



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA**

**INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS  
ISMAEL COSÍO VILLEGAS**

**Comparación y evaluación de BioFire FilmArray® panel de  
identificación de cultivos de sangre, en el laboratorio de  
microbiología clínica del Instituto Nacional de Enfermedades  
Respiratorias.**

**TESIS**

para obtener el título de

**QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

PRESENTA

**Ana Karen Corona Nava**

**Director de tesis**

Dr. Eduardo Becerril Vargas

**Asesora de tesis**

Q.F.B. Patricia Vidal Millán



**Ciudad de México, 2019**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.



**“La inteligencia es la capacidad de adaptarse al cambio”**

**-Stephen Hawking**

## **JURADO**

**PRESIDENTE** Q.F.B. MARÍA DE LAS MERCEDES ZAMUDIO DURÁN

**VOCAL** DR. EDUARDO BECERRIL VARGAS

**SECRETARIO** Q.F.B. PATRICIA VIDAL MILLÁN

**SUPLENTE** Q.F.B. LILIA TEQUIANES BRAVO

**SUPLENTE** Q.F.B. ADRIANA HERNÁNDEZ REYES

## ***Agradecimientos***

A la **UNAM**, por ser mi segundo hogar a lo largo de tantos años de mi vida, donde cada uno de ellos me enseñó a crecer personal y profesionalmente hasta convertirme en una persona entregada y dedicada a mi carrera.

Al **INER** por abrirme sus puertas para realizar mi servicio social y tesis. Me deja grandes experiencias y conocimientos que no pude haber aprendido de alguien con mayor preparación que de sus trabajadores, dentro los cuales quiero agradecer a **Cecilia Iturria, Fernando Morales, Luis Narváez, Christian Mireles, Baruch Montiel, Mario Mújica, Mariela Segura, Josué Vázquez y Nancy Chávez**, quienes me dieron las herramientas necesarias para desarrollarme como profesional. Gracias por sus enseñanzas y su amistad.

Al **Dr. Eduardo Becerril**, mi jefe y director de tesis, por su incondicional apoyo desde que ingrese al INER. Lo admiro, respeto y aprecio.

A mi asesora **Q.F.B. Patricia Vidal**, por su gran entrega y dedicación como profesora y por seguir compartiendo tanta experiencia con sus alumnos.

A mis **sinodales** por su tiempo y experiencia, que permitieron enriquecer y concluir este trabajo.

## ***Dedicatoria***

A mis padres, **Gabriela Nava** y **Roberto Corona**, mis más grandes pilares de vida, quienes me han brindado su amor y apoyo en cada momento. Todo lo que he logrado ha sido también esfuerzo y entrega de ustedes. Son mi mayor ejemplo de vida. Los amo infinitamente.

A mi hermano **Alejandro Corona**, que aun con lo difícil que pueda ser nuestra relación, tu compañía es indispensable en mi vida. Te amo.

A mi pareja, **Julio Olivares**, por tu amor y apoyo a lo largo de tantos años. Creo que nunca he sido una persona fácil de llevar, pero siempre te has mantenido leal a mi lado, brindándome cada día tu cariño, amistad, amor y alegría. Te amo.

A mi amiga **Elizabeth González**, por siempre estar en los buenos momentos y en los malos, por ese carisma que te caracteriza, y por ser siempre mi confidente, la vida no me pudo haber dado otra mejor amiga.

A mis amigos del CCH Oriente y FES Zaragoza, por todos los momentos compartidos, las enseñanzas, las risas, el llanto y tantas experiencias que marcaron mi vida, especialmente **Daniel Romero, Alan Escutia, Mariana Mayen** y **Perla Corona**.

## Índice general

Índice general.....	1
Índice de figuras .....	3
Índice de cuadros.....	4
Abreviaturas.....	5
Resumen.....	7
Introducción.....	9
<b>Marco teórico.....</b>	<b>11</b>
<i>Hemocultivo.....</i>	<i>11</i>
<i>Bacteriemia.....</i>	<i>13</i>
<i>Resistencia bacteriana.....</i>	<i>16</i>
<i>Identificación bacteriana.....</i>	<i>18</i>
<i>BioFire FilmArray® Blood Culture Identification (BCID) Panel.....</i>	<i>19</i>
<i>Procedimiento de la prueba BioFire FilmArray®.....</i>	<i>20</i>
<i>Conceptos de la PCR.....</i>	<i>22</i>
<i>Principios del funcionamiento de la prueba BioFire FilmArray®.....</i>	<i>24</i>
<b>Planteamiento del problema.....</b>	<b>26</b>

<b>Pregunta de investigación.....</b>	<b>26</b>
<b>Hipótesis.....</b>	<b>26</b>
<b>Objetivo general.....</b>	<b>27</b>
<b>Objetivos específicos.....</b>	<b>27</b>
<b>Diseño experimental.....</b>	<b>27</b>
<b>Material y métodos.....</b>	<b>28</b>
<b>Resultados.....</b>	<b>30</b>
<b>Discusión.....</b>	<b>39</b>
<b>Conclusiones.....</b>	<b>44</b>
<b>Perspectivas.....</b>	<b>45</b>
<b>Referencias.....</b>	<b>46</b>

## Índice de figuras

<b>Figura 1.</b> Procedimiento de la técnica BioFire FilmArray®.....	21
<b>Figura 2.</b> Desnaturalización del ADN.....	22
<b>Figura 3.</b> Hibridación de los cebadores.....	23
<b>Figura 4.</b> Extensión del cebador.....	23
<b>Figura 5.</b> Etapas del proceso de PCR durante un análisis del sistema BioFire FilmArray®.....	25
<b>Figura 6.</b> Distribución por grupo de edad y género de los pacientes con sospecha de bacteriemia incluidos en el estudio.....	30
<b>Figura 7.</b> Tipos de bacteriemias presentes en los pacientes incluidos en el estudio.....	32
<b>Figura 8.</b> Reporte de tinción de Gram en frascos de hemocultivo positivos.....	34

## Índice de cuadros

<b>Cuadro 1.</b> Microorganismos y genes de resistencia de la prueba BioFire FilmArray®.....	20
<b>Cuadro 2.</b> Características generales de los pacientes con bacteriemias diagnosticadas por BioFire FilmArray® y cultivo de sangre.....	31
<b>Cuadro 3.</b> Procedencia de los hemocultivos.....	32
<b>Cuadro 4.</b> Relación entre el tipo de bacteriemia con la sospecha clínica, el tipo de hemocultivo y número de microorganismos.....	33
<b>Cuadro 5.</b> Microorganismos identificados por el cultivo de sangre y la prueba de BioFire FilmArray®.....	35
<b>Cuadro 6.</b> Identificación de microorganismos en cultivos monomicrobianos por el método tradicional o cultivo y la prueba BioFire FilmArray®.....	37
<b>Cuadro 7.</b> Identificación de microorganismos en cultivos polimicrobianos por el método tradicional o cultivo y la prueba BioFire FilmArray®.....	38

## Abreviaturas

® - Marca registrada

**BSI-** Infecciones del torrente sanguíneo

**PCR-** Reacción en cadena de la polimerasa

**INER-** Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias

**mL-** Mililitro

**CO<sub>2</sub>-** Dióxido de carbono

**%-** Por ciento de

**h-** Horas

**VIH-** Virus de la inmunodeficiencia humana

**UCI-** Unidad de cuidados intensivos

**UTI-** Unidad de terapia intensiva

**β-** Beta

**PBP-** Proteína de unión a la penicilina

**BLEE-** Betalactamasas de espectro extendido

**Sme-** Enzima de *Serratia marcescens*

**IMI-** Imipenem

**NmcA-** Non-metalo-carbapenemasa A

**GES-** Guayana de espectro extendido

**KPC-** *Klebsiella pneumoniae* carbapenemasa

**OXA-** Oxacilina

**IMP-** Imipenemasas

**VIM-** Metalo-β-lactamasa codificada por integrón de Verona

**SPM**- Sao Paulo metalo- $\beta$ -lactamasa  
**GIM**- Imipenemasa alemana  
**SIM**- Imipenemasa de Seúl  
**AST**- Pruebas de susceptibilidad antimicrobiana  
**BCID**- Identificación de cultivo de sangre  
**FDA**- Administración de Alimentos y Medicamentos  
**MecA**- Meticilina  
**VanA y VanB**- Vancomicina  
**ADN**- Ácido desoxirribonucleico  
**ARN**- Ácido ribonucleico  
**RT**- Transcripción inversa  
**Taq**- Enzima de *Thermus aquaticus*  
**dNTP**- Desoxirribonucleótidos-trifosfato  
**IVD**- Diagnóstico *in vitro*  
**nmPCR**- PCR multiplex anidada  
**SNC**- Sistema nervioso central  
**EPOC**- Enfermedad pulmonar obstructiva crónica

## Resumen

En los últimos años se han implementado medidas para mejorar la detección y el manejo de las infecciones del torrente sanguíneo (BSI), sin embargo, las tasas de hospitalización continúan aumentando. La identificación rápida y precisa de patógenos de hemocultivos positivos y la selección de la terapia antimicrobiana adecuada son fundamentales para el tratamiento de pacientes con bacteriemia.

En el año 2017 el INER implemento un nuevo método de identificación bacteriana, una prueba de PCR múltiple capaz de identificar el agente infeccioso en un tiempo estimado de 1 h. El presente trabajo tuvo como objetivo conocer la sensibilidad y especificidad del sistema BioFire FilmArray® BCID Panel, comparado con el cultivo de sangre o “estándar de oro” para la identificación de microorganismos causantes de bacteriemia y el perfil de susceptibilidad en el INER.

Se realizó un estudio observacional retrospectivo y transversal de 42 expedientes clínicos de pacientes ingresados al INER, cuyas muestras presentaron desarrollo de microorganismos, a los cuales se les realizó identificación por cultivo de sangre o “estándar de oro” y por el sistema BioFire FilmArray®. Las variables clínicas fueron registradas en hojas de recolección de datos, posteriormente se realizó un análisis estadístico con el paquete SPSS 21.

Se determinó una sensibilidad del 96.4% y una especificidad del 50% por el sistema BioFire FilmArray® comparado con el estándar de oro, omitiendo los microorganismos identificados por el cultivo pero que estaban fuera del panel de identificación del BioFire FilmArray®. Por otra parte, considerando los

microorganismos que fueron identificados por ambas pruebas, se obtuvo una sensibilidad del 71.1% y una especificidad del 50%.

Las características que presentaron los pacientes con hemocultivos positivos fueron: mayor prevalencia en pacientes del género masculino (64%), así como en personas mayores de 60 años (26%), la comorbilidad asociada con mayor frecuencia fue VIH (33%). El mayor número de hemocultivos fue proveniente del servicio de Urgencias (26%). El 55% de las bacteriemias se clasificaron como secundarias y el 40% como bacteriemia primaria, de las cuales el 15% fue polimicrobiana, y el 85% monomicrobiana. Los principales microorganismos causantes de bacteriemia en pacientes del INER fueron: *E. coli* (12), *P. aeruginosa* (7) y *K. pneumoniae* (3). No se detectó ningún marcador genético de resistencia a los antibióticos.

La mediana en horas de la emisión de resultados fue estadísticamente significativa ( $p < 0.001$ ), entre el sistema BioFire FilmArray® (31,31) y el cultivo de sangre (123,42).

De acuerdo a los resultados, se concluye que la prueba de BioFire FilmArray® debe considerarse solamente como una ayuda para el diagnóstico de bacteriemias y no como único método de identificación.

## **Introducción**

Las infecciones del torrente sanguíneo (BSI, por sus siglas en inglés) representan una causa importante de morbilidad y mortalidad en humanos. Gran parte de las decisiones médicas para el tratamiento de los pacientes se toman en función de los resultados de laboratorio, considerando al cultivo de sangre el procedimiento diagnóstico más importante para identificar el agente causal cuando se sospecha de infección del torrente sanguíneo. Sin embargo, la insuficiente sensibilidad que este procedimiento representa cuando el paciente ha recibido previamente antibióticos, así como la presencia de microorganismos de lento crecimiento y/o intracelulares, ha generado la necesidad de implementar nuevos métodos de diagnóstico que permitan la detección correcta y oportuna de dichos microorganismos.

La introducción temprana de un tratamiento antimicrobiano adecuado, así como las pruebas de susceptibilidad, permiten una reducción en el espectro de fármacos administrados, limitando el impacto negativo de los tratamientos combinados y /o el uso de antibióticos de amplio espectro que representan el aumento en la prevalencia de cepas resistentes.

En 2012, BioFire Diagnostics lanzó el panel de identificación de cultivos de sangre FilmArray®, una prueba de PCR múltiple para la identificación de patógenos bacterianos y levaduras de hemocultivos positivos. Su implementación como prueba diagnóstica de bacteriemia en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER), fue evaluada en conjunto con el cultivo de sangre o

“estándar de oro” para determinar la especificidad, sensibilidad y rapidez con que este nuevo método sea capaz de ofrecer un diagnóstico oportuno y eficaz.

## **Marco teórico**

A pesar de la implementación de medidas para mejorar la detección y el manejo de las infecciones del torrente sanguíneo<sup>1</sup>, las tasas de hospitalización por BSI continúan aumentando<sup>2</sup> y sigue siendo una preocupación sanitaria crítica<sup>3</sup>.

La detección de bacteriemia constituye una de las prioridades del Servicio de Microbiología Clínica, dada su importancia diagnóstica y pronóstica<sup>4</sup>.

### *Hemocultivo*

La evaluación de los pacientes con sospecha de BSI incluye rutinariamente hemocultivos, que arrojan un diagnóstico etiológico óptimo y brindan la oportunidad de realizar pruebas de susceptibilidad antimicrobiana para guiar la intervención terapéutica cuando sea necesario<sup>5</sup>.

Los hemocultivos se realizan actualmente con instrumentos totalmente automatizados que detectan el crecimiento microbiano mediante el análisis de la liberación de  $CO_2$  utilizando sensores fluorescentes o colorimétricos; alternativamente, los cambios de presión en el espacio de cabeza de la botella debido al consumo y la producción de gases se utilizan para indicar el crecimiento microbiano<sup>5</sup>.

Sin embargo, a pesar de estos avances, el tiempo total de resultado de los hemocultivos es demasiado largo para permitir a los médicos tomar decisiones inmediatas sobre el tratamiento<sup>6</sup>.

La utilidad del hemocultivo para detectar BSI está directamente influenciada por la recolección de muestras óptimas solo de pacientes con hallazgos clínicos compatibles con BSI<sup>7</sup>.

Siempre que sea posible, se deben tomar de dos a cuatro conjuntos de muestras de sangre de los sitios de punción venosa independientes y, para los pacientes adultos, cada grupo debe consistir en 20-40 mL de sangre. El volumen de sangre extraída de bebés y niños está menos prescrito, pero debe basarse en la edad del niño y no debe exceder el 1% del volumen total de sangre del paciente. Está claro que el volumen total de sangre cultivada de pacientes adultos es directamente proporcional al rendimiento de microorganismos recuperados. Esto es una consecuencia del hecho de que la mayoría de los pacientes adultos con BSI tienen concentraciones circulantes muy bajas de microorganismos viables. El volumen de sangre inadecuado o la recolección de un único conjunto de hemocultivos reducen significativamente la sensibilidad de la prueba y también hace que la interpretación de los resultados sea mucho más difícil<sup>8, 9, 10</sup>.

La contaminación que representa hasta un tercio de los hemocultivos positivos puede ocurrir cuando los microorganismos que no están presentes en el torrente sanguíneo se introducen en el frasco durante el muestreo de sangre. Incluso si los hemocultivos se extraen en condiciones asépticas, las contaminaciones suelen deberse a organismos que pueden estar presentes en el medio ambiente y que pueden formar parte de la biota cutánea<sup>11</sup>.

En muchas ocasiones es difícil diferenciar entre un hemocultivo positivo que corresponde a una infección verdadera o un hemocultivo contaminado que no requiere tratamiento<sup>12</sup>.

Junto con los signos y síntomas clínicos, varios parámetros pueden ayudar a identificar con precisión el significado de hemocultivos positivos:

1) El número de frascos positivos, el número de pares de hemocultivos positivos y la proporción de cultivos positivos<sup>13</sup>.

2) El sitio del muestreo-catéter versus punción venosa<sup>14</sup>.

3) El tiempo hasta la positividad, incluido el tiempo diferencial hasta la positividad entre pares recolectados en diferentes sitios de muestreo<sup>14</sup>.

4) Concordancia del resultado de la tinción de Gram con la identificación final en el cultivo<sup>15</sup>.

Cuando se excluye la contaminación, el organismo detectado e identificado en el hemocultivo probablemente esté presente en el torrente sanguíneo en el momento del muestreo, lo que define una bacteriemia<sup>16</sup>.

### *Bacteriemia*

La bacteriemia es, junto con la neumonía asociada a la ventilación mecánica, la infección nosocomial más frecuente en los pacientes críticos y se asocia a una importante morbilidad<sup>4</sup>.

Se define como bacteriemia la presencia de bacterias en la sangre que se pone de manifiesto por el aislamiento de éstas en los hemocultivos, bien por primera vez o repetidamente dentro de los siete días siguientes al primero positivo, siempre que se tratase del mismo microorganismo y en el mismo contexto clínico del paciente<sup>4,17</sup>.

La bacteriemia causa frecuentemente sepsis y shock séptico, por lo que la administración precoz y apropiada de antimicrobianos influye directamente en el pronóstico del paciente<sup>18, 19</sup>.

La bacteriemia se clasifica atendiendo al momento de aparición, en nosocomial, comunitaria o asociada a los cuidados sanitarios. Atendiendo al origen se dividen en primarias (o de origen desconocido) y secundarias a una infección localizada y en general documentada microbiológicamente. En función del patrón clínico se diferencian también en transitorias y sostenidas<sup>4</sup>.

La bacteriemia transitoria corresponde a un único episodio de hemocultivos positivos debido a la presencia de microorganismos durante un corto lapso de tiempo en el torrente sanguíneo (menos de 30 minutos). En general, son causados por la manipulación de la mucosa contaminada o por los actos invasivos respiratorios, gastrointestinales o urogenitales<sup>16</sup>.

Por el contrario, un hallazgo de múltiples botellas positivas extraídas en diferentes momentos es un signo de bacteriemia sostenida. Los hemocultivos positivos sostenidos se encuentran en presencia de infecciones endovasculares como la endocarditis. En tales casos, un gran número de hemocultivos se vuelven positivos

sin ninguna diferencia en el tiempo de positividad para las botellas extraídas simultáneamente de diferentes sitios. Por el contrario, se sospecha una infección de catéter cuando los hemocultivos extraídos de un catéter se vuelven positivos más de 2 h antes del hemocultivo extraído de una venopunción<sup>20</sup>.

La bacteriemia sostenida debe diferenciarse de la bacteriemia persistente, que se define por la persistencia de hemocultivos positivos a pesar de la introducción de un tratamiento antiinfeccioso. La bacteriemia persistente generalmente se debe a organismos resistentes a la prescripción antibiótico, a la presencia de un segundo organismo o al sitio de infección que es inaccesible para el antibiótico (por ejemplo, trombosis séptica)<sup>21</sup>.

El diagnóstico microbiológico tradicional, basado en el aislamiento de un microorganismo para su posterior identificación y prueba de susceptibilidad utilizando técnicas bioquímicas estándar, es un proceso que generalmente toma hasta 48-72 h. En pacientes con bacteriemia, el tratamiento inadecuado puede duplicar la mortalidad, que aumenta en un 7,6% cada hora que el ajuste de la terapia se retrasa<sup>22, 23</sup>. Así mismo, la mortalidad asociada con la bacteriemia varía dependiendo de su origen (intrahospitalario o no) y de diversos factores del paciente como la edad, la presencia de hipotensión arterial, la ausencia de fiebre, la insuficiencia renal, el cáncer, la infección por VIH, focos infecciosos (pulmonares, gastrointestinales), la estancia en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) y el uso de catéteres intravenosos, entre otros<sup>24, 25, 26</sup>.

Los hospitales son considerados un excelente compartimento para la selección de bacterias resistentes y multirresistentes. La propia utilización de antimicrobianos y su uso inadecuado se consideran factores esenciales que determinan esta situación<sup>27</sup>. Esta resistencia lleva no solo al aumento de la morbilidad y la mortalidad, sino también a estancias hospitalarias más prolongadas, lo que incrementa los costos de hospitalización y de la atención sanitaria<sup>28</sup>.

### *Resistencia bacteriana*

La relación entre la resistencia a los antimicrobianos y la aptitud microbiológica difiere según el organismo, el tipo de terapia con antibióticos y el mecanismo de resistencia<sup>29</sup>.

Diferentes factores han contribuido al incremento de las infecciones en los hospitales: el uso cada vez mayor de técnicas diagnósticas y terapéuticas agresivas (catéteres intravenosos, endoscopias, intervenciones), el empleo de potentes inmunosupresores y las estancias hospitalarias prolongadas, entre otros<sup>30</sup>.

La aparición de cepas de enterobacterias resistentes, bacterias productoras de betalactamasa de espectro extendido (BLEE) y cepas productoras de carbapenemasas ha planteado desafíos adicionales<sup>31</sup>.

Se ha demostrado una correlación directa entre la resistencia de las bacterias gramnegativas y la mortalidad del paciente, el costo de la atención del paciente y

la duración de la estancia en el hospital<sup>32</sup>. Las enterobacterias son una de las familias bacterianas que presentan con mayor frecuencia resistencia a múltiples antibióticos. El principal mecanismo de resistencia a los antibióticos  $\beta$ -lactámicos en enterobacterias es el enzimático, debido a la producción de  $\beta$ -lactamasas, éstas son enzimas que inactivan penicilinas y cefalosporinas, siendo capaces de romper el puente amida del anillo penicilánico o cefalosporánico y producir derivados ácidos sin propiedades bactericidas, esto evita que dichos antibióticos puedan unirse a las proteínas transportadoras (PBP) y de esta forma impedir la formación de la pared bacteriana, por lo que no se logra la lisis bacteriana<sup>33,34</sup>. Las carbapenemasas son miembros de las  $\beta$ -lactamasas de las clases A, B y D moleculares. Las enzimas de clase A y D tienen un mecanismo hidrolítico a base de serina, mientras que las enzimas de clase B son metalo- $\beta$ -lactamasas que contienen zinc en el sitio activo. El grupo de la clase A carbapenemasa incluye miembros de las familias Sme, IMI, NmcA, GES y KPC. De estos, los carbapenemasas KPC son los más prevalentes, que se encuentran principalmente en plásmidos en *Klebsiella pneumoniae*. Las carbapenemasas de clase D consisten en  $\beta$ -lactamasas de tipo OXA frecuentemente detectadas en *Acinetobacter baumannii*. Las metalo- $\beta$ -lactamasas pertenecen a las familias IMP, VIM, SPM, GIM y SIM y se han detectado principalmente en *Pseudomonas aeruginosa*<sup>35</sup>.

Las investigaciones microbiológicas rápidas, la identificación del agente causal y prueba de susceptibilidad antimicrobiana (AST) son por lo tanto muy importantes para:

1. Ajustar la terapia antimicrobiana y evitar un tratamiento ineficiente<sup>21</sup>.
2. Reducir el espectro de la terapia antimicrobiana para limitar la selección de cepas resistentes<sup>21</sup>.
3. Limitar la toxicidad y el impacto negativo en las bacterias beneficiosas de algunos antibióticos de amplio espectro o terapia combinada<sup>21</sup>.

### *Identificación bacteriana*

En la última década comenzaron a utilizarse numerosos instrumentos que permiten realizar la identificación de bacterias en tiempos significativamente menores, entre ellos cabe mencionar Vitek 2 Compact (bioMérieux, Marcy L'Étoile, Francia), MicroScan (MicroScan Systems, INC) y Phoenix (Becton Dickinson, Franklin Lakes). Estos instrumentos realizan estudios de identificación y sensibilidad a partir de un cultivo monomicrobiano, obteniéndose los resultados en 6 a 18 horas<sup>36</sup>.

Estudios recientes mostraron que la identificación rápida de patógenos bacterianos de hemocultivos positivos, junto con intervenciones de administración antimicrobiana, mejoraron el tiempo de inicio del tratamiento y la transición a la intervención antimicrobiana óptima junto con la reducción de los costos de atención médica<sup>37</sup>. Sin embargo, el alcance de tal impacto aún no se ha evaluado por completo<sup>38</sup>.

La evolución de la biología molecular en las últimas décadas, en particular la evolución de las técnicas de extracción de ácidos nucleicos y los métodos de amplificación, así como los métodos de PCR multiplexados, proporcionan herramientas para una identificación rápida de organismos recuperados en hemocultivos<sup>23, 39</sup>.

### *BioFire FilmArray® Blood Culture Identification (BCID) Panel*

La identificación rápida de los agentes etiológicos de la infección del torrente sanguíneo y sus genes de resistencia mediante métodos moleculares permite una terapia antibiótica temprana, que puede mejorar los resultados del paciente, reducir la mortalidad e influir en la duración de la estadía de los pacientes sépticos<sup>40</sup>.

En 2013, la FDA aprobó un ensayo rápido y automatizado de PCR múltiple, la identificación de cultivo de sangre FilmArray (BCID) (BioFire Diagnostics, Salt Lake City, UT), que identifica directamente patógenos comunes, incluidos 7 géneros / especies de bacterias grampositivas, 10 géneros / especies de bacterias gramnegativas, y 5 especies de *Candida*, así como marcadores de resistencia a meticilina (*mecA*), vancomicina (*vanA / B*) y carbapenems (*bla<sub>KPC</sub>*) directamente de un hemocultivo positivo (Cuadro 1)<sup>40</sup>. El ensayo requiere aproximadamente 2 minutos de tiempo de procesamiento de la muestra y 1 hora de tiempo del instrumento (que incluye aislamiento, amplificación y detección de ADN), lo que promete acortar el tiempo de identificación del patógeno en 1 a 2 días<sup>41</sup>.

Bacterias Gram positivas	Bacterias Gram negativas	Levadura
<i>Enterococcus</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	<b>Enterobacteriaceae</b>	<i>Candida glabrata</i>
<b>Staphylococcus</b>	Complejo <i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Candida krusei</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida parapsilosis</i>
<b>Streptococcus</b>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Candida tropicalis</i>
<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<b>Genes de resistencia a los antibióticos</b>
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Proteus</i>	<i>mecA</i> : resistencia a meticilina
<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Serratia marcescens</i>	<i>vanA/B</i> : resistencia a vancomicina
	<i>Haemophilus influenzae</i>	KPC: resistencia al carbapenem
	<i>Neisseria meningitidis</i> (encapsulada)	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	

Cuadro 1. Microorganismos y genes de resistencia de la prueba BioFire FilmArray®.

### Procedimiento de la prueba BioFire FilmArray®

Se indica a continuación un resumen general del procedimiento de la prueba (Figura 1):

1. Extraiga el cartucho de su envase sellado al vacío, es importante mantener los cartuchos en su envase protector hasta el momento de uso<sup>42</sup>.
2. Coloque el cartucho en la Pouch Loading Station (Estación de carga de cartuchos) de BioFire FilmArray®<sup>42</sup>.
3. Cargue la Hydration Solution (Solución de hidratación) en el cartucho. Cuando se introduce la Hydration Solution en el cartucho se rehidratan los reactivos liofilizados contenidos en el accesorio del cartucho<sup>42</sup>.

4. Extraiga el medio del hemocultivo del frasco, añádalo al vial de Sample Buffer (Tampón para muestra) y mezcle. El Sample Buffer contiene los reactivos que estimulan la unión de los ácidos nucleicos a perlas magnéticas para su aislamiento<sup>42</sup>.
5. Cargue la mezcla de muestra/tampón en el cartucho. Un control de proceso incluido en el accesorio del cartucho se introduce en la muestra. El control de proceso vigila todos los procesos críticos que se producen en el cartucho<sup>42</sup>.
6. Transfiera el cartucho al instrumento/Module e inicie el análisis<sup>42</sup>.
7. Visualice los resultados en el informe al finalizar la prueba<sup>42</sup>.

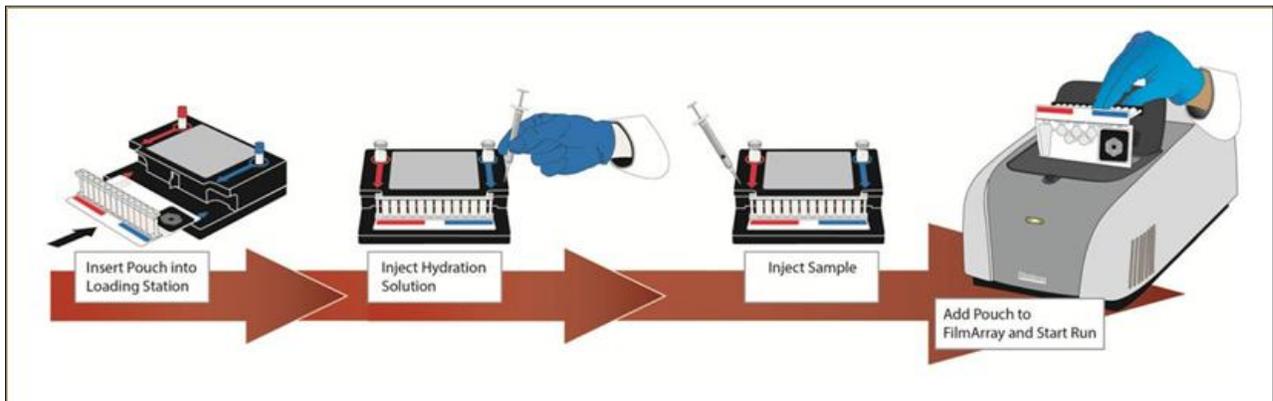


Figura 1. Procedimiento de la técnica BioFire FilmArray<sup>®</sup><sup>42</sup>.

## Conceptos de la PCR

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es el proceso de producir miles de millones de copias de ADN. Las copias se realizan separando las cadenas del ADN por medio de fusión y utilizando cada cadena como plantilla para la generación de una nueva cadena. Para identificar patógenos específicos utilizando la PCR se incluyen cebadores en la reacción PCR (pequeños fragmentos de una secuencia de ADN específica), dirigidos a segmentos únicos del genoma del patógeno. Si el organismo de interés tiene un genoma de ARN, se ejecuta un proceso denominado transcripción inversa (RT) antes de la PCR para convertir la plantilla de ARN en una plantilla de ADN (RT-PCR)<sup>43</sup>.

Hay 3 pasos en un ciclo de PCR:

**Paso 1: Desnaturalización:** La muestra se calienta a aproximadamente 94 °C para desnaturalizar o “fundir” el ADN bicatenario diana en cadenas simples<sup>43</sup>.



Figura 2. Desnaturalización del ADN<sup>43</sup>.

**Paso 2: Hibridación de los cebadores:** La muestra se enfría hasta aproximadamente 60 °C, lo que permite que los cebadores se unan o “hibriden” con las cadenas de ADN diana en un lugar específico<sup>43</sup>.



Figura 3. Hibridación de los cebadores<sup>43</sup>.

**Paso 3: Extensión del cebador:** Una enzima (polimerasa Taq del ADN) se une al complejo ADN/cebador y hace una copia del ADN bicatenario original (dNTP A, G, T o C) que es complementaria de la secuencia de nucleótidos del ADN diana<sup>43</sup>.

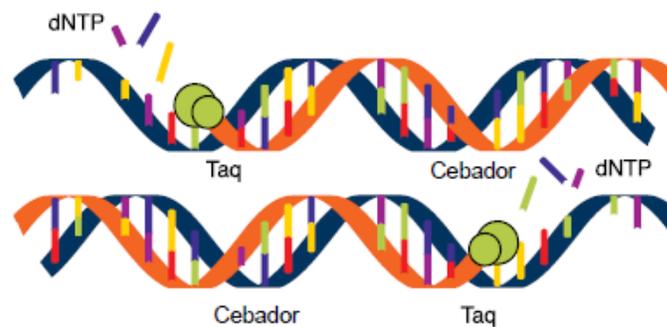


Figura 4. Extensión del cebador<sup>43</sup>.

Al final de un ciclo, cada fragmento de ADN bicatenario diana ha sido duplicado. Las nuevas copias de ADN actúan como plantillas en los ciclos siguientes<sup>43</sup>.

## *Principios del funcionamiento de la prueba BioFire FilmArray®*

BioFire FilmArray® es un sistema automatizado de diagnóstico *in vitro* (IVD) que utiliza PCR multiplex anidada (nmPCR) y análisis de fusión de alta resolución para detectar e identificar múltiples dianas de ácido nucleico en los especímenes clínicos<sup>43</sup>.

1. Purificación del ácido nucleico: la purificación del ácido nucleico tiene lugar en los tres primeros blísteres del cartucho. La muestra se lisa por agitación (homogeneización de perlas) y el ácido nucleico liberado se captura, lava y eluye mediante tecnología de perlas magnéticas. Estos pasos requieren aproximadamente diez minutos<sup>42</sup>.

2. Primera etapa de la PCR múltiple: la solución de ácido nucleico purificada se combina con una mezcla maestra precalentada para iniciar el termociclado de la PCR múltiple. El efecto de la 1a etapa de la PCR es enriquecer los ácidos nucleicos diana presentes en la muestra<sup>42</sup>.

3. Segunda etapa de la PCR: los productos de la primera etapa de la PCR se diluyen y mezclan con reactivos de PCR nuevos que contienen un colorante de fijación al ADN bicatenario (LCGreen® Plus, BioFire Diagnostics, LLC). Esta solución se distribuye en la matriz de la 2a etapa de la PCR. Los pocillos individuales de la matriz contienen los cebadores de los diferentes ensayos (cada uno por triplicado) dirigidos a las secuencias de ácido nucleico específicas de cada uno de los patógenos detectados, así como el material de la plantilla de control. Estos cebadores están “anidados” o internalizados en los productos específicos de

la 1a etapa de la reacción múltiple, que potencia tanto la sensibilidad como la especificidad de las reacciones<sup>42</sup>.

4. Análisis de fusión del ADN: después de la 2a etapa de la PCR, la temperatura aumenta lentamente y se controla la fluorescencia de cada pocillo, que se analiza para generar una curva de fusión. La temperatura a la que funde cada producto de la PCR específico (temperatura de fusión o  $T_m$ ) es consistente y predecible, y el programa BioFire FilmArray® evalúa automáticamente los datos de los pocillos replicados de cada ensayo para notificar los resultados<sup>42</sup>.

El programa BioFire FilmArray® controla el funcionamiento del instrumento/Module, recoge y analiza los datos y genera automáticamente un informe de la prueba al final del análisis (Figura 2)<sup>42</sup>.

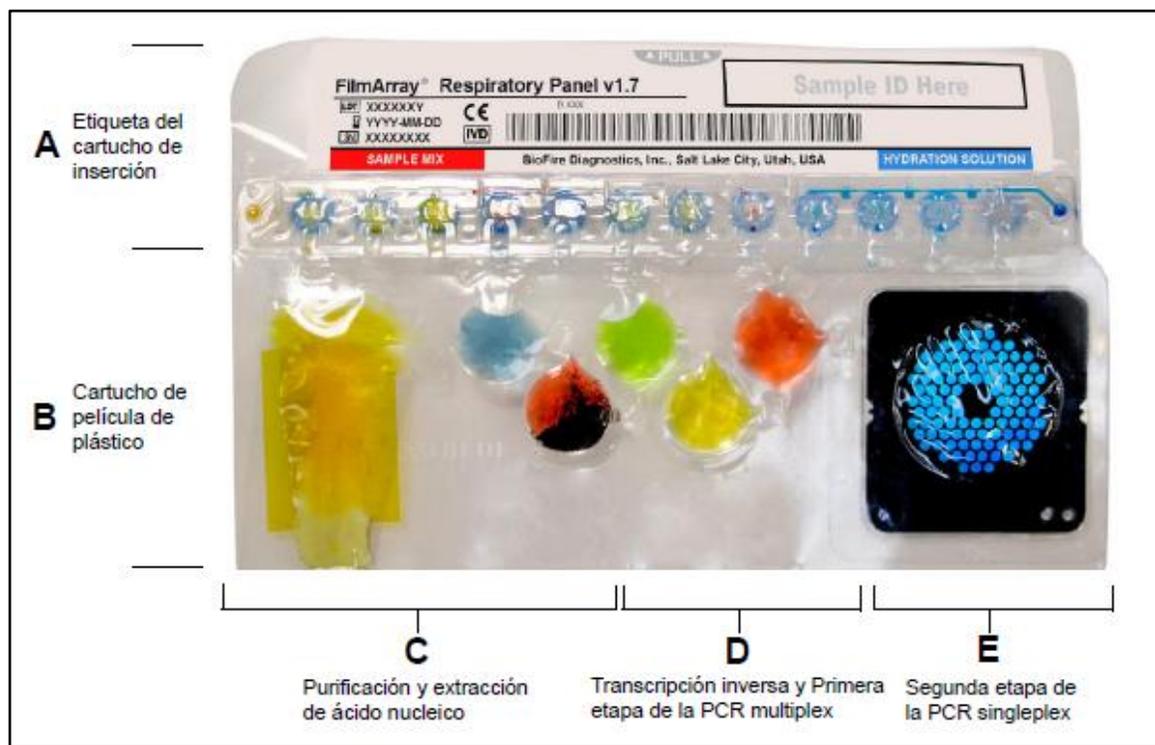


Figura 5. Etapas del proceso de PCR durante un análisis del sistema BioFire FilmArray®<sup>43</sup>.

## **Planteamiento del problema**

Actualmente las infecciones del torrente sanguíneo son una causa importante de morbilidad y mortalidad en los sistemas de salud, debido a la falta de pruebas diagnósticas que permitan realizar una identificación rápida de los microorganismos causantes de bacteriemia y sus mecanismos de resistencia. Ante la sospecha de una bacteriemia se debe iniciar un tratamiento antimicrobiano empírico, práctica que conlleva a un incremento en las tasas de resistencias antimicrobianas, mortalidad y costos en la atención. Es prioritario el uso de pruebas diagnósticas rápidas que nos permitan iniciar un tratamiento antimicrobiano adecuado y específico.

## **Pregunta de investigación**

¿Cuál es la sensibilidad y especificidad del sistema BioFire FilmArray® para la identificación de microorganismos causantes de bacteriemia en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, comparado con el cultivo de sangre o “estándar de oro”?

## **Hipótesis**

La sensibilidad y especificidad del método BioFire FilmArray® BCID Panel será mayor en comparación con el cultivo de sangre o “estándar de oro”.

## **Objetivo general**

Conocer la sensibilidad y especificidad del sistema BioFire FilmArray® BCID Panel comparado con el cultivo de sangre o “estándar de oro” para la identificación de microorganismos causantes de bacteriemia y el perfil de susceptibilidad en el INER.

## **Objetivos específicos**

- a) Describir las principales características de los pacientes con bacteriemias diagnosticadas en el INER.
- b) Determinar los principales agentes causales de bacteriemia en el INER.
- c) Comparar los tiempos de entrega de resultados entre la prueba de BioFire FilmArray® y el cultivo de sangre.
- d) Conocer la frecuencia de los principales genes asociados a resistencias de las bacterias grampositivas y gramnegativas causantes de infecciones del torrente sanguíneo en pacientes atendidos en el INER.

## **Diseño experimental**

Tipo de estudio.

- Observacional
- Retrospectivo
- Transversal
- Población de estudio

Se incluirán todos los expedientes de los pacientes, cuyas muestras de hemocultivo fueron recibidas en el laboratorio de microbiología clínica del INER, que presentaron desarrollo de microorganismos y a las cuales se les hayan realizado identificación por cultivo de sangre o “estándar de oro” y por medio del sistema BioFire FilmArray®.

## **Material y métodos**

### a) Lugar del estudio

Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias. Departamento de microbiología.

### b) Material

- Bitácora de registro de resultados del BioFire FilmArray®.
- Bitácora de registro de resultados del área de bacteriología.
- Expedientes de pacientes con resultados positivos de hemocultivos en el INER.
- Hojas de recolección de datos

### c) Procedimiento del estudio.

Los resultados se obtendrán por medio de la bitácora de resultados del BioFire FilmArray® en el laboratorio de microbiología clínica. Se obtendrán de los expedientes clínicos de pacientes con una bacteriemia diagnosticada por Hemocultivos las variables clínicas, el tratamiento antimicrobiano al momento de obtener las muestras y el tiempo que se demoró la entrega de resultados mediante

la identificación por el sistema BioFire FilmArray® y el cultivo de sangre o “estándar de oro”. Todas las variables clínicas se registrarán en hojas de recolección de datos, se realizará un análisis descriptivo mediante la obtención de medianas, frecuencias y porcentajes. Se calculará la sensibilidad y especificidad comparando los resultados positivos y negativos por ambos métodos. Para el análisis estadístico se utilizará el paquete estadístico SPSS 21.

d) Número necesario de sujetos de investigación.

Se incluirán todos los expedientes de las muestras procesadas desde la adquisición del BioFire FilmArray® hasta la elaboración del presente proyecto, con una cantidad mínima de 30 expedientes, de acuerdo con el tipo de estudio.

## Resultados

Durante el periodo del estudio se evaluaron los expedientes clínicos de 42 pacientes con frascos de hemocultivo positivos, a los que se les realizó el cultivo de sangre y la prueba de BioFire FilmArray®. Se presento un mayor número de casos de pacientes con bacteriemia en el género masculino, con una mayor frecuencia entre los 21 y 30 años de edad (Figura 3).

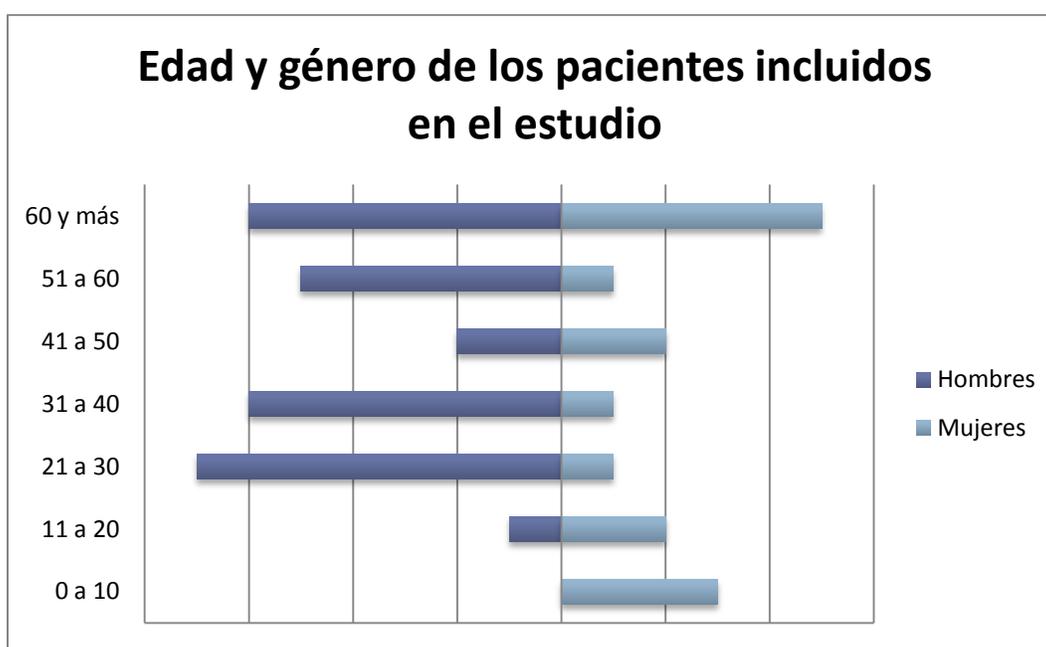


Figura 6. Distribución por grupo de edad y género de los pacientes con sospecha de bacteriemia incluidos en el estudio.

La mediana de edad de los pacientes con bacteriemia fue de 41 ( $\pm$  23,35) años. Se observó un mayor número de casos de bacteriemia en personas mayores de 60 años, 26% (11/42), así como una mayor prevalencia en hombres 64% (27/42) respecto a mujeres 36 % (15/42), (Cuadro 2).

El 81% (34/42) de los paciente con bacteriemia presentaban alguna comorbilidad. Las comorbilidades más frecuentes fueron infección por Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) y Diabetes Mellitus (Cuadro 2).

CARACTERÍSTICA	n= 42
Edad promedio (años $\pm$ DE)	40 $\pm$ 14.4
<b>0 a 10 años (%)</b>	3 (7)
<b>11 a 20 años (%)</b>	3 (7)
<b>21 a 30 años (%)</b>	8 (19)
<b>31 a 40 años (%)</b>	7 (17)
<b>41 a 50 años (%)</b>	4 (10)
<b>50 a 60 años (%)</b>	6 (14)
<b>&gt;60 años</b>	11 (26)
Sexo	
<b>Femenino (n, %)</b>	15 (36)
<b>Masculino (n, %)</b>	27 (64)
Comorbilidades	
<b>Infección por VIH</b>	14 (33)
<b>Diabetes Mellitus</b>	11 (26)
<b>Hipertensión arterial sistémica</b>	6 (14)
<b>Cáncer</b>	3 (7)

Cuadro 2. Características generales de los pacientes con bacteriemias diagnosticadas por BioFire FilmArray® y cultivo de sangre.

En relación a la procedencia de los hemocultivos, en once casos los pacientes estaban ingresados en el servicio de urgencias, nueve en el servicio clínico 4, especializado en la atención de pacientes con VIH, siete en el servicio clínico 2 (Tuberculosis), cuatro en el servicio clínico 5 (EPOC) y en la UCI/UTI, y los siete restantes provenían de pacientes ingresados en otros cuatro servicios clínicos. La mediana de días de estancia en la UCI fue de 10 ( $\pm$  6,97) (Cuadro 3).

Servicio clínico	n=42
Urgencias	11 (26)
Servicio clínico VIH	9 (21)
Servicio clínico de Tuberculosis	7 (17)
Servicio clínico de EPOC	4 (10)
UCI	4 (10)
Neumología Pediátrica	3 (7)
Otros	4 (10)

Cuadro 3. Procedencia de los hemocultivos.

En 40 pacientes se confirmó la presencia de microorganismos en sangre periférica. El 55% (22/40) de las bacteriemias se clasificaron como secundaria y el 40% (16/40) como bacteriemia primaria. Solo hubo 2 pacientes que presentaron una bacteriemia relacionada a catéter (Figura 4). En uno de los pacientes incluidos en el estudio no se confirmó la presencia de microorganismos en sangre periférica ni en el cultivo ni por el método de PCR. En otro paciente hubo crecimiento de *Aspergillus spp.* el cual se consideró un contaminante y no un patógeno real.

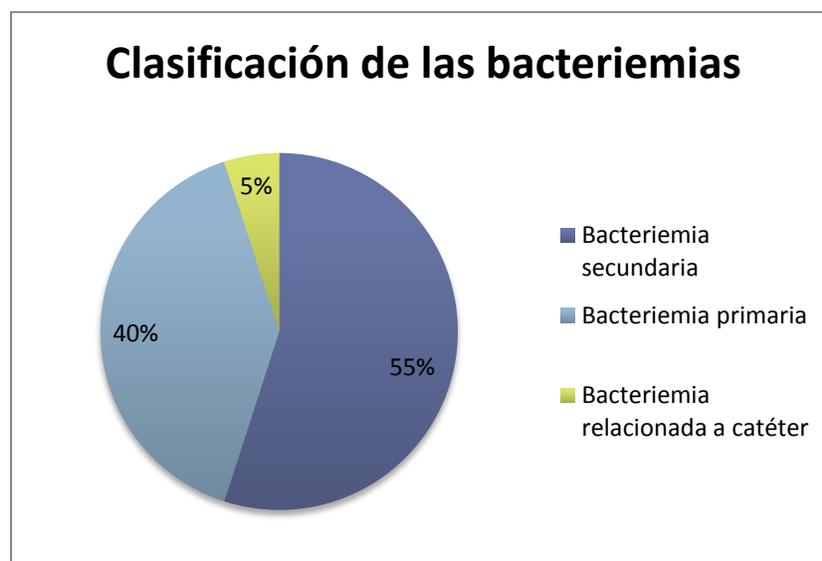


Figura 7. Tipos de bacteriemias presentes en los pacientes incluidos en el estudio.

La sospecha clínica en el momento de la toma del hemocultivo fue variada, predominando las infecciones pulmonares. El 45% de los pacientes con bacteriemia tenían sospecha o diagnóstico de neumonías (nosocomiales, adquiridas en la comunidad o asociadas a ventilación mecánica) y el 10% de tuberculosis pulmonar. Los hemocultivos se obtuvieron a partir de una vía periférica en el 87% (35) de los casos y el 13% (5) restantes a partir de una vía central (Cuadro 3).

En el 15% (6/40) la bacteriemia estaba causada por más de un microorganismo, y en el 85% restante las bacteriemias fueron monomicrobianas (Cuadro 3).

	Bacteriemia Secundaria (n =22)	Bacteriemia primaria n = 16	Bacteriemia relacionada a catéter n=2	Total n=40
<b>SOSPECHA CLÍNICA</b>				
Neumonía nosocomial (n%)	10 (45%)	0 (0% )	0	<b>10 (25%)</b>
Neumonía adquirida en la comunidad (n %)	3 (14%)	3 (19%)	0	<b>6 (15%)</b>
Pielonefritis (n%)	3 (14%)	0 (0% )	0	<b>3 (8%)</b>
Criptococosis meníngea (n%)	2 (9%)	0 (0% )	0	<b>2 (5%)</b>
Neumonía asociada a ventilación mecánica (n%)	1 (5%)	1 (6%)	0	<b>2 (5%)</b>
Empiema (n%)	1 (5%)	0 (0% )	0	<b>1 (3%)</b>
Mediastinitis	1 (5%)	0 (0% )	0	<b>1 (3%)</b>
Endocarditis	1 (5%)	0 (0% )	0	<b>1 (3%)</b>
Tuberculosis pulmonar (n%)	0	3 (19%)	1 (50%)	<b>4 (10%)</b>
Histoplasmosis (n%)	0	2 (13%)	1 (50%)	<b>3 (8%)</b>
Cáncer (n%)	0	3 (19%)	0	<b>3 (8%)</b>
Tuberculosis diseminada (n%)	0	1 (6%)	0	<b>1 (3%)</b>
Tromboembolia pulmonar (n%)	0	1 (6% )	0	<b>1 (3%)</b>
Neumocistosis	0	1 (6% )	0	<b>1 (3%)</b>
EPOC	0	1 (6% )	0	<b>1 (3%)</b>
<b>Tipo de hemocultivo</b>				
Vía central	3 (14%)	0	2 (100%)	<b>5 (13%)</b>
Vía Periférica	19 (86%)	16 (100%)	0	<b>35 (87%)</b>
<b>Clasificación por el número de microorganismo</b>				

<b>Monomicrobiana</b>	20 (91%)	12 (75%)	2(100%)	<b>34 (85%)</b>
<b>Polimicrobiana</b>	2 (9%)	4 (25%)	0	<b>6 (15%)</b>

Cuadro 4. Relación entre el tipo de bacteriemia con la sospecha clínica, el tipo de hemocultivo y número de microorganismos.

De acuerdo a lo reportado en la tinción de Gram, se observaron estructuras fúngicas y bacterianas en 38 muestras de cultivos positivos, en 84% (32/38) se observaron bacilos gramnegativos, en el 13% (5/38) microorganismos levaduriformes y solo en una muestra fueron observados cocos grampositivos (Figura 5).

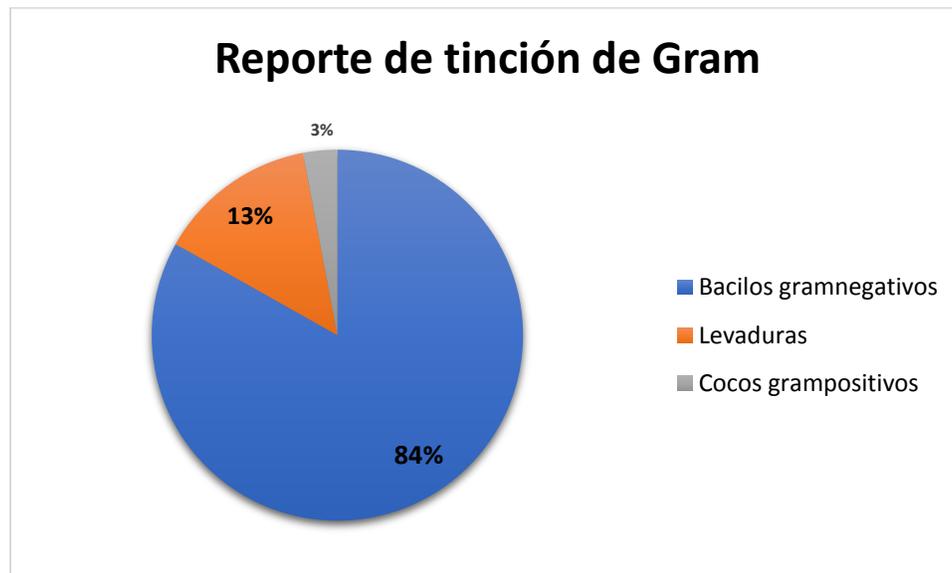


Figura 8. Reporte de tinción de Gram en frascos de hemocultivo positivos.

Mediante el método tradicional, cultivo e identificación por el sistema VITEK® 2 se identificaron un total de 42 microorganismos y el sistema BioFire FilmArray® identificó un total de 34 microorganismos. *E. coli* (12), *P. aeruginosa* (7) y *K. pneumoniae* (3) fueron los gramnegativos más frecuentemente identificados (Cuadro 4).

	<b>Cultivo</b>	<b>FilmArray®</b>
<b>Gramnegativos</b>	<i>Escherichia coli</i> (12)	<i>Escherichia coli</i> (12)
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (7)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (7)
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (3)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (3)
	Complejo <i>enterobacter cloacae</i> (1)	Complejo <i>enterobacter cloacae</i> (1)
	<i>E. cloacae</i> (1)	Complejo <i>enterobacter cloacae</i> (1)
	<i>Acinetobacter baumannii</i> (1)	<i>Acinetobacter baumannii</i> (1)
	<i>Citrobacter freundii</i> (1)	Enterobacterias (1)
	<i>Haemophilus influenzae</i> (1)	<i>Haemophilus influenzae</i> (1)
<b>Grampositivos</b>	<i>Enterococo avium</i> (1)	Enterococo (1)
	<i>Staphylococcus aureus</i> (1)	<i>Staphylococcus aureus</i> (1)
	Sin crecimiento bacteriano	<i>Streptococcus agalactiae</i> (1)
	<i>Staphylococcus epidermidis</i> (1)	No Detectado
<b>Levaduras</b>	<i>Candida albicans</i> (2)	<i>Candida albicans</i> (3)
	Sin crecimiento bacteriana (0)	<i>Candida parapsilosis</i> (1)
<b>Fuera del panel</b>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> (1)	No Detectado

<i>Aspergillus spp.</i> (1)	No Detectado
<i>Ochrobactrum anthropi</i> (1)	No Detectado
<i>Pseudomonas putida</i> (1)	No Detectado
<i>Acinetobacter haemolyticus</i> (2)	No Detectado
<i>Aeromonas hydrophila/caviae</i> (1)	No Detectado
Bacilo gramnegativo (1)	No Detectado
<i>Cryptococcus neoformans</i> (2)	No Detectado

Cuadro 5. Microorganismos identificados por el cultivo de sangre y la prueba de BioFire FilmArray®.

El sistema de PCR-múltiple fue concordante con el estándar de oro en 30 casos, incluyendo el resultado del paciente que no presentó desarrollo de microorganismos por ninguno de los dos métodos, mientras que en 14 de estos no hubo concordancia. Los microorganismos que no detectó el BioFire FilmArray® son microorganismos que no son parte del espectro de identificación: *Stenotrophomonas maltophilia* (1), *Ochrobactrum anthropi* (1), *Pseudomonas putida* (1), *Acinetobacter haemolyticus* (2), *Aeromonas hydrophila/caviae* (1), *Staphylococcus epidermidis* (1), *Cryptococcus neoformans* (2) y *Aspergillus sp* (1). Otro caso de no concordancia fue la detección a través del método convencional de un *Citrobacter freundii* (1) el cual solo fue identificado como positivo para algún miembro de la familia *Enterobacteriaceae*.

Mediante el sistema de PCR se reportaron cuatro levaduras, tres *Candida albicans* y una *Candida parapsilosis*, también un *Streptococcus agalactiae*, microorganismo que no tuvo desarrollo en los medios de cultivo.

En el análisis de los pacientes con bacteriemia causada por un solo microorganismo, hubo concordancia en cuanto a la identificación en 21 casos; el sistema BioFire FilmArray® detectó un caso más por *Candida albicans*, sin embargo, no fueron identificados dos casos con desarrollo de *Cryptococcus neoformans*, mismos que fueron identificados solamente por el sistema VITEK® 2 (Cuadro 5).

Para la identificación de bacterias por PCR múltiple BioFire FilmArray® se determinó una sensibilidad del 92.6% y una especificidad del 50% comparándolo con el método tradicional.

	Cultivo	FilmArray®
<b>Cultivos monobacterianos</b>		
<b>Gramnegativos</b>	<i>Escherichia coli</i> (9)	<i>Escherichia coli</i> (9)
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (5)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (5)
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (2)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (2)
	<i>Acinetobacter baumannii</i> (1)	<i>Acinetobacter baumannii</i> (1)
	<i>Haemophilus influenzae</i> (1)	<i>Haemophilus influenzae</i> (1)
	<i>Citrobacter freundii</i> (1)	<i>Enterobacterias</i> (1)
<b>Grampositivos</b>		
	<i>Staphylococcus aureus</i> (1)	<i>Staphylococcus aureus</i> (1)
<b>Levaduras</b>		
	<i>Candida albicans</i> (2)	<i>Candida albicans</i> (3)
	<i>Cryptococcus neoformans</i> (2)	No detectado

Cuadro 6. Identificación de microorganismos en cultivos monomicrobianos por el método tradicional o cultivo y la prueba BioFire FilmArray®.

En relación a las bacteriemias polimicrobianas se encontró una concordancia en la identificación de dos microorganismos solo en el 50% de los casos (3/6).

(Cuadro 6).

Cultivo	FilmArray®
<b>Cultivos polimicrobianos</b>	
<i>P. aeruginosa/ Stenotrophomonas maltophilia</i> (1)	<i>P. aeruginosa/ Stenotrophomonas maltophilia</i> (0)
<i>P. aeruginosa/S. agalactie</i> (0)	<i>P. aeruginosa/S. agalactie</i> (1)
<i>E. Coli/P. aeruginosa</i> (1)	<i>E.coli/P. aruginosa</i> (1)
<i>E. cloacae/K. pneumoniae</i> (1)	<i>E. cloacae/K. pneumoniae</i> (1)
<i>E. coli/Enterococcus avium</i> (1)	<i>E. coli/Enterococcus</i> (1)
<i>Enterobacter cloacae/Candida parapsilosis</i> (0)	<i>Enterobacter cloacae/Candida parapsilosis</i> (1)

Cuadro 7. Identificación de microorganismos en cultivos polimicrobianos por el método tradicional o cultivo y la prueba BioFire FilmArray®.

La mediana en horas entre la recepción de la muestra y la obtención de un resultado por parte del servicio de microbiología clínica fue de 31,31 ( $\pm$  19,35) con el sistema BioFire FilmArray®, tiempo menor comparado con el empleado en el diagnóstico convencional, con una mediana de 123,42 ( $\pm$  71,28), siendo estadísticamente significativa ( $p < 0.001$ )

En 15 casos se realizó cambio de tratamiento antimicrobiano, mientras que en 12 pacientes se agregó un antibiótico y solo en 3 hubo suspensión de antibiótico con el resultado por el sistema BioFire FilmArray®.

De acuerdo a los expedientes, el 38% (16/42) de las personas incluidas en el análisis fallecieron. En el 81% (13/16) de las personas que murieron, se detectó el agente causal de la bacteriemia por el sistema BioFire FilmArray®. No se observó diferencia estadísticamente significativa entre los pacientes que murieron con un BioFire FilmArray® detectado y los que murieron sin poder identificar el microorganismo mediante este método ( $P = 0.17$ ).

## Discusión

Se determinó una sensibilidad del 96.4% y una especificidad del 50% por el sistema BioFire FilmArray® comparado con el estándar de oro, omitiendo los microorganismos identificados por el cultivo pero que estaban fuera del panel de identificación del BioFire FilmArray®. Por otra parte, considerando los microorganismos que fueron identificados por ambas pruebas, se obtuvo una sensibilidad del 71.1% y una especificidad del 50%. De acuerdo a estos resultados, el sistema de BioFire FilmArray® es una prueba capaz de identificar un alto porcentaje de pacientes con bacteriemia, de la misma forma que por el estándar de oro pero en un tiempo considerablemente menor. En lo que respecta a la especificidad, el bajo porcentaje se debe a los pacientes clasificados como falsos negativos, debido a que no presentaron desarrollo en el cultivo de sangre.

El mayor número de casos de bacteriemia sin distinción de género se presentó a la edad de 60 años o más, esto puede deberse entre otros factores a la diferencia de estado inmunológico entre una persona mayor comparada con las edades más jóvenes, así como el incremento de las comorbilidades asociadas. Pazos et al. (17) en un estudio prospectivo donde se analizaron un total de 320 hemocultivos, la edad media fue 66,9 años (IC 95%: 65-69) con predominio de varones (59%), otros autores indican resultados similares, en esta investigación también predominó el sexo masculino (64%) entre los 21 y 30 años de edad. Se sabe que la presencia de bacteriemia incrementa el riesgo de muerte en un paciente hasta 14 veces, siendo la edad avanzada una variable de mal pronóstico (17),

La infección por VIH fue una de las principales comorbilidades presente en los pacientes con sospecha de bacteriemia, con un 33%, seguido de la Diabetes Mellitus con 26%, enfermedades que se asocian a un mayor riesgo de bacteriemia, Sabatier, 2009 (12). A pesar de la disminución de la tasa de infecciones oportunistas como consecuencia de la introducción del tratamiento antirretroviral de alta actividad, la infección por el VIH sigue siendo una causa de mayor riesgo de bacteriemias con mortalidad estimada a 30 días mayor que en pacientes que no tienen esta condición, Sánchez et al. 2018 (26).

Por lo mencionado, el servicio clínico 4, especializado en la atención de pacientes con VIH, presentó el segundo lugar de mayor procedencia de los hemocultivos, con 21%, solamente rebasado por el servicio de Urgencias, 26%.

Diversos estudios entre los que destacan: Kirn, 2013 (7) y Sabatier, 2009 (12), muestran un papel cada vez mayor de las bacterias gramnegativas entre los aislamientos de sangre. En este estudio se identificaron principalmente *E. coli* (12), *P. aeruginosa* (7) y *K. pneumoniae* (3). De acuerdo a lo reportado por estos microorganismos representan casi siempre una infección verdadera y son considerados la principal causa de bacteriemias secundarias a infecciones respiratorias, tales como la neumonía, que fue el principal diagnóstico (45%) presentado por los pacientes durante su estancia hospitalaria en el INER.

En relación a las bacterias grampositivas solo el 50% de los casos se identificó por ambas pruebas, siendo estas *S.aureus* y Enterococo. Es importante considerar las manifestaciones clínicas del paciente para descartar una posible contaminación, ya que de acuerdo a Kim, 2013 (7), la recuperación de Estreptococos del grupo viridans, estafilococos coagulasa negativos (CoNS) y enterococos han demostrado que representan BSI verdadero en 38%, 15% y 78% de los casos, respectivamente.

*Con lo que respecta a levaduras Candida albicans* fue la más frecuente en este estudio, sin embargo, la presencia de una *Candida parapsilosis*, supone el incremento de otras especies de *Candida* que no se presentaban con anterioridad, una de las posibles causas es la amplia difusión de antifúngicos utilizados como profilaxis. En lo que respecta a estos microorganismos, se observó una notable diferencia en cuanto al tiempo de identificación entre el cultivo y la prueba de BioFire FilmArray®, considerando que por el método tradicional, una vez que se reporta crecimiento en el medio de cultivo, este debe pasar al área de micología para poder realizar la identificación, lo que incrementa el tiempo de emisión de resultados.

El aumento de pacientes inmunocomprometidos y con ello la invasión de un número cada vez mayor de microorganismos que no pueden ser eliminados por los mecanismos de defensa debido a las alteraciones de la inmunidad, sugieren la importancia del cultivo de sangre en comparación con la prueba de BioFire

FilmArray®, donde este último no pudo identificar la presencia de *Cryptococcus neoformans*, patógeno que al no ser diagnosticado en vía hematológica es capaz de diseminarse y llegar al sistema nervioso central (SNC), representando un peor pronóstico de vida para el paciente.

Así mismo las bacteriemias monomicrobianas con un porcentaje del 85%, se presentaron en mayor proporción respecto a las bacteriemias polimicrobianas, 15%. En lo que respecta a las bacterias gramnegativas y grampositivas de cultivos monomicrobianos se presentó una buena concordancia entre ambos métodos, sin embargo en la identificación de levaduras es notable la diferencia al no poder determinar en el BioFire FilmArray® otra levadura que no sea *Candida*. Dentro de los cultivos polimicrobianos se presentó solamente una concordancia del 50%, lo que representa un problema al momento de establecer un tratamiento que actúe para ambos microorganismos.

El tiempo de entrega de resultados entre ambas pruebas fue estadísticamente significativo, con una mediana en horas de 31,31 ( $\pm$  19,35) por parte del sistema BioFire FilmArray®, comparada con una mediana de 123,42 ( $\pm$  71,28) horas por parte del diagnóstico convencional o cultivo de sangre. Este resultado sugiere la relevancia de esta prueba al cumplir con uno de los principales propósitos de su implementación en el Instituto, que es la rápida identificación del patógeno causante de bacteriemia.

Se determinó la relevancia del resultado emitido por la prueba de BioFire FilmArray® sobre la decisión médica en lo que respecta al seguimiento, cambio o suspensión de tratamiento antimicrobiano. Aun con el menor tiempo de entrega de resultados que implico el sistema de BioFire FilmArray® se consideró importante el número de defunciones reportadas, sin embargo deben considerarse todos los factores que involucran la alteración de la salud del paciente, siendo las más importantes la presencia de VIH, el consumo de tabaco y el uso de ventilación mecánica durante la estancia hospitalaria.

No se detecto ningún marcador genético de resistencia a los antibióticos por parte de los microorganismos identificados por el sistema BioFire FilmArray®, sin embargo, debido a la existencia de diferentes mecanismos de resistencia, no es posible indicar susceptibilidad hacia los diferentes medicamentos.

## **Conclusiones**

El limitar la realización de hemocultivos a pacientes que presenten los signos y síntomas característicos de bacteriemia, así como la recolección adecuada de muestras y la interpretación precisa de los resultados por parte del personal de salud, juegan un papel determinante en la eficacia del uso de estos nuevos métodos de diagnóstico.

Es importante la manera en como los resultados son proporcionados a los diferentes grupos multidisciplinares encargados del manejo del paciente, así como la comunicación entre estos, con la finalidad de hacer realmente útil estas pruebas.

La prueba de BioFire FilmArray® debe considerarse solamente como una ayuda para el diagnóstico de bacteriemias y no como único método de identificación, considerando que la principal limitación de esta prueba es el hecho de que no proporciona la información de susceptibilidad. Por lo tanto los métodos convencionales como lo es el cultivo de sangre, sigue siendo el estándar de oro capaz de identificar organismos presentes en el hemocultivo y proporcionar su susceptibilidad.

## **Perspectivas**

-Establecer criterios para la toma de hemocultivos solamente de pacientes con sospecha de bacteriemia.

-Implementar nuevos métodos de identificación bacteriana, y que a su vez proporcionen el perfil de susceptibilidad.

## Referencias

1. Dellinger R., Carlet J., Masur H., et al. Surviving Sepsis Campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock. Crit Care Med [Internet]. 2004 [citado 10 Mayo 2018]; 32 (3):858–73. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15090974>
2. Agency for Healthcare Research and Quality [Internet]; 2008 [actualizado 10 Julio 2010; citado 10 Mayo 2018]. Disponible en: [http://www.hcup-us.ahrq.gov/reports/factsandfigures/2008/exhibit4\\_1.jsp](http://www.hcup-us.ahrq.gov/reports/factsandfigures/2008/exhibit4_1.jsp)
3. Hall M., Williams S., DeFrances A., et al. Inpatient Care for Septicemia or Sepsis: a Challenge for Patients and Hospitals. NCHS Data Brief [Internet]. 2011 [citado 10 Mayo 2018]; (62):1-8. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22142805>
4. Rodríguez JC., Guna R., Larrosa N., et al. Diagnóstico microbiológico de la bacteriemia y la fungemia: hemocultivos y métodos moleculares [Internet]. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC); 2017 [citado 10 Mayo 2018]. Disponible en: <https://seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia62.pdf>
5. Mancini N., Carletti S., Ghidoli N., et al. The era of molecular and other non-culture-based methods in diagnosis of sepsis. Clin Microbiol Rev [Internet]. 2010 Jan [citado 12 Mayo 2018]; 23(1):235-51. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20065332>

6. Valles J., Rello J., Ochagavia A., et al. Community-acquired bloodstream infection in critically ill adult patients: impact of shock and inappropriate antibiotic therapy on survival. *Chest* [Internet]. 2003 [citado 12 Mayo 2018]; 123(5):1615-24. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12740282>
7. Kirn T., Weinstein M. Update on blood cultures: how to obtain, process, report, and interpret. *Clin Microbiol Infect* [Internet]. 2013 [citado 13 Mayo 2018]; 19(6): 513–520. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1198743X14615093>
8. Cockerill F., Wilson J., Vetter E., et al. Optimal testing parameters for blood cultures. *Clin Infect Dis* [Internet]. 2004 [citado 13 Mayo 2018]; 38(12): 1724-1730. Disponible en: <https://academic.oup.com/cid/article/38/12/1724/304691>
9. Lee A., Mirrett S., Reller L., et al. Detection of bloodstream infections in adults: How many blood cultures are needed?. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2007 [citado 13 Mayo 2018]; 45(11): 3546–3548. Disponible en: <https://jcm.asm.org/content/45/11/3546.short>
10. Gaur AH., Giannini MA., Flynn PM., et al. Optimizing blood culture practices in pediatric immunocompromised patients: Evaluation of media types and blood culture volume. *Pediatr Infect Dis J* [Internet]. 2003 [citado 13 Mayo 2018]; 22(6): 545–552. Disponible en: [https://journals.lww.com/pidj/Abstract/2003/06000/Optimizing\\_blood\\_culture\\_practices\\_in\\_pediatric.11.aspx](https://journals.lww.com/pidj/Abstract/2003/06000/Optimizing_blood_culture_practices_in_pediatric.11.aspx)

11. Wilson I., Cornish N., Moore M., et al. Effects of volume and site of blood draw on blood culture results. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2009 [citado 13 Mayo 2018]; 47(11): 3482–5. Disponible en: <https://jcm.asm.org/content/47/11/3482.short>
12. Sabatier C., Peredo R., Valles J. Bacteriemia en el paciente crítico. *Med Intensiva* [Internet]. 2009 [citado 13 Mayo 2018]; 33(7):336–345. Disponible en: <http://scielo.isciii.es/pdf/medinte/v33n7/revision.pdf>
13. Hall KK., Lyman JA. Updated review of blood culture contamination. *Clin Microbiol Rev* [Internet]. 2006 [citado 15 Mayo 2018]; 19(4):788–802. Disponible en: <https://cmr.asm.org/content/19/4/788.short>
14. Kassis C., Rangaraj G., Jiang Y., et al. Differentiating culture samples representing coagulase-negative staphylococcal bacteremia from those representing contamination by use of time-to-positivity and quantitative blood culture methods. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2009 [citado 15 Mayo 2018]; 47(10):3255–60. Disponible en: <https://jcm.asm.org/content/47/10/3255.short>
15. Guzmán AM., Sánchez T., De la Barra R. Análisis de la monitorización de cinco indicadores de calidad del hemocultivo en un hospital universitario en Chile 2009-2011. *Rev Chilena Infectol* [Internet] 2012 [citado 15 Mayo 2018]; 29 (4): 406-411. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v29n4/art07.pdf>
16. Laupland KB., Church DL. Population-based epidemiology and microbiology of community-onset bloodstream infections. *Clin Microbiol Rev* [Internet]. 2014 [citado 15 Mayo 2018]; 27(4):647–64. Disponible en: <https://cmr.asm.org/content/27/4/647.short>

17. Pazos R., Fernández R., Paz I., et al. Factores pronósticos de la bacteriemia: estudio prospectivo. *An. Med. Interna (Madrid)* [Internet]. 2001 Ago [citado 17 Enero 2019]; 18(8): 23-28. Disponible en: [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0212-71992001000800004&lng=es](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-71992001000800004&lng=es).
18. Bearman G., Wenzel R. Bacteremias: a leading cause of death. *Arch Med Res* [Internet]. 2005 [citado 15 Mayo 2018]; 36: 646-59. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16216646>
19. Wisplinghoff H., Bischoff T., Tallent S., et al. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin Infect Dis* [Internet] 2004; [citado 15 Mayo 2018]; 39: 309-17. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15306996>
20. Blot F., Schmidt E., Nitenberg G., et al. Earlier positivity of centralvenous versus peripheral blood cultures is highly predictive of catheter-related sepsis. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2009 [citado 15 Mayo 2018]; 36 (1):105–9. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC124817/>
21. Opota O., Croxatto A., Prod G., et al. Blood culture-based diagnosis of bacteremia: state of the art. *Clin Microbiol Infect* [Internet]. 2015 [citado 15 Mayo 2018]; 21(4): 313–322. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1198743X15001834>
22. Navarroa F., Coll P. Speeding up antimicrobial susceptibility testing. *Enferm Infecc Microbiol Clin* [Internet]. 2016 [citado 19 Mayo 2018]; 34(6):331–333.

Disponible en:

<https://pdfs.semanticscholar.org/cf50/4947c9d53f21eacc68b2b4422610080c6762>.

pdf

23. Liesenfeld O., Lehman L., Hunfeld KP., Kost G. Molecular diagnosis of sepsis: New aspects and recent developments. *European Journal of Microbiology & Immunology*. [Internet]. 2014 [citado 19 Mayo 2018]; 4(1):1-25. Disponible en: <https://akademai.com/doi/abs/10.1556/EuJMI.4.2014.1.1>

24. Cuervo A., Correa J., Garcés D., et al. Desarrollo y validación de un modelo predictor para bacteriemia en pacientes hospitalizados por el servicio de urgencias con sospecha de infección. *Rev. chil. infectol.* [Internet]. 2016 Abr 2 [citado 19 Mayo 2018]; 33(2): 150-158. Disponible en: [https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0716-10182016000200004&lng=es](https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182016000200004&lng=es).

25. Hernández M., Merlán AI., Álvarez R. Factores pronósticos de pacientes con sepsis en cuidados intensivos. *Revista Cubana de Medicina Intensiva y Emergencias* [Internet]. 2018 [citado 19 Mayo 2018]; 17 (1): 36-46. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/revcubmedinteme/cie-2018/cie181d.pdf>

26. Sánchez S., Ochoa A., Rodríguez R. Bacteriemias en pacientes con VIH en un hospital de tercer nivel en Colombia, 2014-2016. *Med Int Méx.* [Internet]. 2018 [citado 19 Mayo 2018]; 34(3):366-372. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/medintmex/mim-2018/mim183c.pdf>

27. Cantóna R., Horcajada J., Oliverb A., et al. Inappropriate use of antibiotics in hospitals: The complex relationship between antibiotic use and antimicrobial resistance. *Enferm Infecc Microbiol Clin* [Internet] 2013 [citado 23 Mayo 2018]; 31(4):3-11. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0213005X13701265>
28. Rodríguez O., Asbun J. Vigilancia del consumo de antimicrobianos en hospitales de México: situación actual y guía práctica para su implementación. *Rev Panam Salud Pública* [Internet]. 2012 [citado 23 Mayo 2018]; 32(5):381–6. Disponible en: [https://www.scielosp.org/scielo.php?pid=S1020-49892012001100009&script=sci\\_arttext&tlng=es](https://www.scielosp.org/scielo.php?pid=S1020-49892012001100009&script=sci_arttext&tlng=es)
29. George M., Cosgrove S., Carmeli Y. The Impact of Antimicrobial Resistance on Health and Economic Outcomes, *Clinical Infectious Diseases* [Internet]. 2003 [citado 25 Mayo 2018]; 36 (11): 1433–1437. Disponible en: <https://doi.org/10.1086/375081>
30. Puerta A., Mateos F. Enterobacterias [Internet]. 2010 [citado 25 Mayo 2018]; 10 (51): 3426-31. Disponible en: [http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/pdf/Enterobacterias\\_Medicine2010.pdf](http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/pdf/Enterobacterias_Medicine2010.pdf)
31. Byl B., Clevenbergh P., Jacobs F., et al; Impact of Infectious Diseases Specialists and Microbiological Data on the Appropriateness of Antimicrobial Therapy for Bacteremia, *Clinical Infectious Diseases* [Internet]. Jul 2007 [citado 25 Mayo 2018]; 29 (1): 60–66. Disponible en: <https://doi.org/10.1086/520182>

32. Lockhart SR., Abramson MA., Beekmann SE., et al. Resistencia a los antimicrobianos entre los bacilos gramnegativos que causan infecciones en pacientes de la unidad de cuidados intensivos en los Estados Unidos entre 1993 y 2004. *J Clin Microbiol* . [Internet]. 2007 [citado 27 Mayo 2018]; 45 (10): 3352-9. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2045364/#r3>
33. Oteoa J., Calboc E., Rodríguez BJ., et al. La amenaza de las enterobacterias productoras de carbapenemasas en España: documento de posicionamiento de los grupos de estudio GEIH y GEMARA de la SEIMC. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. [Internet]. 2014 [citado 27 Mayo 2018]; 32(10):666–670. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0213005X14000809>
34. Morejón M. Betalactamasas de espectro extendido. *Rev cubana med* [Internet]. 2013 Dic [citado 29 Mayo 2018]; 52( 4 ): 272-280. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-75232013000400006&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75232013000400006&lng=es).
35. Queenan AM., Bush K. Carbapenemasas: the Versatile –Lactamases. *Clin. Microbiol. Rev.* [Internet]. July 2007 [citado 29 Mayo 2018]; 20(3): 440-4581. Disponible en: <https://cmr.asm.org/content/20/3/440.short>
36. Guías de recomendaciones sobre diagnóstico, tratamiento y prevención de infecciones en pacientes con cáncer 2013. *Rev. argent. Microbiol* 2014; 46 (Suppl 1): 7-144.
37. Timothy R., Trevor C., Dianna L., et al. Implementation and performance of the BioFire FilmArray® Blood Culture Identification panel with antimicrobial treatment

recommendations for bloodstream infections at a midwestern academic tertiary hospital. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* [Internet]. 2015 [citado 29 Mayo 2018]; 81(2): 96–101. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0732889314004544>

38. Ward C., Stocker K., Begum J. et al. Performance evaluation of the Verigene® (Nanosphere) and FilmArray® (BioFire®) molecular assays for identification of causative organisms in bacterial bloodstream infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* [Internet]. 2015 [citado 30 Mayo 2018]; 34(3): 487-496. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10096-014-2252-2>

39. Afshari A., Schrenzel J., Ieven M., et al. Bench-to-bedside review: rapid molecular diagnostics for bloodstream infection—a new frontier? *Crit Care* [Internet]. 2012 [citado 02 Junio 2018]; 16(3): 222. Disponible en: <https://ccforum.biomedcentral.com/articles/10.1186/cc11202>

40. Marin H. Broad-Spectrum Antimicrobials and the Treatment of Serious Bacterial Infections: Getting It Right Up Front. *Clinical Infectious Diseases* [Internet] Sep 2018 [citado 02 Junio 2018]; 47 (1): 3-13. Disponible en: <https://doi.org/10.1086/590061>

41. Zheng X., Polanco W., Carter D., et al. Rapid Identification of Pathogens from Pediatric Blood Cultures by Use of the FilmArray Blood Culture Identification Panel. *Clin. Microbiol* [Internet] December 2014 [citado 03 Junio 2018]; 52(12): 4368-4371. Disponible en: <https://jcm.asm.org/content/early/2014/09/26/JCM.02133-14.short>

42. BioFire Diagnostics, LLC. Manual de instrucciones de FilmArray® BCID Panel CE IVD.

43. BioFire Diagnostics, LLC. Guía rápida del ordenador FilmArray® 2.0.