Por lo cual se recomienda asignar mayor peso a la clínica con apoyo de hemocultivo y uso de la BH, PCT y PCR seriados, debido a que la mayoría de los niños con sepsis tienen índices de recuento de leucocitos y PCR progresivamente anormales. La normalización de PCR es un buen indicador de la resolución de la infección con el tratamiento y puede ser usada para determinar la duración de la antibioticoterapia.

En relación a lo anterior, es importante considerar que en el recién nacido, las infecciones tienen características peculiares, diferentes a las encontradas en otras edades, debido a las condiciones inmunológicas y a los mecanismos de adquisición. (mencionados previamente). Las manifestaciones clínicas son generalizadas e insidiosas⁽⁴⁾ Lo cual puede generar la utilización exagerada de recursos, así como incrementar los costos hospitalarios y los días de estancia intrahospitalaria, haciendo necesario el diagnóstico y tratamiento oportunos, en base a los hallazgos clínicos y su correlación con los medios de cultivo.

Estudios bacteriológicos:

Hemocultivo. Estudio microbiológico que debe incluirse siempre en la evaluación inicial de todo paciente con sospecha clínica de sepsis o choque séptico, por lo que es importante minimizar los factores que pueden condicionar un resultado falso negativo.

Sin embargo, aun con excelentes condiciones, la posibilidad de recuperación bacteriológica es sólo de aproximadamente 50% de los casos. Se requieren dos condiciones para el desarrollo y crecimiento de las bacterias. La primera, está relacionada con la calidad propia del inóculo, es decir, que las bacterias sean viables para que se desarrollen *in vitro*; también se requiere que la muestra contenga la cantidad mínima necesaria de bacterias o *unidades formadoras de colonias (UFC)* para que se pueda observar el crecimiento en los tiempos estimados para cada bacteria.

Se ha determinado que se requieren de aproximadamente 10^6 UFC para que sean detectadas mediante el cultivo bacteriológico.

La segunda condición, se refiere a los requerimientos diferenciales del medio de cultivo (nutrientes esenciales y pH óptimo) así como de las características de la incubación: temperatura, presión de CO₂, las cuales están desarrolladas y dirigidas específicamente para el crecimiento diferencial de cada bacteria. Del total de las muestras analizadas se ha estimado que aproximadamente el 40-50% desarrollan crecimiento de las bacterias de interés y otro porcentaje (25%) dan resultados falsos negativos; es decir, que aunque estén presentes las bacterias no se observa su crecimiento. Esta baja sensibilidad y especificidad, se relaciona con el volumen de sangre, que se puede extraer al recién nacido y se ha estimado un contenido aproximado de 10 UFC/ml de bacterias. Una limitante adicional del hemocultivo es que tarda hasta 4 días para obtener el resultado del laboratorio y no logra analizar el contenido total de las bacterias que pudieran ser de interés para identificar la etiología de la enfermedad.

Por otro lado, se ha observado que la positividad del hemocultivo es mayor cuando se toman 0.5 ml de sangre en condiciones estériles de una vena periférica y mejora mucho más el rendimiento cuando se toman dos muestras de venas distintas. Si se sospecha sepsis relacionada con catéter debe realizarse cultivo simultáneo de sangre obtenida del catéter. Si bien la cuantificación del No. de colonias puede diferenciar contaminación de infección, se debe tener en consideración que muchos casos de sepsis por *S. epidermidis* pueden cursar con un recuento de colonias bajo. En estos casos tiene gran valor la positividad de varios hemocultivos tomados de sitios diferentes. ⁽³⁾

La sangre para el hemocultivo debe ser obtenida antes de la administración de terapia sistémica antimicrobiana a los pacientes que cursen con datos sugestivos de sepsis. El volumen de la sangre obtenida es el factor individual más importante para el aislamiento de los microorganismos; la relación sangre:medio de cultivo debe ser entre 1:5 y 1:10.⁽⁷⁾ Diversos estudios han demostrado que uno de los factores que más influyen en la sensibilidad del hemocultivo es el volumen de sangre extraída para su realización.

Aunque no existe suficiente evidencia para determinar el volumen exacto, resultan razonables ciertas cantidades mínimas:

- Lactantes: 1 - 2 ml.
- Niños: 4 ml
- Adolescentes y adultos: 10 ml.

Así en condiciones óptimas, con adecuados volúmenes sanguíneos y técnicas de obtención adecuadas, los hemocultivos tienen una sensibilidad que varía del 50 al 80% y una especificidad del 96 al 100%, con una tasa de aislamiento que varía entre el 10 al 30%. ^(1, 2)

Los hallazgos clínicos son heterogéneos y su correlación con un hemocultivo positivo es pobre, sobre todo en estadios tempranos de sepsis. Muchos estudios que evalúan los marcadores diagnósticos de laboratorio son estudios de cohorte retrospectivos, o bien reporte de casos con muestras relativamente pequeñas. Teniendo en cuenta que la bacteriología tarda varios

días en ofrecer resultados fiables, es necesario disponer de algún procedimiento de diagnóstico rápido que oriente la instauración o no de tratamiento antibiótico. El test ideal reportaría una elevada sensibilidad y valor predictivo negativo. Por lo cual, a lo largo de los años se han empleado muchas técnicas con resultados diversos. Sin descartar el aspecto que encierra que los hemocultivos positivos tienen un impacto inmediato en el tratamiento del paciente. Lo que hace importante reportar los resultados relevantes en el menor tiempo posible. Ya que tienen impacto tanto en el diagnóstico, como en el tratamiento oportunos del paciente. En base a esto, el presente estudio se enfoca en la relación que existe entre los hallazgos clínicos y los hallazgos bacteriológicos a través de 2 medios de cultivo el RCM PEDIÁTRICO y Bact-Alert, cuyas diferencias se describen a continuación.

En el área de Bacteriología del Laboratorio Central del Hospital Infantil de México Federico Gómez, se emplean 2 sistemas automatizados para el procesamiento de hemocultivos: el equipo Bact-Alert, (del laboratorio Biomerieux) para el aislamiento y el Vitek-2 (laboratorio Biomerieux) para la identificación y las pruebas de sensibilidad bacterianas.

Los hemocultivos disponibles en nuestro medio generalmente son líquidos. En estos casos el crecimiento bacteriano puede provocar la hemólisis de la sangre, la aparición de burbujas o el crecimiento en el medio, características que no siempre son fáciles de visualizar. El hemocultivo RCM-PEDIÁTRICO (laboratorio Bio-Quality) es un medio bifásico enriquecido, que promueve el crecimiento de bacterias gram-positivas y gram-negativas, y que contiene colorantes que manifiestan el crecimiento bacteriano.

En muchas ocasiones, la bacteriemia origina una baja concentración de bacterias en sangre, menor de 10 UFC/mL en 68% de los niños menores de 2 años ⁽⁴⁾ y en 60% de los niños en edades que abarcan desde el nacimiento a los 15 años ⁽⁸⁾. Desde fines de la década de los 90's se consideraba a las bacteriemias primarias como una seria complicación asociada a la hospitalización. Uno de los microorganismos que contribuyeron a este tipo de infecciones fue indudablemente *S. aureus*, causante de aproximadamente 20% de los casos.

La bacteriemia, así como la sepsis implican un proceso que depende de la interacción dinámica del microorganismo y el hospedero. Que bajo diversas circunstancias han generado microorganismos resistentes. Tal es el caso de cepas resistentes a la meticilina. En Estados Unidos, la prevalencia de *S. aureus* resistente a la meticilina (MRSA) se ha incrementado en grandes hospitales, de 5% en 1981 a 38% en 1991. ⁽⁹⁾ Las cepas resistentes a la meticilina son las responsables de gran cantidad de muertes de pacientes pediátricos, así como de diversas epidemias en hospitales; por ello ha sido motivo de preocupación el documentar la diseminación de este tipo de microorganismos en la comunidad. ⁽¹⁰⁾

Con el objetivo de registrar crecimiento bacteriano a la brevedad posible en los hemocultivos, se han desarrollado diversos equipos automatizados. La mayoría de ellos se basan en la detección del bióxido de carbono generado por la

multiplicación de los microorganismos. Como ocurre con el equipo automatizado Vitek-2.

En el caso del hemocultivo RCM-PEDIÁTRICO, es posible partir de la suspensión bacteriana presente en la fase líquida para realizar directamente la prueba de Kirby-Bauer de susceptibilidad a los antimicrobianos, obteniendo una concordancia del 98%.^(11,12) Con esta metodología se reduce 24 horas el reporte para identificación bacteriana y las pruebas de susceptibilidad. Así mismo, es posible comparar los resultados obtenidos con el método estandarizado de Kirby-Bauer y el obtenido con el sistema Vitek-2.

En cuanto al volumen de sangre, el CUMITECH⁽¹²⁾ propone como condición segura el obtener entre el 4 y el 4.5% del volumen total de sangre del paciente. Lo cual es una gran ventaja para RNMBP.

Por otro lado, en el procedimiento actual se requieren 72 horas para reportar la identidad del agente etiológico y obtener el reporte de susceptibilidad a antimicrobianos. Con el método alternativo, a las 48 horas (suponiendo que el Medio RCM-PEDIÁTRICO sea capaz de proporcionar las condiciones para un desarrollo microbiano con la misma rapidez que el Bact-Alert) se tendrían la identificación bacteriana y la susceptibilidad a antimicrobianos. Lo cual cobra relevancia en situaciones de urgencia clínica, donde la rapidez y exactitud con que se proporcionan los resultados de los análisis practicados son los factores críticos para el establecimiento de las acciones terapéuticas adecuadas.

Los equipos comercialmente disponibles requieren de periodos que van de horas hasta varios días de incubación para poner de manifiesto el crecimiento bacteriano. Considerando que ningún sistema o medio de cultivo permite el crecimiento de todos los patógenos que potencialmente pueden aislarse de la sangre.⁽⁵⁾

Los equipos automatizados ponen de manifiesto los hemocultivos positivos. Mientras que en los métodos manuales, aún cuando no manifieste el crecimiento bacteriano, se recomienda realizar una resiembra (denominadas *resiembra ciega*) rutinariamente entre las 12 y 18 horas⁽¹⁴⁾. El medio RCM-PEDIÁTRICO puede registrar todos los casos en que se encuentren presentes bacterias gram-positivas y gram-negativas en la sangre de los recién nacidos. Es posible realizar la identificación de *Staphylococcus aureus* y de *Pseudomonas aeruginosa* el mismo día que se observa crecimiento bacteriano; además, se puede tomar una parte de la biomasa bacteriana para realizar la prueba de Bauer-Kirby. Con ello, se tienen resultados de la identificación de la cepa bacteriana y la susceptibilidad a los antimicrobianos 24 horas antes de los métodos habitualmente usados.

Diagnóstico etiológico de sepsis:

Los principales patógenos responsables de la sepsis neonatal son: *Streptococcus beta hemolítico del grupo B* y *Escherichia coli*. En los últimos años, la epidemiología está cambiando notablemente, especialmente después de la implementación de medidas preventivas como la administración de

antibióticos prenatales a la madre. ⁽⁶⁾

Otros agentes involucrados son: *Streptococcus viridans*, *Staphylococcus aureus y epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae*, especies de *Haemophilus*, *Pseudomonas aeruginosa*, especies de *Klebsiella* y *Enterobacter* y otros como los microorganismos atípicos y los que son causales de infecciones por TORCHS. ⁽⁵⁾ Actualmente se conoce que los microorganismos responsables de sepsis tardía son *Staphylococcus coagulasa negativos*, *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli* y *Enterobacter spp*, y en menor proporción *Staphylococcus aureus* y *Candida spp*, aunque esta última ha aumentado en años recientes. ⁽⁶⁾

II. MARCO TEÓRICO:

La sepsis es un problema grave de salud pública. En el periodo neonatal tiene una incidencia de 1 a 5 casos/ 1000 nacidos vivos, pero en las unidades de cuidados intensivos neonatales se informa de 15 a 35%, con una letalidad de 20 a 60%, que depende, entre otros factores, de lo temprano del diagnóstico y del tratamiento inmediato. ^(18,19 y 20)

A pesar de los avances en cuanto a antibióticos, de las medidas de soporte y del conocimiento de los factores de riesgo infeccioso, la sepsis sigue siendo causa importante de la alta mortalidad y morbilidad en las unidades de cuidados intensivos neonatales. Y representa un serio problema de salud pública. 99% de los casos ocurre en países en vías de desarrollo, correspondiendo al 29% de las causas de muerte neonatal. La sepsis de inicio temprano o perinatal afecta a 1-2 de 1000 recién nacidos. ^(4,8)

En un estudio de Latinoamérica se ha reportado una incidencia de 4-15.4 casos por 1000 nacidos vivos. ⁽¹⁶⁾

La tasa de incidencia es de 2-3:1000 nacidos vivos, con un rango de 1-10:1000 nacidos vivos, en los países del tercer mundo esta cifra puede alcanzar hasta 21:1000 nacidos vivos y en los RNMBP (<1500g) puede llegar hasta 300:1000 nacidos vivos. ⁽⁵⁾ Se reportó que en países en vías de desarrollo nacen 126.377.000 niños al año, de los cuales 20% presentarán sepsis neonatal. ⁽⁵⁾

En México, los fallecimientos registrados el primer día de vida se deben a problemas relacionados fundamentalmente con dificultad respiratoria del recién nacido (RN), prematuridad, problemas durante el parto y anomalías congénitas. Durante la primera semana se mezclan con las causas antes mencionadas las infecciones del recién nacido como la sepsis bacteriana o la neumonía congénita. Al rebasar la semana de vida, la sepsis bacteriana domina el perfil y le siguen en importancia los problemas respiratorios debidos a inmadurez de los recién nacidos. ^(17, 18)

La incidencia en México se ha reportado de 4 a 15.4 casos por 1 000 nacidos vivos; datos de Estados Unidos de América (EUA) mencionan tasas de incidencia de 1-5 casos por 1 000 nacidos vivos. ^(1,2,17)

En el Instituto Nacional de Perinatología “Espinosa de los Reyes”, en los últimos años se ha estimado en 2.3 % del total de los nacimientos. ⁽²⁰⁾.

En un hospital del Instituto Mexicano del Seguro Social (Puebla) entre 2004 y 2005, se encontró una incidencia de sepsis de 3.4/1 000 recién nacidos vivos en 3,633 nacimientos. ^(15,16, 21)

De acuerdo con el momento de inicio se ha dividido en sepsis temprana y tardía. Se han descrito como factores de riesgo para adquirir sepsis temprana incluyen bajo peso al nacer, sexo masculino, preclampsia, hipoxia perinatal, rotura prolongada de membranas amnióticas, fiebre materna, corioamnionitis y prematuridad. La sepsis de inicio tardío se relaciona principalmente con procedimientos de diagnóstico invasivos o tratamiento durante el periodo de hospitalización. Los agentes involucrados en su etiología son muy variables y dependen del lugar, tipo de institución y país, así como del periodo de estudio: en EUA y Europa se ha reportado a *Streptococcus agalactiae* y *Escherichia coli* como los principales; otros estudios mencionan a *Staphylococcus epidermidis*; en países en desarrollo los gram-negativos constituyen la causa más frecuente; sin embargo, en algunos reportes tanto el *Staphylococcus coagulasa negativo* como el *S. aureus* ya ocupan el primer lugar. ^(12, 19).

Debido a lo anterior, es indispensable la identificación temprana del agente causal de la sepsis en recién nacidos, por lo que contar con herramientas eficaces y efectivas en el proceso facilita el diagnóstico y tratamiento oportunos. El presente trabajo muestra la relación de los hallazgos clínicos con 2 medios de cultivo distintos: RCM-PEDIÁTRICO y Bact-Alert, con la finalidad de mejorar el abordaje de sepsis neonatal.

III. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN:

¿Cuál es la relación de los hallazgos clínicos y los resultados obtenidos por el hemocultivo RCM-PEDIÁTRICO para un diagnóstico temprano y fidedigno de sepsis neonatal, en comparación con el *estándar de oro* Bact-Alert?

IV. HIPÓTESIS:

Los hallazgos clínicos y la bacteriemia detectada por el hemocultivo RCM-PEDIÁTRICO tienen una alta sensibilidad para determinar sepsis neonatal comparada con el sistema automatizado Bact-Alert.

V. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

Los hallazgos clínicos tienen poca sensibilidad y su correcta observación puede depender de la experiencia de los clínicos, por ello los hemocultivos han contribuido al diagnóstico integral de sepsis neonatal, permitiendo la identificación de microorganismos involucrados en la producción de dichas manifestaciones clínicas.

RCM-PEDIÁTRICO es un medio de cultivo que *in vitro* ha dado una alta sensibilidad y especificidad. En tanto que estudios previos reportan al

hemocultivo Bact-Alert como una adecuada herramienta para detectar bacteriemia, por lo que se tomará como *estándar de oro* para comparar con el hemocultivo RCM-PEDIÁTRICO.

VI. JUSTIFICACIÓN:

La Organización Mundial de la Salud (OMS) calcula que en el mundo fallecen casi 5,000,000 de recién nacidos al año, siendo las principales causas de muerte las infecciones, asfixia y prematuridad. El 98% de estas muertes ocurre en países en vías de desarrollo y el 30 a 40% están relacionadas con sepsis. Cuya incidencia en recién nacidos, a nivel internacional se reporta entre 5 y 6 por 1000 nacidos vivos. ⁽⁴⁾

La sepsis neonatal es un grave problema de Salud Pública. De la mortalidad mundial neonatal reportada anualmente (4,000,000), el 99% ocurre en países en desarrollo. Se ha estimado en un 35% (1,076,000) como principales causas; sepsis, neumonía y meningitis. ⁽²¹⁾

En México, durante el 2004 se reportó que el 6.8% de la mortalidad nacional, se debió a sepsis bacteriana. ⁽²²⁾

En el Hospital Infantil de México Federico Gómez, durante 1998, se llevó a cabo un estudio donde se reportó que la mortalidad por sepsis neonatal correspondió al 13%. ⁽²³⁾

La elevada mortalidad, estancia intrahospitalaria y altos costos financieros por sepsis neonatal hacen necesario un diagnóstico y tratamiento oportunos, en base al aspecto fundamental: hallazgos clínicos y su correlación con la toma de hemocultivos.

VII. OBJETIVO:

A. General:

Describir la sensibilidad entre los hallazgos clínicos y los aislamientos de 2 diferentes medios de hemocultivo, en sepsis neonatal.

B. Particulares:

1) Conocer la incidencia y etiología de la sepsis neonatal en la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales del Hospital Infantil de México Federgico Gómez.

2) Disminuir el tiempo para el diagnóstico y tratamiento oportuno.

VIII. MATERIAL Y MÉTODOS:

Tipo de estudio: Transversal analítico.

Población de estudio: Se incluyeron todos los RN que ingresaron a la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales (UCIN) del Hospital Infantil de México Federico Gómez (HIMFG), con sospecha de sepsis y en quienes utilizaron los 2 hemocultivos RCM-PEDIÁTRICO y Bact-Alert, en el periodo comprendido entre el 01 de junio del 2011- 01 diciembre del 2011.

Se revisaron expedientes de los pacientes que ingresaron al estudio en el Departamento de Neonatología durante el tiempo estipulado. Y se recopilaron las variables estudiadas en una hoja de recolección de datos.

Intervención: Se tomaron 2 medios de hemocultivo (RCM-PEDIÁTRICO y Bact-Alert) a los pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión establecidos, inmediatamente después de la sospecha de sepsis y se enviaron al laboratorio central. El volumen extraído en una sola toma fue de 1mL; en cada frasco se inocularon 0.5 mL y el orden en que se realizó fue aleatorio.

Los hemocultivos fueron procesados en la sección de Bacteriología del Laboratorio Central. Una química procesó los hemocultivos de Bact-Alert con la metodología normal y otra química procesó los hemocultivos del RCM-PEDIÁTRICO.

Los resultados obtenidos con RCM-PEDIÁTRICO fueron comunicados de inmediato al Departamento de Neonatología.

Diseño de estudio y análisis estadístico:

- Análisis descriptivo de la población.

-Análisis bivariado.

-Correlación de datos dicotómicos, se analizaron con correlación simple de Pearson.

-Se evaluó como prueba diagnóstica, utilizando prueba exacta de Fisher para determinar: sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo y razón de verosimilitud para la comparación de RCM-PEDIÁTRICO y Bact-Alert como *estándar de oro*.

-Se evaluaron los datos clínicos contra el *estándar de oro*.

-Los datos fueron procesados con el programa SPSS versión: 20.

-En todos los casos se graficaron nomogramas de Fagan.

IX. CRITERIOS DE SELECCIÓN:

Criterios de inclusión:

◦Recién nacidos de término ≤ 28 días.

◦Recién nacidos \leq 32 semanas de gestación hasta 40 semanas de gestación corregidas.

◦Pacientes que contaron con los 2 medios de hemocultivo.

Criterios de exclusión:

◦Contaminación en los hemocultivos.

◦Pacientes que no contaron con consentimiento informado.

Criterios de eliminación:

◦Recién nacidos con datos clínicos o de laboratorio incompletos.

X. DESCRIPCIÓN DE VARIABLES:

INDEPENDIENTE	DEFINICIÓN OPERACIONAL	TIPO	ESCALAS DE MEDICIÓN
Hemocultivo	Aislamiento de microorganismo en medio de crecimiento propicio para el desarrollo de bacterias.	NOMINAL	RCM-PEDIÁTRICO Bact-Alert
Bacteriemia	Presencia de bacterias en sangre, documentada por hemocultivos (central o periférico), que de acuerdo a los CDC puede ser primaria o asociada a catéter.	NOMINAL	Si No
Edad de gestación	Tiempo en semanas al nacimiento evaluada por escala de Capurro o Ballard.	NUMÉRICA	< 0 = 32 SDG > 0 = 40 SDG
Edad cronológica al ingreso	Tiempo en días de vida al ingreso.	NUMÉRICA	< 72 HRS > 72 HRS
Choque séptico (hipotensión arterial)	Cuadro de sepsis severa con hipotensión arterial que no responde a reanimación adecuada con líquidos, requiriendo el uso de drogas vasopresoras.	NOMINAL	Si No
Sepsis grave	Sepsis asociado con disfunción orgánica, hipotensión arterial e hipoperfusión. La evidencia de hipoperfusión incluye acidosis láctica, oliguria y alteración del estado mental, responde a terapia con líquidos.	NOMINAL	Si No

INDEPENDIENTE	DEFINICIÓN OPERACIONAL	TIPO	ESCALA DE MEDICIÓN
SRIS	<p>Respuesta clínica frente a insultos no específicos. Comprende los siguientes criterios:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Temperatura corporal central $>38.5^{\circ}\text{C}$ o $< 36^{\circ}\text{C}$ (rectal, vesical, oral). 2. Taquicardia, definida como una elevación $>2\text{DE}$ (desviaciones estándar) de la media para su edad en ausencia de estímulos externos, medicación o estímulo doloroso; o elevación persistente inexplicable durante 0.5-4h; o bradicardia $<$ percentil 10 para la edad en ausencia de estímulo vagal, medicación con betabloqueadores, cardiopatía congénita o disminución de la frecuencia inexplicable durante más de 0.5 h. 3. Taquipnea: frecuencia respiratoria $> 2 \text{ DE}$ sobre la media para la edad; o ventilación mecánica para un proceso agudo no relacionado con enfermedad neuromuscular o anestesia general. 4. Recuento leucocitario elevado o disminuido para la edad ó $>10\%$ de neutrófilos inmaduros. 	NOMINAL	Si No
		NOMINAL	Si No
		NOMINAL	Si No
		NOMINAL	SI No
Llenado capilar	<p>Valoración clínica para determinar estado de perfusión e hidratación que se realiza al aplicar presión sobre el lecho ungueal hasta que éste se torne blanco, lo que indica que la sangre ha sido forzada a salir del tejido, lo cual se denomina palidez. Una vez que el tejido ha palidecido, se quita la presión.</p>	NOMINAL	Si No

XI. RESULTADOS:

Se estudiaron 45 pacientes con sospecha de sepsis, 22 de ellos fueron recién nacidos masculinos (48.8%) y 23 fueron femeninos (51.1%). 15 correspondieron a recién nacidos pretérmino (33.3%) y 30 recién nacidos de término (66.6%). La descripción se encuentra en la tabla 1 y figura 1.

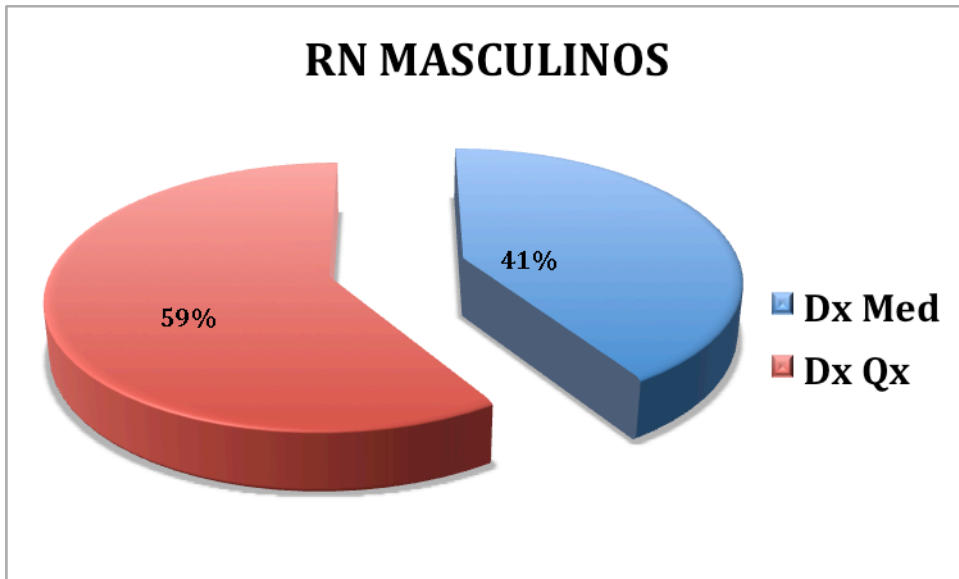
Tabla 1: Descripción de la población estudiada.

45 PACIENTES							
23 FEMENINOS				22 MASCULINOS			
RNT		RNPT		RNT		RNPT	
15		8		15		7	
DM	DQ	DM	DQ	DM	DQ	DM	DQ
9	6	5	3	7	8	2	5

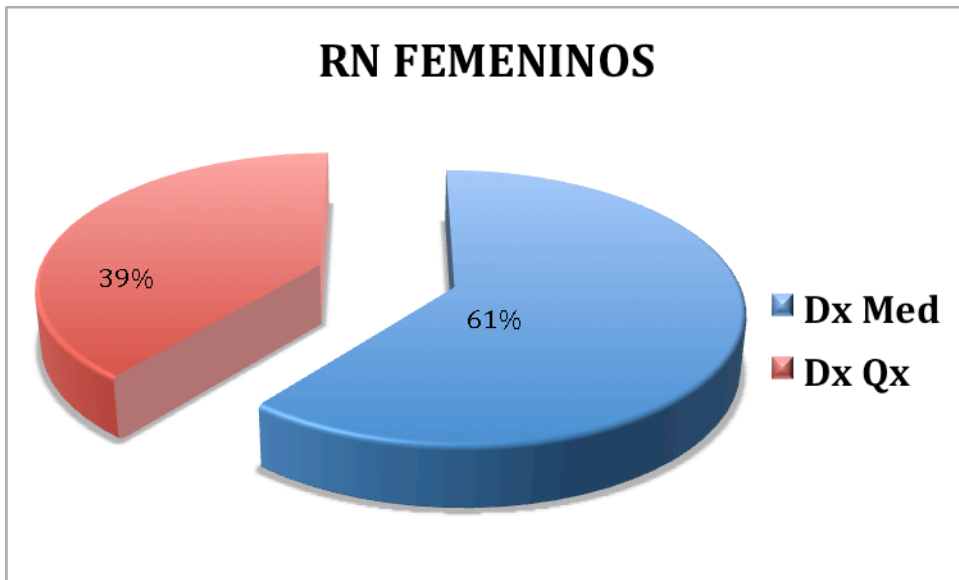
La tabla 1 describe la población estudiada, con un total de 45 pacientes, de los cuales 22 fueron recién nacidos masculinos y 23 femeninos. Posteriormente se describe la distribución en base a edad gestacional de acuerdo al género y en la parte final de la tabla, se registran los pacientes clasificados de acuerdo a las categorías mencionadas, que cursaron con diagnóstico médico y quirúrgico. RNT= recién nacidos de término, RNPT= recién nacidos pretérmino. DM= diagnóstico médico, DQ= diagnóstico quirúrgico.

Figura 1: Distribución de la población estudiada en base a género.

A.



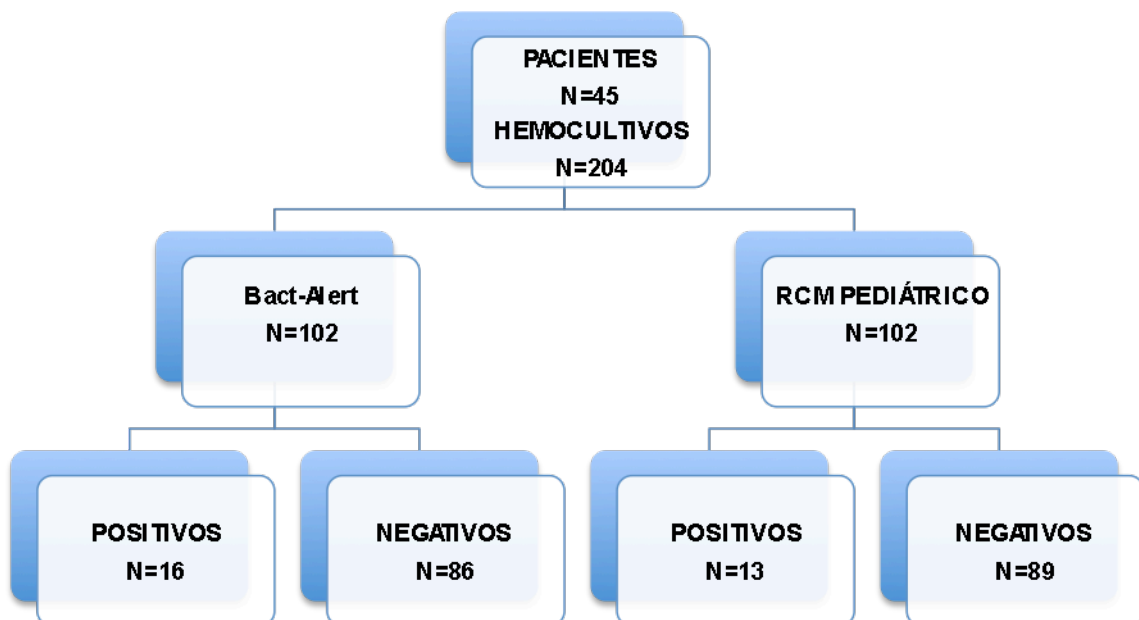
B.



*Gráficas que muestran la distribución de la población en base a género. En la gráfica A, se muestra los resultados correspondientes a la población femenina, los cuadros de sepsis neonatal predominaron en aquellos con diagnóstico médico. En tanto que en la gráfica B, donde se observa la población masculina; la mayoría ocurrió en pacientes con diagnóstico médico. RN= recién nacidos, Dx Med= diagnóstico médico, Dx Qx= diagnóstico quirúrgico.

La población estudiada incluyó recién nacidos con datos sugestivos de sepsis neonatal, de quienes se obtuvo 1 ml de volumen sanguíneo total, que posteriormente fue dividido en 0.5ml para inocular aleatoriamente en cada medio correspondiente (Bact-Alert y RCM-PEDIÁTRICO). Se tomaron 102 hemocultivos con técnica estéril tanto para Bact-Alert como para RCM-PEDIÁTRICO. De los cuales se obtuvieron 16 hemocultivos positivos para Bact-Alert (16.3%) y 13 para RCM-PEDIÁTRICO (13.2%) (figura 2). Los aislamientos bacterianos registrados se muestran en la figura 3.

Figura 2: Hemocultivos positivos en relación al total de hemocultivos registrados para RCM-PEDIÁTRICO y Bact-Alert.



*Gráfica que muestra el total de hemocultivos positivos para RCM-PEDIÁTRICO y Bact-Alert, en relación al total de 102 hemocultivos registrados. En rojo se describen los hemocultivos negativos para RCM-PEDIÁTRICO y en amarillo, los positivos. En el caso de Bact-Alert, se encuentran en azul los hemocultivos negativos y en morado los positivos. HC=hemocultivo.

Tabla 2: Proceso de aislamiento para gram-positivos con el hemocultivo RCM-PEDIÁTRICO en comparación con el hemocultivo Bact-Alert.

DÍA	TIEMPO (h)	PROCESO	REPORTE	PROCESO	REPORTE
1	0	Inoculación (sistema Bact-Alert) e incubación.		Inoculación (RCM-pediátrico) e incubación.	
2	24	Frotis (cocos gram-positivos) y resiembra en gelosa sangre y gelosa chocolate.	Cocos gram-positivos.	Frotis, prueba de catalasa y coagulasa. Resembrar en otros medios y hacer prueba de susceptibilidad.	<i>S. aureus</i>
3	48	Observación de morfología y procesamiento de suspensión bacteriana en Vitek 2 para identificación.		Confirmación de la cepa y lectura de pruebas de susceptibilidad.	Pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos
4	72	Lectura de resultados en Vitek 2.	Aislamiento de <i>S. aureus</i> y antibiograma.		

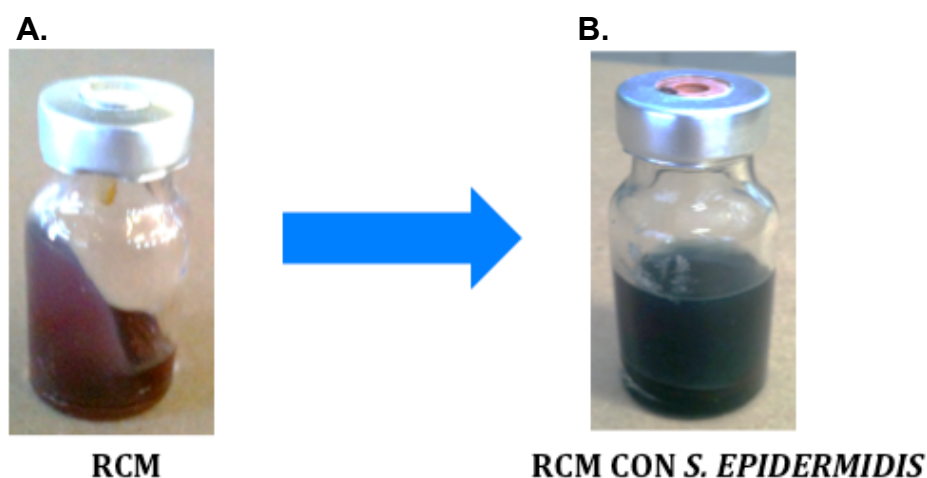
*Tabla que muestra el tiempo que conlleva la identificación de aislamiento bacteriano, a través de los hemocultivos RCM-PEDIÁTRICO y Bact-Alert; desde la toma de la muestra sanguínea e inoculación en el medio correspondiente hasta la determinación de susceptibilidad en cada caso.

Tabla 3: Proceso de aislamiento para gram-negativos con el hemocultivo RCM-PEDIÁTRICO en comparación con el hemocultivo Bact-Alert.

DÍA	TIEMPO (h)	PROCESO	REPORTE	PROCESO	REPORTE
1	0	Inoculación (sistema Bact-Alert) e incubación.		Inoculación (RCM pediátrico) e incubación.	
2	24	Frotis o resiembra (bacilos gram-negativos) y resiembra en gelosa sangre y MacConkey.	Bacilos gram-negativos.	Frotis, prueba de catalasa y coagulasa. Resembrar en otros medios y hacer prueba de susceptibilidad.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
3	48	Observación de morfología y procesamiento de suspensión bacteriana en Vitek 2 para identificación.		Confirmación de la cepa y lectura de pruebas de susceptibilidad.	Pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos
4	72	Lectura de resultados en Vitek 2.	Aislamiento de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> y antibiograma		

*Tabla que muestra el tiempo que conlleva la identificación de aislamiento bacteriano, a través de los hemocultivos RCM-PEDIÁTRICO y Bact-Alert; desde la toma de la muestra sanguínea e inoculación en el medio correspondiente hasta la determinación de susceptibilidad en cada caso.

Figura 3: Cambio de coloración en hemocultivo RCM-PEDIÁTRICO, al cursar con aislamiento bacteriano.



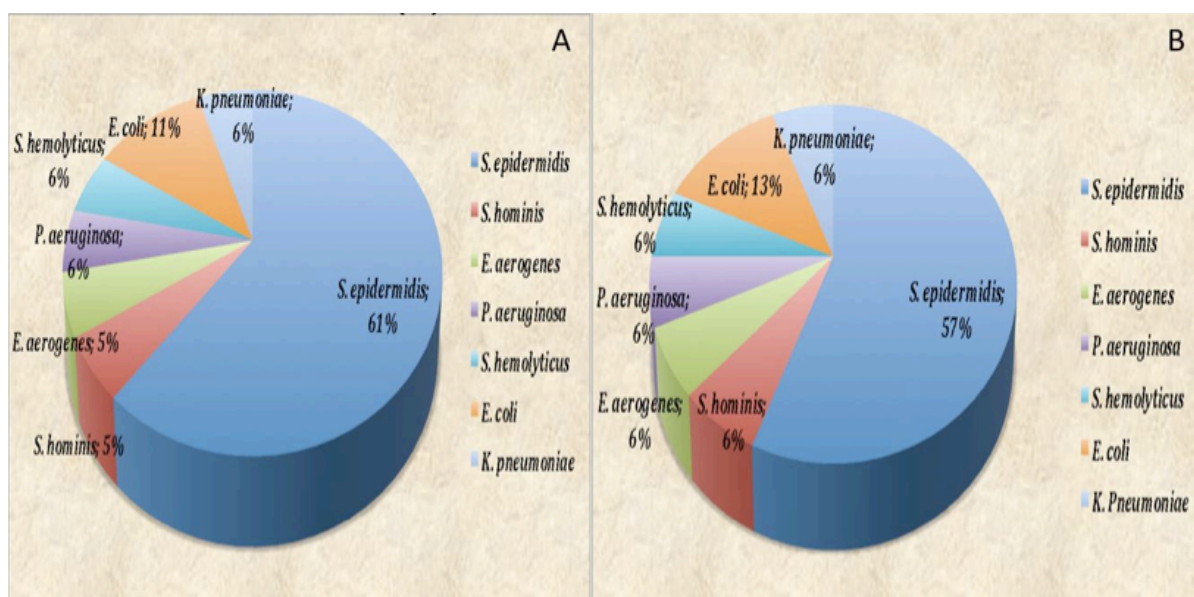
*Figura que muestra la reacción química del hemocultivo RCM manifestada por cambio de coloración en el componente líquido del medio de cultivo; tras el aislamiento de microorganismos. En este caso la imagen A. muestra el RCM intacto y la imagen B. registra el aislamiento de *Staphylococcus epidermidis*.

Tabla 4: Cambio de coloración del hemocultivo RCM-PEDIÁTRICO en base al aislamiento bacteriano.

GRUPO	MORFOLOGÍA	SOBRENADANTE	COAGULASA	CATALASA	GRUPO	OXIDASA
<i>S. aureus</i>	Cocos G+	Amarillo o café	Positiva	Positiva	<i>P. aeruginosa</i>	Positiva
<i>S. coagulasa (-)</i>	Cocos G+	Verde o morado	Negativa	Positiva	<i>Enterobacteria</i>	Negativa
<i>Enterococo</i>	Cadenas de cocos G+	Amarillo o café	Negativa	Negativa	<i>No fermentador</i>	Negativa
<i>S. viridans</i>	Cadenas de cocos G+	Verde	Negativa	Negativa		

*Tabla 6: muestra la identificación de los aislamientos bacterianos que pueden ser determinados a través del hemocultivo RCM-PEDIÁTRICO. S= Staphylococcus, G + = gram positivo, P= pseudomonas.

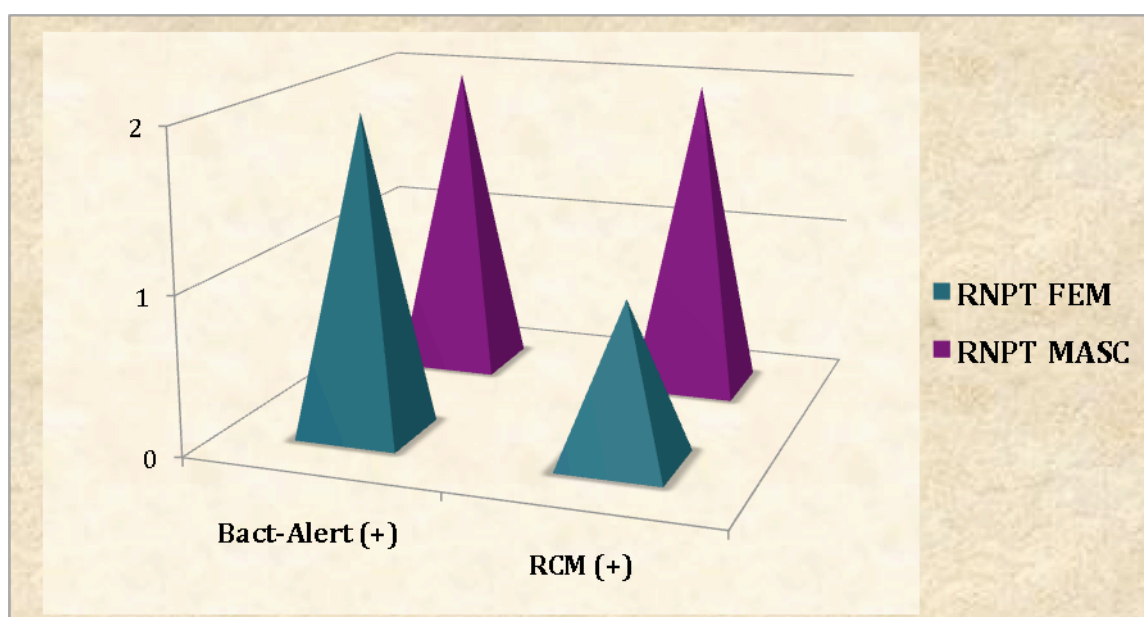
Figura 4: Aislamientos de microorganismos en los medios de cultivo Bact-Alert y RCM-PEDIÁTRICO.



*La gráfica A muestra los aislamientos de microorganismos encontrados en el medio de cultivo Bact—Alert. La gráfica B muestra los microorganismos aislados en el hemocultivo RCM-PEDIÁTRICO. En ambos casos, el agente causal más frecuente fue *S. epidermidis*, con 61% en el caso de Bact-Alert y 57% para RCM-PEDIÁTRICO. En menor proporción se registran los aislamientos para microorganismos gram-negativos; sin diferencias significativas para ambos medios de cultivo.

De los resultados presentados en la gráfica previa, se obtuvieron aquellos hemocultivos positivos que correspondían a recién nacidos pretérmino. Obteniéndose 4 hemocultivos positivos para Bact-Alert (64%) de un total de 16. Y en el caso de RCM-PEDIÁTRICO: 3 hemocultivos positivos (39%), de un total de 13. Los hallazgos se muestran en la figura 4.

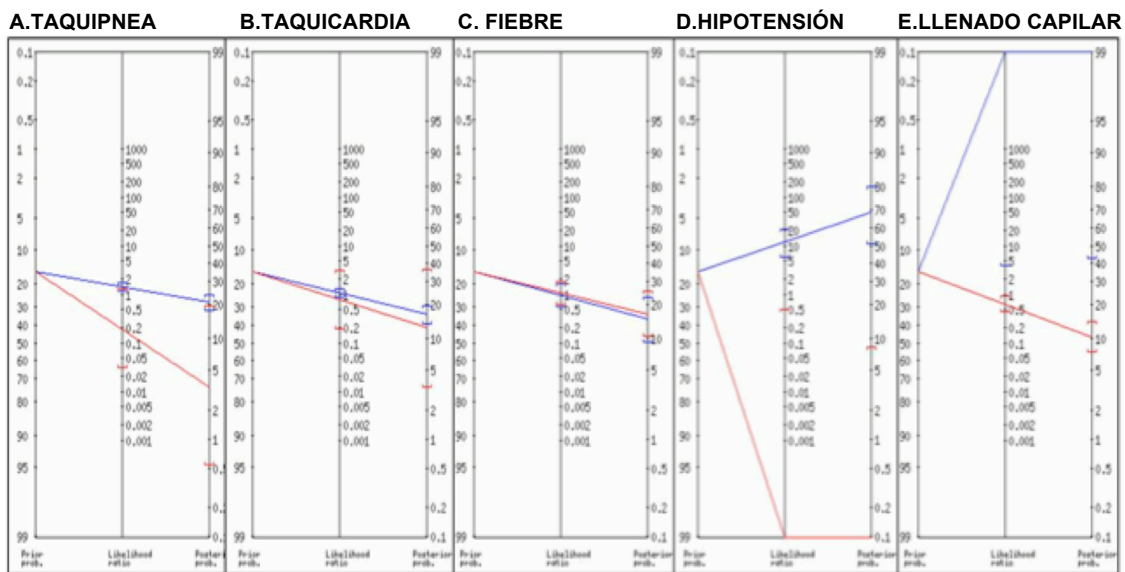
Figura 5: Distribución de pacientes pretérmino con hemocultivo positivo en base a edad de gestación.



*Gráfica que muestra la distribución de los pacientes estudiados con hemocultivo positivo en base a la edad de gestación. Reportándose un total de 4 cultivos positivos para Bact-Alert, 2 para RNPT femeninos y 2 para RNPT masculinos. En tanto que, para RCM-PEDIÁTRICO, se registraron 3 hemocultivos, 1 en el caso de RNPT femenino y 2 par RNPT masculinos. RNPT = recién nacido pretérmino, FEM= femeninos, MASC =masculinos.

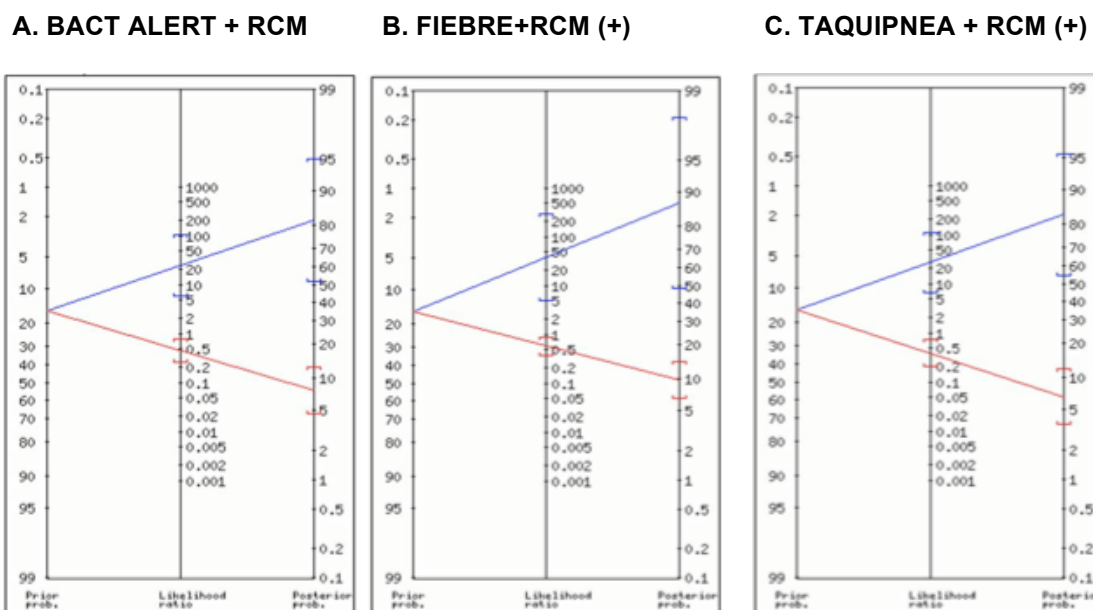
Los hallazgos clínicos más significativos se encuentran registrados en los nomogramas de Fagan, los cuales se presenta en la gráfica A: taquicardia con una posibilidad diagnóstica postprueba de 20, en la gráfica B: la presencia de taquicardia, con una posibilidad postprueba de 17 , en la gráfica C: fiebre con una posibilidad diagnóstica postprueba de 15; en la gráfica D: hipotensión, que corresponde a una posibilidad postprueba de 70 y por último en la gráfica E: llenado capilar con una posibilidad diagnóstica postprueba mayor al 99.

Figura 6. Nomogramas de Fagan en relación a hallazgos clínicos.



En el caso de los datos clínicos, la gráfica A muestra la posibilidad diagnóstica postprueba al valorar Bact-Alert y RCM-PEDIÁTRICO que se eleva hasta 80. En la gráfica B, se observa la relación de fiebre con hemocultivo RCM-PEDIÁTRICO positivo, con una posibilidad diagnóstica postprueba de 88. Y finalmente en la gráfica C, se muestra la relación entre taquipnea y RCM-PEDIÁTRICO positivo, con una posibilidad diagnóstica postprueba de 82. Con lo cual se observa una posibilidad diagnóstica postprueba con mayor confiabilidad al relacionar fiebre más la presencia de un hemocultivo positivo, en este caso RCM-PEDIÁTRICO. Los resultados previos se muestran en la figura 6.

Figura 7: Nomogramas de Fagan que muestran la relación entre hallazgos clínicos y los hemocultivos Bact-Alert y RCM-PEDIÁTRICO.



Las tablas 2 y 3 muestran los resultados obtenidos tanto para RCM-PEDIÁTRICO, como para los hallazgos clínicos.

Tabla 5: Asociación clínica entre el hemocultivo RCM-PEDIÁTRICO positivo y hallazgos clínicos.

HC+Hc	Total N (%)	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN	RV	p
RCM	13 (12.7)	68.8	97.7	84.6	94.4	29	0.00
RCM+ Taquipnea	12 (11.7)	62.5	97.7	83.3	93.3	26.9	0.00
RCM+ Taquicardia	11 (10.7)	56.2	97.7	81.8	92.3	24.2	0.00
RCM+Fiebre	8 (7.8)	43.8	98.8	87.5	90.4	37.6	0.00
RCM+ Hipotensión	4 (3.9)	18.8	98.8	75	86.7	16.1	0.00

*Tabla que muestra la asociación entre el hemocultivo RCM-PEDIÁTRICO positivo y los hallazgos clínicos más significativos encontrados en los pacientes estudiados. En el recuadro rojo, se muestran los datos relevantes al relacionar los hallazgos clínicos de taquipnea y taquicardia con el hemocultivo RCM-PEDIÁTRICO positivo.
 *HC= hemocultivo, Hc=hallazgo clínico, N= número de pacientes, VPP= valor predictivo positivo, VPN= valor predictivo negativo, RV= razón de verosimilitud.

Tabla 6. Correlación clínica entre Bact-Alert y hallazgos clínico-laboratoriales.

HALLAZGO	TOTAL N(%)	BACT- ALERT(+) N (%)	SENSIBILIDAD	ESPECIFICIDAD	VPP	VPN	RV	P
Taquipnea	73(71)	15 (93.7)	93.8	32.6	20.5	96.6	1.4	0.03
Taquicardia	86(84)	14 (87.5)	87.5	16.3	16.3	87.5	1.04	0.73
Leucocitosis (EG)	19(18.6)	4 (25)	75	82.6	44.4	94.7	4.3	0.47
Fiebre	54(53)	8(50)	50	46.5	14.8	83.3	0.93	0.79
Hipotensión	8(7.8)	7 (43.8)	43.8	98.8	87.5	90.4	37.62	0.00
IBN (RNPT:0.16 y RNT: 0.2)	63(61.7)	7 (43.7)	43.8	34.9	11.1	76.9	0.67	0.10
Llenado capilar >3seg	6(5.8)	6 (37.5)	37	100	100	89.6	NA	0.00
PCR (>0.3mg/dL)	32(31.3)	4 (25)	25	67.4	12.5	82.9	0.76	0.55
PCT (>2ng/ml)	19(18.6)	2 (12.5)	12.5	80.2	10.5	83.1	0.63	0.49
Hipotermia	7 (6.8)	0	0	91.9	0.0	83.2	0	0.23
Leucopenia	2 (1.9)	0	0	97.7	0	84	0	0.53

*N= Total, VPP=valor predictivo positivo, VPN=valor predictivo negativo, RV=razón de verosimilitud, IBN=índice banda neutrófilo, RNPT=recién nacido pretérmino, RNT=recién nacido de término, seg=segundos, PCR=proteína C reactiva, PCT=procalcitonina.

El hemocultivo RCM-PEDIÁTRICO mostró una sensibilidad del 68.8%, especificidad del 97.7%, valor predictivo positivo de 84.6%, valor predictivo negativo de 94.4 y razón de verosimilitud de 29.5 ($p < 0.001$). Encontrándose resultados similares a los descritos en la literatura.

XII. DISCUSIÓN:

La sepsis en el periodo neonatal es muy frecuente en las unidades de cuidados intensivos neonatales debido a: la mayor supervivencia de los recién nacidos, en especial de los de muy bajo peso al nacimiento, aumento en los procedimientos invasivos y uso inadecuado de antimicrobianos, así como la aparición de microorganismos multirresistentes con episodios de letalidad alta, por lo que se requiere un diagnóstico y tratamiento temprano para mejorar el pronóstico de estos pacientes.

Los hallazgos clínicos son determinantes en el diagnóstico de sepsis neonatal, sin embargo pueden ser muy inespecíficos. En nuestro estudio las variables consideradas incluyeron los datos de respuesta inflamatoria sistémica en aquellos pacientes en quienes se sospechó sepsis. Siendo los más significativos: taquicardia, taquipnea, fiebre, llenado capilar e hipotensión. Que por sí mismos y aislados no determinaron la presencia o ausencia de sepsis, pero que al relacionarlos con el hemocultivo (en este caso RCM-PEDIÁTRICO),

mejoró las razones de probabilidad que cuantificamos en el presente trabajo. Lo que ofreció mayor precisión en la relación entre el hemocultivo-taquipnea, el hemocultivo-taquicardia y el hemocultivo-fiebre.

El llenado capilar en comparación con los otros hallazgos clínicos, presentó una mejor posibilidad diagnóstica postprueba para sepsis neonatal; en más del doble que la preprueba del nomograma de Fagan. Lo cual corresponde con lo reportado en la literatura internacional.

Los cambios en la biometría hemática han sido ampliamente cuestionados, incluso se consideran poco sensibles y específicos, lo que se relacionó con los hallazgos en los índices en la cuenta de leucocitos, la presencia de formas jóvenes como bandas y el incremento en la relación B/N (banda/neutrófilo) observados en nuestro estudio. Lo que podría estar relacionado en que muchos de esos pacientes pueden alterar su biometría hemática por patologías no infecciosas, tal es el caso de los pacientes en estado postquirúrgico, asfisia perinatal, entre otros.

La presencia de hallazgos clínicos como el llenado capilar prolongado y la hipotensión son signos tardíos en los pacientes de nuestro estudio que evolucionaron de sepsis a choque séptico y en quienes se confirmó el diagnóstico. Por lo que no ofrecen un panorama donde puedan utilizarse de manera preventiva o temprana para mejorar el pronóstico y evolución en sepsis neonatal, sino por el contrario, determinan sólo la urgencia de instalar un tratamiento adecuado y en el menor tiempo posible.

A diferencia de lo reportado en algunos artículos, donde se demuestra la relevancia de la presencia de taquicardia como hallazgo clínico predominante en recién nacidos prematuros con sepsis neonatal, en nuestro estudio no fue significativo debido a que el diseño de éste fue de tipo transversal, en tanto que el registrado en los artículos mencionados sobre taquicardia y sepsis, son diseños de tipo longitudinal, donde se refiere la posibilidad del diagnóstico 24 horas previas a la instalación del cuadro de sepsis.

En el caso de los hemocultivos, el RCM-PEDIÁTRICO presentó una sensibilidad del 68.8%, especificidad del 97.7%, valor predictivo positivo de 84.6%, valor predictivo negativo de 94.4 y razón de verosimilitud de 29.5 ($p < 0.001$). Correspondiendo a lo reportado en la literatura, donde se describe que en hemocultivos, la sensibilidad varía del 50 al 80%, con una especificidad del 96 al 100%. De igual manera, la tasa de identificación de microorganismos reportado en la literatura en hemocultivos, corresponde al 10-30%. En nuestro estudio, los resultados observados con el hemocultivo RCM-PEDIÁTRICO corresponden al 15%. Sin embargo, este medio de cultivo ofrece la ventaja de reportar los aislamientos bacterianos 24 horas antes que lo registrado con el hemocultivo Bact-Alert, que en nuestra institución es considerado como el medio de cultivo *estándar*.

El obtener resultados más tempranos, permite determinar patrones de susceptibilidad en menor tiempo y por consiguiente instituir un tratamiento oportuno y dirigido. Sin mencionar que con esta ventaja, lograrían disminuirse

los costos en la atención médica, así como los días de estancia intrahospitalaria.

Otra ventaja que ofrece el hemocultivo RCM-PEDIÁTRICO es la inoculación de un volumen sanguíneo menor (0.5ml) para el aislamiento bacteriano, lo cual no es posible con otros medios de cultivo. La menor extracción sanguínea disminuirá también la presencia de anemia iatrogénica muy frecuente en las unidades de cuidados intensivos.

En relación a los aislamientos bacterianos, se encontró que el agente causal predominante en nuestros pacientes fue *Staphylococcus epidermidis*., correspondiendo al 61% de los hemocultivos de Bact-Alert y 57% de los hemocultivos de RCM-PEDIÁTRICO. Concordando con lo reportado en la literatura en otras instituciones de otros países también se han reportado ambos *Staphylococcus* como los principales causantes de sepsis, sobre todo de inicio tardío.

Hoy en día los cocos gram-positivos continúan siendo una causa importante de infecciones relacionadas a su estancia hospitalaria, incluyendo los meticilino resistentes y *Staphylococcus coagulasa negativos*, éstos últimos responsables del 70% de los casos de sepsis en recién nacidos con bajo peso al nacer. Otro factor importante asociado a esta situación es el uso prolongado de catéteres, infusión intravenosa de lípidos, uso de nutrición parenteral y ventilación mecánica. Y en el caso de los microorganismos gram-negativos, la colonización e infección se han visto favorecidas por factores como el bajo peso al nacimiento, uso prolongado de catéteres, empleo de presión positiva continua de vías aéreas, uso de bloqueadores H2 o inhibidores de la bomba de protones y patología del tracto gastrointestinal.

En la sepsis relacionada a estancia hospitalaria anteriormente conocida como nosocomial, el microorganismo más frecuentemente aislado es el *S. epidermidis* entre los gram-positivos y *E. coli* y *Klebsiella* entre los gram-negativos. Llama la atención la frecuencia creciente de la identificación de *Candida spp*, que al igual que ocurre con *S. epidermidis*, se relaciona con el aumento de la presión antibiótica en las unidades de cuidados intensivos neonatales y a la mayor supervivencia de los RNMBP por su inmadurez inmunológica.

XIII. CONCLUSIONES:

1. Nuestro estudio mostró que los hallazgos clínicos por sí mismos, presentaron baja sensibilidad y alta especificidad, para diagnóstico de sepsis neonatal.
2. El llenado capilar prolongado e hipotensión se presentaron como hallazgos tardíos en pacientes con sospecha de sepsis neonatal, observándose una alta posibilidad diagnóstica postprueba en el nomograma de Fagan.
3. El hemocultivo RCM-PEDIÁTRICO tiene una baja sensibilidad y alta especificidad en pacientes que cursan con datos sugestivos de sepsis

neonatal, reportando resultados en 24 horas antes que el hemocultivo Bact-Alert, considerado como *estándar de oro* en nuestro hospital.

4. El crecimiento bacteriano para RCM-PEDIÁTRICO se logró con inoculación de 0.5ml de sangre, representando una ventaja para RNMBP al nacimiento, recién nacidos con restricción en el crecimiento intrauterino y aquellos que cursaron con prematuridad.

5. La tasa de aislamiento bacteriano registrada para el hemocultivo RCM-PEDIÁTRICO corresponde a lo registrado en la literatura, donde se reporta una tasa de aislamiento del 10-30%. Con predominio de microorganismos gram-positivos como *S. epidermidis*, seguido de microorganismos gram-negativos como *E. coli* y *K. pneumoniae*.

Finalmente, creemos que el éxito del tratamiento de la sepsis neonatal incluyen el lavado de manos antes y después de explorar a un paciente, invasión mínima de los recién nacidos además del reconocimiento precoz de la infección, de una terapia antimicrobiana apropiada, de un adecuado soporte respiratorio y cardiovascular intensivos, así como un abordaje integral del paciente y una adecuada evaluación de los hallazgos clínicos y de laboratorio, con apoyo de estudios bacteriológicos que permitan un análisis en el menor tiempo posible, para ofrecer un diagnóstico y tratamiento oportunos.

XIV. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Salas A, et al; Documento de Consenso SECIP-SEUP sobre manejo de sepsis grave y Shock séptico en pediatría, 2009; 24 (2): 123-144.
2. Lozano-Ascencio R, et al; Mortalidad en menores de cinco años mexicanos en 2004: hacia los objetivos del milenio, *Med Hosp Infant Mex* 2005; 162 (8): 162-175.
3. Coto Cotallo G; Protocolo diagnóstico-terapéutico de la sepsis neonatal, *BOLPEDIATR* 2006; 46(1): 125-134.
4. Patiño N, Sepsis Neonatal, *Rev Soc Bol Ped* 2007; 46 (3): 225 – 333.
5. 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.
6. Segura CE, Arredondo GJL. Sepsis neonatal, Temas actuales en infectología. México D. F.: Intersistemas, 2000: 323-335.
7. Flores-Herrera, H, et al; Identificación molecular de bacterias causales de sepsis neonatal mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). *Acta Pediatr Mex* 2009; 30(3): 148-55
8. Ramírez S, Hernández B, Carlos O. Brote Nosocomial por *Klebsiella ozaenae* en cuneros patológicos del hospital general de zona no. 32 IMSS. *Rev Enf Infec Pediatr* 2002, 16(61).
9. Gervaix A, Galetto-Lacour A, Gueron T, Vadas L, Zamora S, Suter S, Girardin E. Usefulness of procalcitonin and C-reactive protein rapid tests for the management of children with urinary tract infection. *Pediatr Infect Dis J* 2001; 20:507-11.
10. 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.
11. Weinstein M, Towns ML, Quarterny SM, Murphy JR, Lichtenstein KA. The clinical significance of positive blood cultures; a comprehensive analysis of 500 episodes of bacteremia and fungemia in adults. II. Clinical observations with special reference to factors influencing prognosis. *Rev. Infec. Dis.* 1983; 5:54-70.
12. Baron EJ, Weinstein MP, Dunne WM, Yagupsky P, Welch DF y Wilson DM. 2005 Cumitech 1C: Blood Cultures IV. Editor Coord. E.J. Baron. ASM Press. Washington DC. E.E.U.U.
13. Everett ED, Hirschmann JV. Transient bacteremia and endocarditis prophylaxis. *Medicine.* 1984; 56:61-77.
14. Kellog JA, Ferrentino FL, Liss J, Shapiro I, Bankert DA. Frequency of low-

level bacteremia in infants from birth to two months of age. *Pediatr. Infect. Dis.* 1997; 16:381-385.

15. Kellogg JA, Manzella JP, Bankert DA. Frequency of low-level bacteremia in children from birth to fifteen years of age. *J. Clin. Microbiol.* 2000; 38:2181-2185.

16. Abramson. MA, Sexton, DJ. Methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* primary bacteremia: at what costs? *Cont. Hosp. Epidemiol.* 1999; 20: 408-411

17. Santos F, Mankarious LA, Roland DE. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Pediatric Otitis. *Arch Otolaringol Head Neck Surg.* 2000; 126: 1383 - 1385

18. Guevara Tovar Marcela. Infecciones nosocomiales en la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales del Hospital Infantil de México Federico Gómez. Tesis de Neonatología. UNAM.

19. De la Cruz González R. Castellanos Cruz C, Villalón Pichardo L, Alcántar Curiel D, Hernández Rodríguez C H Realización de la prueba de Kirby Bauer a partir del medio de cultivo RCM. *Pediátrico.*, Trabajo presentado en el XXXIII Congreso Nacional de Químicos Clínicos. Toluca, septiembre de 2009 Federación Nacional de Químicos Clínicos CONAQUIC.

20. Hulley SB, Cummings SR, Browber WS, Grady D, Hearst N y Newman TB. *Designing Clinical Research.* Lippincot Williams & Wilkins. 2003, págs. 75,91

21. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Fifteenth Informational Supplement. *Clinical and Laboratory Standards Institute.* 2005; 5(1) 167 págs.

22. Karthikeyan G, Premkumar K. Neonatal sepsis: staphylococcus aureus as the predominant pathogen. *Indian J Pediatr* 2001;68(8):715–7.

23. Kuruvilla KA, Pillai S, Jesudason M, et al. Bacterial profile of sepsis in a neonatal unit in south India. *Indian Pediatr* 1998;35(9):851–8.