



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE QUÍMICA**

---

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**  
**ESPECIALIZACIÓN EN BIOQUÍMICA CLÍNICA**

**COMPARACIÓN DE MÉTODOS RÁPIDOS DE  
RECUPERACIÓN BACTERIANA A PARTIR DE  
HEMOCULTIVOS POSITIVOS PARA LA IDENTIFICACIÓN  
Y PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD A ANTIMICROBIANOS  
(REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA)**

**TESINA**

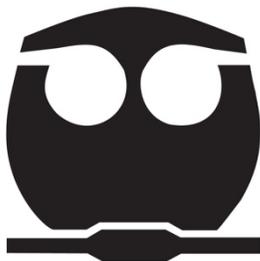
**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
ESPECIALISTA EN BIOQUÍMICA CLÍNICA**

**PRESENTA:**

**B. D. CHRISTIAN IVÁN SEVILLA RESÉNDIZ**

**TUTOR:**

**M. EN C. LUIS MANUEL PEREA MEJÍA**



**CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX., 2021**



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.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Nacional Autónoma de México

A la Facultad de Química

A la Coordinación del Programa de Especialidad en Bioquímica Clínica

A mi tutor el M. en C. Luis Manuel Perea Mejía

A mi familia

A mis amigos

A mis compañeros

Gracias.

El presente trabajo de investigación se realiza de manera documental para y con la asesoría del M. en C. Luis Manuel Perea Mejía

## 1. ÍNDICE GENERAL

1. ÍNDICE GENERAL .....	4
2. ÍNDICE DE TABLAS E IMÁGENES .....	6
2.1. Tablas .....	6
2.2. Imágenes .....	8
3. ÍNDICE DE FIGURAS .....	9
4. ABREVIATURAS .....	10
5. RESUMEN .....	12
6. INTRODUCCIÓN .....	13
6.1. Bacteriemias .....	13
6.2. Diagnóstico de bacteriemias en el laboratorio clínico .....	18
6.2.1. Hemocultivos .....	18
6.2.2. Equipo automatizado para gestionar hemocultivos .....	21
6.2.3. Tinción de Gram en el diagnóstico de bacteriemias .....	24
6.2.4. Método convencional de subcultivo para la recuperación bacteriana de hemocultivos positivos .....	28
6.2.5. Identificación y perfiles de susceptibilidad de bacterias recuperadas de hemocultivos positivos .....	30
7. ANTECEDENTES .....	39
7.1. Tiempo de positividad de hemocultivos y la mortalidad .....	39
7.2. Métodos rápidos de recuperación bacteriana directo de hemocultivos positivos	39
8. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN .....	44
9. JUSTIFICACIÓN .....	45
10. HIPÓTESIS .....	46
11. OBJETIVOS .....	47
11.1. General .....	47
11.2. Particulares .....	47
12. MATERIAL Y MÉTODOS .....	48
12.2. Protocolo y registro .....	48
12.3. Criterios de elegibilidad .....	48

12.4.	Fuentes de información .....	49
12.5.	Búsqueda.....	49
12.6.	Proceso de obtención de datos .....	51
12.7.	Lista de datos.....	51
12.8.	Estadística.....	52
13.	<b>RESULTADOS</b> .....	54
13.1.	Metadatos.....	54
13.2.	Origen de las muestras de hemocultivos positivos .....	55
13.4.	Hemocultivos positivos .....	57
13.5.	Métodos rápidos de recuperación bacteriana .....	57
13.7.	Equipo para identificación .....	61
13.8.	Equipo para perfiles de susceptibilidad.....	62
13.9.	Concordancias de los métodos rápidos respecto al método convencional de subcultivo en la identificación y los perfiles de susceptibilidad para bacterias Gram negativas y Gram positivas. ....	63
14.	<b>DISCUSIÓN</b> .....	70
15.	<b>CONCLUSIÓN</b> .....	77
16.	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	78
17.	<b>ANEXOS</b> .....	87
17.1.	Análisis estadístico .....	87

## 2. ÍNDICE DE TABLAS E IMÁGENES

### 2.1. Tablas

<b>Tabla 1. Clasificación de las bacterias basada en la tinción de Gram, y que se asocian comúnmente con las bacteriemias. Tomada de Ombelet S. (41).....</b>	<b>16</b>
<b>Tabla 2. Modelos actuales de equipos automatizados CMBCS. Tomada de González M. G. (24).....</b>	<b>23</b>
<b>Tabla 3. Ejemplos de uso de medios de cultivos agar sangre, agar chocolate y agar especial (MacConkey) para algunos agentes etiológicos involucrados en bacteriemias. Tomada de Mahon C. R. (33).....</b>	<b>29</b>
<b>Tabla 4. Equipos automatizados para realizar la identificación de bacterias. Adaptada de Mahon C. R. (33).....</b>	<b>31</b>
<b>Tabla 5. Sistemas manuales y automatizados para realizar las pruebas de susceptibilidad a antimicrobianos. Adaptada de Mahon C. R. (33).....</b>	<b>36</b>
<b>Tabla 6. Comparadores directos para realizar análisis de metadatos.....</b>	<b>50</b>
<b>Tabla 7. Tabla para extraer datos de las referencias bibliográficas relacionadas con los métodos rápidos de recuperación bacteriana.....</b>	<b>51</b>
<b>Tabla 8. Variables estadísticas.....</b>	<b>53</b>
<b>Tabla 9. Cantidad de artículos científicos obtenidos con el uso de 9 comparadores directos en 3 bases de datos.....</b>	<b>54</b>
<b>Tabla 10. Métodos rápidos y tiempos de recuperación bacteriana directa de hemocultivos positivos descritos en los 22 artículos consultados.....</b>	<b>58</b>
<b>Tabla 11. Sensibilidad de los 40 métodos rápidos reportados en las 22 publicaciones.....</b>	<b>59</b>
<b>Tabla 12. Concordancias estadísticas de 35 métodos rápidos que se evaluaron por medio de la identificación de bacterias Gram negativas.....</b>	<b>63</b>
<b>Tabla 13. Concordancias estadísticas de 29 métodos rápidos que se evaluaron por medio de la identificación de bacterias Gram positivas.....</b>	<b>65</b>
<b>Tabla 14. Concordancias estadísticas de 15 métodos rápidos que se evaluaron por medio de perfiles de susceptibilidad de bacterias Gram negativas.....</b>	<b>66</b>

<b>Tabla 15. Concordancias estadísticas de 11 métodos rápidos que se evaluaron por medio de perfiles de susceptibilidad de bacterias Gram positivas.....</b>	<b>67</b>
<b>Tabla 16. Concordancia Kappa de Cohen. (1).....</b>	<b>87</b>

## 2.2.Imágenes

<b>Imagen 1. Actividad de Receptores de Reconocimiento de Patrón (PRRs) ante Patrones Moleculares Asociados a Patógenos (PAMPs). Tomada de Punt J. (46).</b>	<b>14</b>
<b>Imagen 2. Contenido de hemocultivo aerobio y anaerobio. Basada de González M. G. (24).....</b>	<b>19</b>
<b>Imagen 3. Equipos CMBCS BACTEC FX<sup>®</sup> (Becton-Dickinson<sup>®</sup>) y BacT/Alert 3D<sup>®</sup> (BioMérieux<sup>®</sup>). Tomados de Becton-Dickinson<sup>®</sup> (izquierda) y BioMérieux<sup>®</sup> (derecha).....</b>	<b>22</b>
<b>Imagen 4. Diferencias en la composición de la pared celular entre una bacteria Gram positiva y una Gram negativa. Tomada de Mahon C. R. (33).....</b>	<b>24</b>
<b>Imagen 5. Ilustración de pasos de la tinción de Gram. Tomada de Tortora (54)...</b>	<b>26</b>
<b>Imagen 6. Clasificación de bacterias basada en su morfología microscópica y a partir de la tinción de Gram de hemocultivos positivos: (A) fondo, (B) cadenas / pares Gram (+), (C) agrupación en racimos Gram (+) y (D) bacilos Gram (-), Tomada de Smith D. A. (50).....</b>	<b>27</b>
<b>Imagen 7. Fotografías de subcultivo por aislamiento en agar sangre de oveja al 5% a partir de un hemocultivo, Tomadas de Ali M. J. (3).....</b>	<b>28</b>
<b>Imagen 8. Ilustración de resumen de los tiempos y terapias empleadas utilizando el método convencional para el diagnóstico de bacteriemias a partir de un hemocultivo. Basada de Mahon C. R. (33)).....</b>	<b>38</b>
<b>Imagen 9. Flujo de trabajo de hemocultivos positivos en países clasificados con base en su nivel de ingresos. Tomada de Ombelet S. (41).....</b>	<b>40</b>
<b>Imagen 10. Ilustración de resumen en tiempo de los principales métodos rápidos de recuperación bacteriana para el diagnóstico de bacteriemias. Basada de Freimann y Kayin. (20 y 31).....</b>	<b>43</b>

### 3. ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1. Porcentaje del origen de las muestras de los hemocultivos.....</b>	<b>55</b>
<b>Figura 2. Equipos CMBCS empleados y tiempos de incubación para dar positivo a crecimiento bacteriano reportados en los artículos consultados.....</b>	<b>56</b>
<b>Figura 3. Equipos y tiempos empleados para la identificación bacteriana en los artículos consultados.....</b>	<b>61</b>
<b>Figura 4. Equipos automatizados, técnicas manuales y tiempos empleados para realizar las pruebas de susceptibilidad a antimicrobianos en los artículos consultados.....</b>	<b>62</b>

#### 4. ABREVIATURAS

- 4.1. ACK: Amonio-cloruro-potasio.
- 4.2. ADN: Ácido desoxirribonucleico.
- 4.3. AST: Prueba de susceptibilidad antimicrobiana.
- 4.4. ASTRA: Ensayo rápido de prueba de susceptibilidad a antibiótico.
- 4.5. BHI: Infusión cerebro corazón.
- 4.6. CID: Coagulación Intravascular Diseminada.
- 4.7. CLSI: Instituto de Estandarización de Laboratorios Clínicos.
- 4.8. CMBCS: Sistemas de monitoreo continuo de cultivos de sangre.
- 4.9. CO<sub>2</sub>: Dióxido de carbono.
- 4.10. EM: Emergencia.
- 4.11. EUCAST: Comité Europeo sobre Pruebas de Susceptibilidad a Antimicrobianos.
- 4.12. FDA: Administración de Medicamentos y Alimentos.
- 4.13. Tinción de Gram: Tipo de tinción diferencial que se utiliza para la visualización y diferenciación de bacterias en muestras clínicas.
- 4.14. H<sub>2</sub>: Hidrógeno molecular o Dihidrógeno.
- 4.15. HPLC: Cromatografía Líquida de Alta Resolución
- 4.16. IAAS: Infecciones Asociadas a la Atención de la Salud.
- 4.17. ID: Identificación.
- 4.18. INEGI: Instituto Nacional de Estadística y Geografía.
- 4.19. kg: Kilogramo.
- 4.20. LPS: Lipopolisacáridos.
- 4.21. MALDI-TOF MS: La desorción y ionización por láser asistida en una matriz evaluada por espectrofotometría de masas de tiempo de vuelo.
- 4.22. MBL: Lectina de Unión a Manosa.
- 4.23. MBT: MALDI biotipo.
- 4.24. MIC: Concentración mínima inhibitoria.
- 4.25. mL: Mililitro.
- 4.26. MRSA: *Staphylococcus aureus* meticilina resistente.
- 4.27. N<sub>2</sub>: Nitrógeno molecular o Dinitrógeno.

- 4.28. NaCl: Cloruro de Sodio
- 4.29. NLRs: Receptores tipo NOD.
- 4.30. NOM: Norma Oficial Mexicana.
- 4.31. O<sub>2</sub>: Oxígeno molecular o Dioxígeno.
- 4.32. OMS: Organización Mundial de la Salud.
- 4.33. PAMPs: Patrones Moleculares Asociados a Patógenos.
- 4.34. PBP: Proteína de unión a penicilina.
- 4.35. PBS: Solución amortiguadora de fosfatos.
- 4.36. PCR: Reacción en cadena de la polimerasa.
- 4.37. PRISMA: Propuesta para mejorar la publicación de revisiones sistemáticas y meta análisis.
- 4.38. PRRs: Receptores de Reconocimiento de Patrón.
- 4.39. SDRA: Síndrome de Distrés Respiratorio Agudo.
- 4.40. SDS: Dodecil sulfato de sodio.
- 4.41. SIRS: Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica.
- 4.42. SSA: Secretaría de Salud.
- 4.43. SST: Tubo separador de suero.
- 4.44. TFE: Trifluoroetanol
- 4.45. TLRs: Receptores tipo Toll.
- 4.46. UFC: Unidad formadora de colonia.

## 5. RESUMEN

Las bacteriemias se definen como la presencia de bacterias en el torrente sanguíneo, debida a complicaciones derivadas de infecciones no tratadas correctamente o a su inoculación directa al torrente sanguíneo con material médico contaminado. Son Infecciones Asociadas a la Atención de la Salud (IAAS) en pacientes hospitalizados pediátricos o adultos, con estancia prolongada o en terapia intensiva y se asocian con una elevada morbilidad y mortalidad si no se tratan a tiempo. En este contexto, el personal médico que sospecha de una bacteriemia implementa una terapia empírica con antibióticos de amplio espectro, y que de no ser la adecuada, puede ocasionar una resistencia bacteriana a los medicamentos utilizados. Con la finalidad de hacer específica la terapia antimicrobiana, el agente etiológico se recupera mediante el uso de hemocultivos, mismos que se ingresan en equipos automatizados de incubación hasta su positividad, y a partir de los cuales, se utiliza el método convencional de subcultivo en placas de agar para obtener colonias bacterianas puras. En la parte final del proceso se realiza la identificación de la bacteria y los perfiles de susceptibilidad para la selección del antimicrobiano. Este proceso requiere de 8 a 9 días. En el presente trabajo, se analizaron 22 publicaciones seleccionadas siguiendo la metodología propuesta para mejorar la Publicación de Revisiones Sistemáticas y Meta Análisis (PRISMA) a partir de metadatos, donde los autores buscaron sustituir el método convencional de subcultivo con métodos rápidos para agilizar el proceso. Se evaluaron un total de 40 métodos rápidos en los que se observó una reducción promedio de 1 a 2 días para comenzar con la identificación y las perfiles de susceptibilidad. Sin embargo, se demostró que los métodos rápidos para la recuperación de bacterias no pueden sustituir al método convencional de subcultivo, aunque mostraron ser efectivos para el diagnóstico de bacterias Gram negativas contra las Gram positivas.

## 6. INTRODUCCIÓN

### 6.1. Bacteriemias

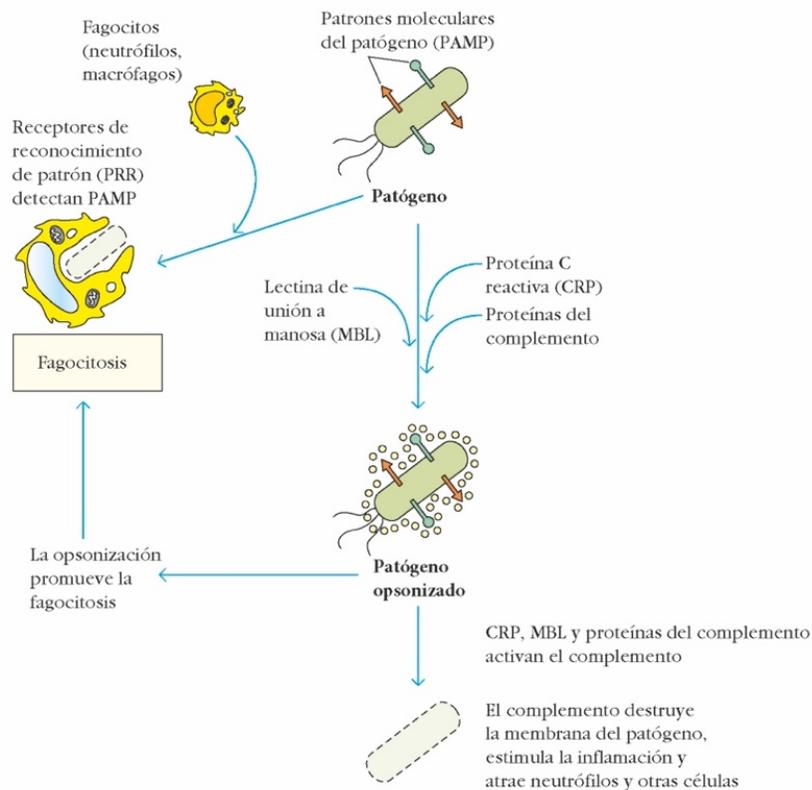
Se definen como la presencia de bacterias vivas en el torrente sanguíneo.(23)

Se clasifican de acuerdo a su sitio de origen como:

- a) Bacteriemias primarias: Cuando las bacterias presentes en el torrente sanguíneo, son derivadas un sitio de origen intravascular, como una válvula cardíaca, uso de catéter o dispositivos médicos colonizados. (33)
- b) Bacteriemias secundarias: Cuando la bacteria en el torrente sanguíneo proviene de un espacio extravascular infectado, como de los pulmones en un paciente con neumonía, de los intestinos cuando hay peritonitis, del riñón cuando hay infección del tracto urinario, del sistema nervioso central como la meningitis o de infecciones de la piel derivadas de diversos factores como quemaduras o heridas.(33)
- c) Bacteriemias no definidas: En el cual, el origen de la bacteriemia permanece indefinido debido a que no se puede aislar a la bacteria, pero, hay sospecha por parte del personal médico debido a otros resultados de estudios, como lo son las variables generales (fiebre, hipotermia, taquicardia, hiperglicemia, alteración del estado mental y edema)), inflamatorias (leucocitosis, leucopenia, aumento de células blancas inmaduras, aumento de proteína C reactiva o procalcitonina), hemodinámicas (hipotensión, saturación de oxígeno disminuida o aumento de índice cardíaco), por disfunción de órganos (hipoxemia arterial, oliguria aguda, aumento de creatinina, anormalidades en la coagulación, sonidos en el ileo, trombocitopenia o hiperbilirrubinemia) y perfusión de tejidos (hiperlactemia o disminución de la irrigación capilar). Generalmente tiene un peor pronóstico que la bacteriemia primaria y secundaria, derivado a que no se puede determinar la terapia y el pronóstico adecuado. (15 y 33)

Las bacteriemias pueden ser transitorias y sin consecuencias clínicas cuando el sistema inmunológico de la persona funciona correctamente, atribuido principalmente al sistema inmune innato, en el cual, los Receptores de Reconocimiento de Patrón (PRRs) solubles (participan proteínas del sistema complemento, Lectina de Unión a Manosa (MBL) y la proteína C reactiva, opsonizando a la bacteria y activando al complemento) o los unidos a membranas celulares (como lo son los receptores tipo NOD (NLRs) o receptores tipo Toll (TLRs) de las células dendríticas, macrófagos, neutrófilos entre otras, que participan principalmente en la adherencia del proceso inflamatorio) reaccionan a ligandos específicos bacterianos llamados Patrones Moleculares Asociados a Patógenos (PAMPs); como ejemplo de PRRs unidos a membranas celulares bacterianas: NOD1, NOD2 y TLR2 reaccionan a peptidoglucanos y ácido teicoico de bacterias Gram positivas, TLR4 a Lipopolisacáridos (LPS) de bacterias Gram negativas, TLR5 a flagelina y TLR9 a dinucleótidos desmetilados CpG DNA bacteriano entre otros). (Imagen 1) (53)(15)

**Imagen 1. Actividad de Receptores de Reconocimiento de Patrón (PRRs) ante Patrones Moleculares Asociados a Patógenos (PAMPs). Tomada de Punt J. (46)**



Cuando el sistema inmunológico falla o está desbalanceado y el paciente pasa por una bacteriemia, pueden existir consecuencias clínicas como la infección del torrente sanguíneo, momento en el cual, comienzan diferentes presentaciones clínicas (variables generales), pudiendo dar origen al Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica (SIRS), como lo es la sepsis. (15 y 50)

La sepsis en un paciente se caracteriza por ser una respuesta de defensa exagerada del sistema inmunológico, cuyo fin es el de localizar y eliminar la fuente endógena o exógena de factor de estrés nocivo, como los PAMPs, pero, pudiendo continuar si se diseminan del torrente sanguíneo a otros órganos, en Síndrome de Distrés Respiratorio Agudo (SDRA), coma, daño agudo al riñón, daño agudo al pulmón, choque séptico, daño al hígado, Coagulación Intravascular Diseminada (CID), entre otros. (14 y 50)

La sepsis causada por bacterias Gram positivas, frecuentemente se relaciona a las Infecciones Asociadas a la Atención de la Salud (IAAS), como lo son los procedimientos de hemodiálisis, uso de catéter intravenoso (especialmente central por el tipo de acceso y la dificultad de desinfección), cirugía, sonda en vejiga urinaria o intubación, y con especial importancia a la resistencia de antibióticos que se genera por el uso prologando (más de 6 meses) de antibióticos para tratar la infección. *Enterococcus spp.*, *Staphylococcus spp.* (especial importancia a *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (MRSA), que puede causar la enfermedad necrosante potencialmente mortal por la toxina leucocidina de Pantón-Valentine) y *Streptococcus spp.* (especialmente *Streptococcus agalactiae* grupo B, muy común en sepsis neonatal, con la contaminación del neonato por contacto con la vagina durante el parto principalmente, y en la cual, se recomienda diagnosticar la bacteria y dar tratamiento con antibiótico antes del parto) son las bacterias más frecuentemente involucradas en la sepsis. (54)

La sepsis causada por bacterias Gram negativas comúnmente se continúan a choque tóxico derivado de la endotoxina LPS (llamando al padecimiento choque endotoxico o sepsis gram negativo, en el cual, con menos de un nanogramo de endotoxina se considera suficiente para causar los síntomas como fiebre, vómito y rash tipo quemadura, seguido de choque y falla

multiorgánica, en especial de riñón). *Klebsiella spp.*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* son las bacterias más frecuentemente involucradas al choque tóxico. (54)

La sepsis se asocia con una elevada morbilidad y mortalidad (25 - 30%), misma que puede aumentar si no es tratada adecuadamente a tiempo (cada hora de retraso en la aplicación de tratamiento se asocia con un aumento del 6% en la mortalidad y hasta un 12% si además el tratamiento no es adecuado). (12, 33 y 38)

Las bacterias Gram negativas y Gram positivas se asocian con las bacteriemias en un 65 – 70% y 30 – 35% respectivamente, cuyos agentes etiológicos que se asocian con mayor frecuencia se presentan en la Tabla 1. (28)

**Tabla 1. Clasificación de las bacterias basada en la tinción de Gram, y que se asocian comúnmente con las bacteriemias. Tomada de Ombelet S. (41)**

Gram positivas	Gram negativas
1) <i>Clostridioides spp.</i>	1) <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
2) <i>Streptococcus pneumoniae</i>	2) <i>Burkholderia pseudomallei</i>
3) <i>Staphylococcus aureus</i> (incluyendo MRSA)	3) <i>Acinetobacter baumannii</i> .
4) <i>Staphylococci</i> coagulasa negativa <i>(Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus hominis, Staphylococcus haemolyticus, Staphylococcus schleiferi., Staphylococcus capitis, Staphylococcus warreni)</i>	4) <i>Bacteroides spp.</i>
5) <i>Enterococci (Enterococcus faecalis y Enterococcus faecium)</i>	5) <i>Escherichia coli</i>
	6) <i>Haemophilus influenzae</i>
	7) <i>Klebsiella pneumoniae</i>
	8) <i>Morganella morganii</i>
	9) <i>Proteus mirabilis</i>
	10) <i>Salmonella</i> ser Tiphya

En México, según los datos más recientes del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) al 2019, se reportó que de la causa de muerte por enfermedades relacionadas con las IAAS, el 24% corresponde a bacteriemias primarias, secundarias y no demostradas. (43)

En México, la principal causa de sepsis la constituyen los procesos neumónicos, que ocupan más de la mitad de los casos, seguido de fuentes intra-abdominales e infecciones del tracto urinario. Dos tercios de los casos de sepsis por IAAS son derivados de procedimientos invasivos, ya sean quirúrgicos o que requieren de vigilancia invasiva mediante catéteres arteriales o venosos, ventilación mecánica o catéteres vesicales. Los catéteres representan la fuente de infección en aproximadamente 20% de los casos relacionados con las IAAS. (43)

El diagnóstico para una bacteriemia en el laboratorio clínico, permite seleccionar el tratamiento dirigido contra el agente etiológico, factor clave en el proceso contra la infección y también como prevención a la generación de resistencia a los antimicrobianos. (5, 6, 17 y 31)

## **6.2. Diagnóstico de bacteriemias en el laboratorio clínico**

### **6.2.1. Hemocultivos**

La posibilidad de aislar una bacteria en un paciente con bacteriemia depende de múltiples factores, entre ellos, las características del paciente, el agente etiológico, la enfermedad de base y sospecha, el tipo de hemocultivo y el método del procesamiento de hemocultivo seleccionado (manual o automatizado). (31)

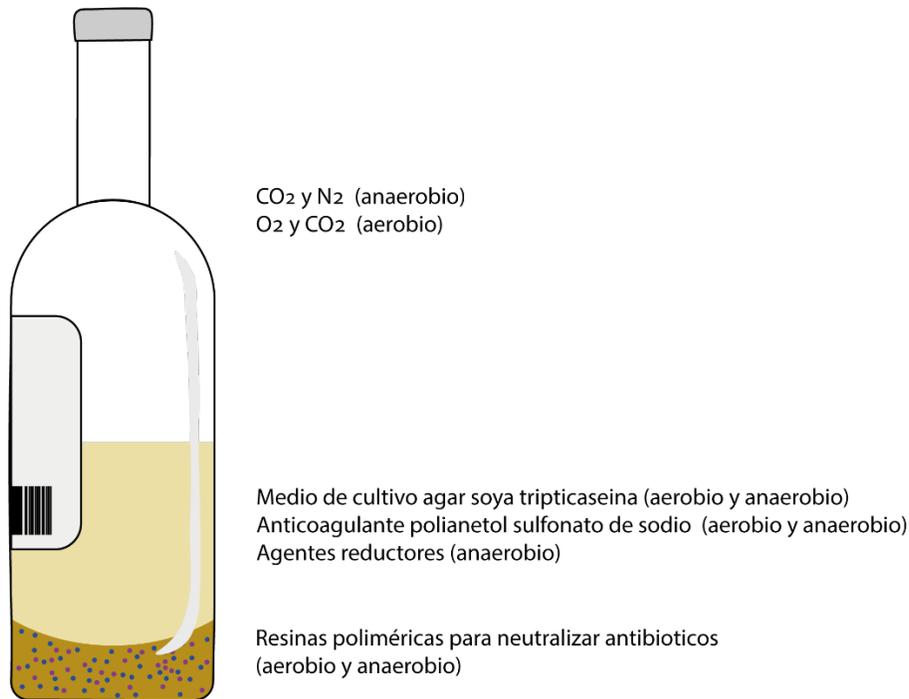
Los hemocultivos son el estándar de oro para la toma de muestra en el diagnóstico de bacteriemias, a partir del cual, se continúa con la recuperación de bacterias para realizar la identificación y los perfiles de susceptibilidad del agente etiológico, lo que implica considerar buenas prácticas pre analíticas para el uso de hemocultivos, que van desde la selección del medio de cultivo, aditivos, prevención de contaminación, cantidad de sangre del paciente a recolectar, selección del sistema automatizado para incubación. (31)

Actualmente las formulaciones de los hemocultivos son similares, siendo principalmente contenido dentro de botellas, usando como base el medio soya tripticaseína con polianetol sulfonato de sodio como anticoagulante (menores concentraciones de medio y anticoagulante para botellas pediátricas). La parte superior de la botella anaeróbica contiene CO<sub>2</sub> y N<sub>2</sub> mientras que la parte superior de la botella aeróbica contiene aire medioambiental estéril suplementado con CO<sub>2</sub>. Las botellas anaeróbicas también incluyen agentes reductores como tioglicolato y L-cisteína que favorecen la actividad enzimática de las bacterias anaerobias. En el caso de muestras de pacientes en tratamiento, se incluye el uso de resinas poliméricas para neutralizar selectivamente algunos antibióticos utilizados comúnmente de forma empírica, como piperaciclina-tazobactam, vancomicina, cefalosporinas, y con muy baja actividad o nula para carbapenemasas y fluoroquinolonas. (Imagen 2) (24)

Es de vital importancia que el personal encargado en la toma de muestra sanguínea esté calificado para reducir el riesgo de contaminación del hemocultivo y que puede ocurrir en la

asepsia de la piel antes de tomar la muestra o en la recolección de ésta con dispositivos médicos intravasculares. (24)

**Imagen 2. Contenido de hemocultivo aerobio y anaerobio. Basada de González M. G. (24)**



En relación a la toma de muestra de hemocultivos, el Instituto de Estandarización de Laboratorios Clínicos (CLSI) y la Cumitech recomiendan como parte del abordaje diagnóstico, la obtención de dos hemocultivos (una muestra percutánea y otra mediante cada dispositivo de acceso vascular, esta última muestra en pacientes con catéteres colocados por más de 48 horas), en un lapso no mayor a 45 minutos, esto con fines de aumentar la sensibilidad en el diagnóstico de bacteriemias un 13% en comparación con el menos de 10% reportado de usar un solo hemocultivo. (43)

Para un paciente adulto se requiere de tomar un hemocultivo aeróbico y otro anaeróbico con fines de aumentar la capacidad de recuperación de la bacteria un 13%, con esto tener éxito de obtener un hemocultivo positivos, en especial si se toma el hemocultivo 2 horas con 30

minutos antes de pico febril; sin embargo, es muy difícil predecir el momento en el que un paciente tendrá fiebre, por lo que es necesario tomar dos hemocultivos en 24 horas, con diferencia de tiempo de 30 a 90 minutos, o al mismo tiempo, si el sitio de punción es diferente, cuando el paciente requiere el inicio del tratamiento antimicrobiano inmediato. (43)

Comúnmente los hemocultivos pediátricos son aeróbicos por la baja frecuencia de bacteriemias con anaerobios, estando presente aproximadamente 2.1%, aun así, de ser necesario o por sospecha de alguna bacteria anaerobia es posible utilizar un hemocultivo anaerobio para adulto, siempre considerando la cantidad de sangre óptima de uso según proveedor. (24)

El relación al volumen de muestra tomada para hemocultivos, la Sociedad Americana de Microbiología y la Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas declara que para aumentar la capacidad de detección del microorganismo causante de infección en el torrente sanguíneo, la recomendación es la recolección de 2 a 4 hemocultivos por pico febril, considerando dividir aproximadamente 20 a 30 ml en 2 o 3 botellas de hemocultivo, también considera dos excepciones; una para pacientes con neutropenia y peso menor a 40 kg, siendo un volumen de 1% del volumen total de sangre considerando aproximadamente 70 ml/kg, y la segunda para pacientes pediátricos, en los cuales, el volumen será lo indicado por el proveedor. (Tabla 2) Según el sistema que se ocupe para la extracción de la muestra sanguínea para el hemocultivo se seguirá con las indicaciones del proveedor. (24)

De acuerdo con la norma NOM-EM-002-SSA2-2003, el uso del hemocultivo es esencial en para el diagnóstico de bacteriemias, como se describe en los siguientes ejemplos:

- a) Se considera con sepsis a pacientes con fiebre, hipotermia o distermia con hemocultivo positivo, con menos de 48 horas de estancia hospitalaria si se les realizan procedimientos de diagnóstico invasivos o reciben terapia intravascular. (40)
- b) Se considera bacteriemia con hemocultivo positivo para Gram negativo. (40)

- c) Se considera bacteriemia la presencia de *Staphylococcus aureus* del aislamiento de hemocultivo positivo. (40)
- d) Se considera bacteriemia a partir de un hemocultivo positivo de un bacilo Gram positivo o estafilococo coagulasa negativa siempre y cuando cumpla con dos más de los siguientes criterios: alteraciones hemodinámicas, trastornos respiratorios, leucocitosis o leucopenia no inducida por fármacos, alteraciones de la coagulación (incluyendo trombocitopenia), aislamiento del mismo microorganismo en otro sitio anatómico. (40)

### **6.2.2. Equipo automatizado para gestionar hemocultivos**

En relación a la incubación y monitoreo de crecimiento de microorganismos en hemocultivos por parte de equipos automatizados, la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (Food and Drug Administration por sus siglas en inglés FDA) ha validado el uso de los siguientes equipos automatizados y sus diferentes modelos, como Sistemas de Monitoreo Continuo de Cultivos de Sangre (CMBCS), entre los cuales están: BACTEC<sup>®</sup> (Becton-Dickinson<sup>®</sup>), BacT/Alert<sup>®</sup> (BioMérieux<sup>®</sup>) (Imagen 3) y sus respectivas botellas de hemocultivo (Tabla 2). Las características principales de los equipos antes mencionados se describen continuación:

- a) El modelo actual CMBCS BACTEC<sup>®</sup> (Becton-Dickinson<sup>®</sup>), es BACTEC FX<sup>®</sup> (Becton-Dickinson<sup>®</sup>), con existencia de diferentes modelos para incubar y monitorear diferentes cantidades de hemocultivos. Este sistema contiene sensores fluorométricos que generan fluorescencia en presencia de aumentos de CO<sub>2</sub> vía acidificación metabólica por la presencia de microorganismos. (Tabla 2) (24)
- b) BacT/Alert 3D<sup>®</sup> (BioMérieux<sup>®</sup>) y el más reciente BacT/ALERT VIRTUO<sup>®</sup> (BioMérieux<sup>®</sup>), mismos que cargan y descargan sus botellas respectivas de hemocultivo de manera automática y mantienen la temperatura estable. Durante el proceso de incubación y monitoreo, se escanea el código de barra de la botella y se determina el nivel de llenado (el equipo da lectura del nivel inicial como comparativo) mientras se aplica una serie de algoritmos que acortan el tiempo de detección de positividad. Varios estudios han demostrado una reducción del tiempo de incubación en un 20% para los bacilos Gram

negativos y enterococos por parte de BacT/ALERT VIRTUO® (BioMérieux®) en comparación de BacT/Alert 3D® (BioMérieux®). Adicionalmente las botellas BacT/Alert 3D® (BioMérieux®) permiten cultivar fluidos corporales estériles y de plaquetas. (Tabla 2) (24)

Los hemocultivos incubados en equipos CMBCS demuestran positividad en un intervalo de 4 a 7 días, con una sensibilidad del 98 a 99%, siendo en promedio de 5 días de incubación, y aunque se considera un tiempo prolongado, es probable que después de este periodo de tiempo los hemocultivos sean negativos. Considerar respecto al tiempo, que cuando se sospecha de bacterias de crecimiento lento como del género *Brucella*, se debe dejar en incubación hasta un máximo de 15 días, y sólo de forma excepcional, éste se puede retrasar hasta pasados 30 a 45 días. (24 y 58)

**Imagen 3. Equipos CMBCS BACTEC FX® (Becton-Dickinson®) y BacT/Alert 3D® (BioMérieux®). Tomados de Becton-Dickinson® (izquierda) y BioMérieux® (derecha).**



**Tabla 2. Modelos actuales de equipos automatizados CMBCS. Tomada de González M. G. (24)**

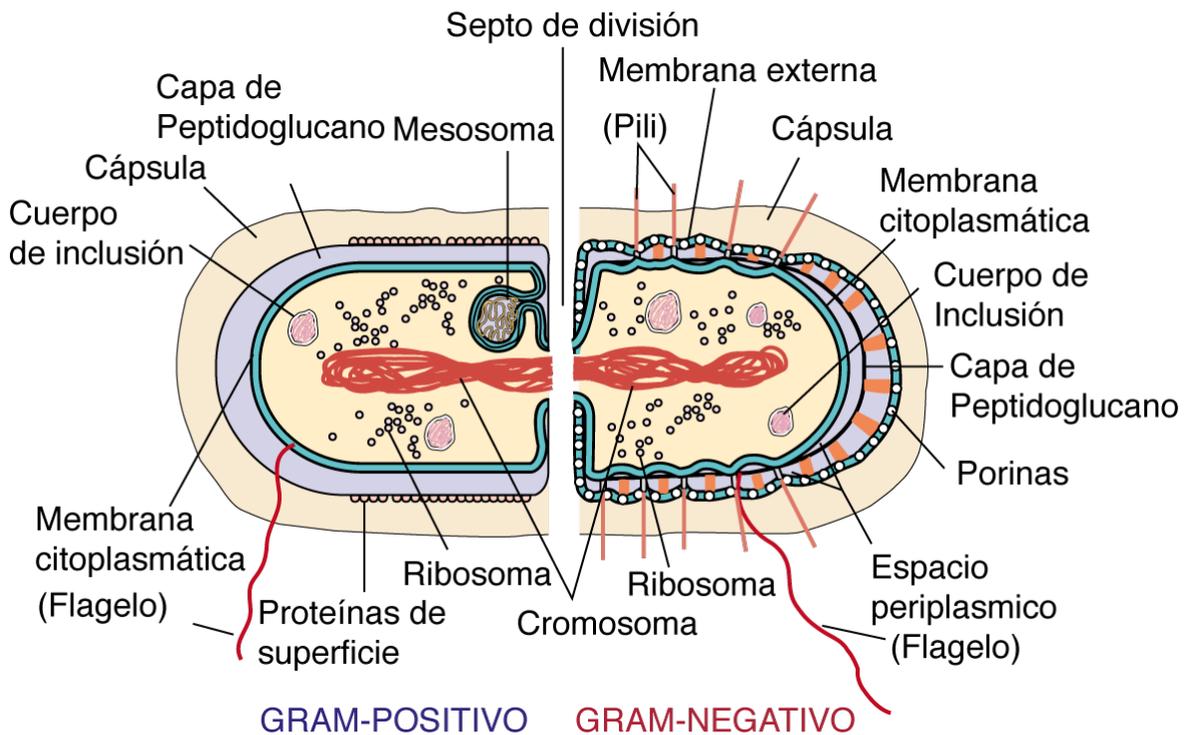
Equipos automatizados de CMBCS					
Sistema CMBCS para Hemocultivo	Método de monitoreo de crecimiento	Tipo de botellas	Información adicional	Indicaciones - FDA	Volumen máximo de llenado
BacT/ALERT®	Colorimétrico, causado por la caída del pH debido al aumento de los niveles de CO <sub>2</sub>	BacT/ALERT® FA PLUS	Medio aeróbico con polímero de resina adsorbente	Sangre o fluidos corporales estériles	10 ml
		BacT/ALERT® FN PLUS	Medio anaerobio con polímero de resina adsorbente	Sangre o fluidos corporales estériles	10 ml
		BacT/ALERT® PF PLUS	Aerobio pediátrico estándar	Sangre	4 ml
		BacT/ALERT® SA	Aerobio estándar	Sangre o fluidos corporales estériles	10 ml
		BacT/ALERT® SN	Anaerobio estándar	Sangre o fluidos corporales estériles	10 ml
		BacT/ALERT® BPA	Medio aerobio	Plaquetas	10 ml
		BacT/ALERT® BPN	Medio anaerobio	Plaquetas	10 ml
BACTEC®	Fluorescencia, causado por una caída en el pH debido al aumento de los niveles de CO <sub>2</sub>	BACTEC® Plus Aerobic	Medio aeróbico con polímero de resina adsorbente	Sangre	10 ml
		BACTEC® Plus Anaerobic	Medio anaerobio con polímero de resina adsorbente	Sangre	10 ml
		BACTEC® Peds Plus	Medio aeróbico pediátrico con polímero de resina adsorbente	Sangre	5 ml
		BACTEC® Lytic Anaerobic	Medio anaerobio con detergente lisante de glóbulos rojos y blancos.	Sangre	10 ml
		BACTEC® Standard Aerobic	Aerobio estándar	Sangre	10 ml
		BACTEC® Standard Anaerobic	Anaerobio estándar	Sangre	7 ml

### 6.2.3. Tinción de Gram en el diagnóstico de bacteriemias

El primer paso analítico en el proceso de hemocultivos positivos y probablemente el que más impacto causa en la salud del paciente es la tinción de Gram, debido a que en las bacteriemias la terapia antimicrobiana empírica se puede reconsiderar con base en dicho resultado. Esto es de gran ayuda para reducir la mortalidad y morbilidad de los pacientes, así como la decisión de antibióticos para realizar las pruebas de susceptibilidad. (6 y 20)

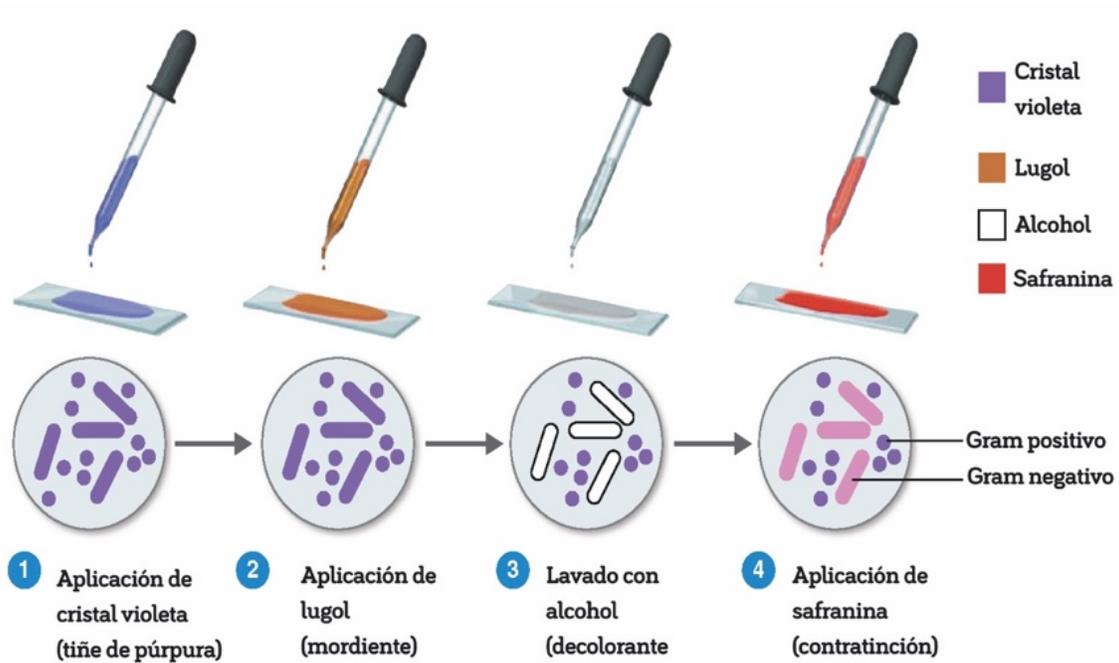
La tinción de Gram se realizó por primera vez en 1884 por el bacteriólogo danés Hans Christian Joachim Gram, la cual clasifica a las bacterias en dos grupos: Gram positivas (color púrpura) y Gram negativas (color rosa), considerándola por esta función como una tinción diferencial. Esta clasificación se determina por la estructura de la pared celular de algunas bacterias, (Imagen 4). (33)

**Imagen 4. Diferencias en la composición de la pared celular entre una bacteria Gram positiva y una Gram negativa. Tomada de Mahon C. R. (33)**



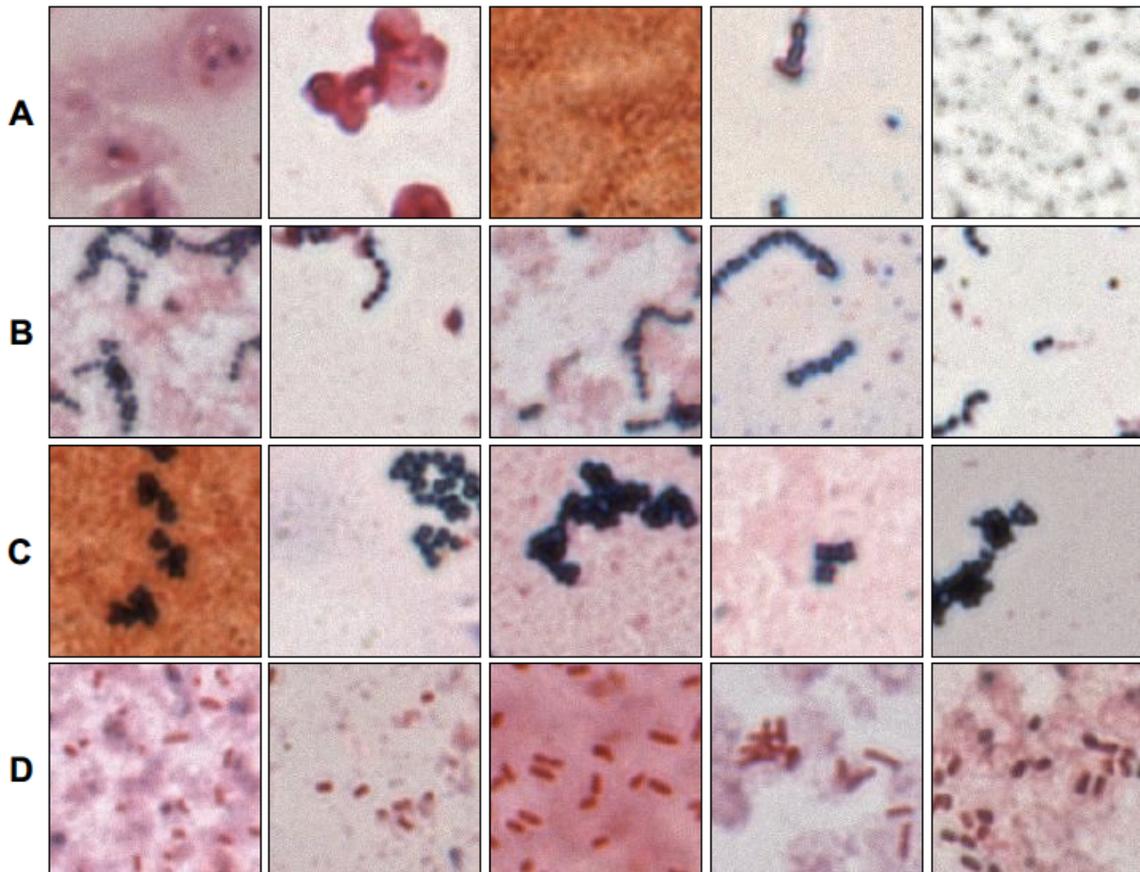
El mecanismo de acción de la tinción de Gram está basado en las diferencias de la estructura de la pared celular entre las bacterias Gram positivas y las Gram negativas, y cómo reaccionan químicamente a varios reactivos. El primer reactivo usado como tinción primaria es el cristal violeta, el cual, en bacterias Gram positivas forma uniones cruzadas con el ácido teicoico embebido en la capa de peptidoglucano de la pared celular, disminuyendo su permeabilidad a solventes orgánicos porque contienen menos lípidos, mientras que en bacterias Gram negativas la mayor cantidad de lípidos incrementan la permeabilidad a decolorantes perdiendo el colorante, al final tiñen de púrpura a la pared celular de las bacterias Gram positivas y Gram negativas. Cuando se aplica lugol (mordiente compuesto de yodo molecular y yoduro potásico en agua destilada, con interacción química a moléculas con carga positiva) este forma grandes cristales sobre la tinción primaria (complejo cristal violeta-lugol) que no son solubles en agua, y por lo tanto, retienen el cristal violeta de lavados con agua. La aplicación de alcohol permite que la membrana externa de las Gram negativas deje salir el complejo cristal violeta-lugol de la delgada capa de peptidoglucano cuando se enjuaga con agua, esto debido a la permeabilidad a solventes orgánicos y a que el alcohol forma poros entre proteínas de membrana y fosfolípidos al romper los puentes de hidrógeno que los mantienen unidos, como el ácido siálico de los gangliosidos y las proteínas embebidas de membrana, generando que queden descoloridas las Gram negativas. Al final se adiciona safranina que provee un color contrastante a la tinción primaria (cristal violeta), en donde tanto las Gram positivas como las Gram negativas reaccionan con la safranina dando un color rosa, pero, este se ve enmascarado en las Gram positivas con el púrpura del complejo cristal violeta-lugol, retenido en la capa gruesa de peptidoglucano. (Imagen 5) (54)

**Imagen 5. Ilustración de pasos de la tinción de Gram. Tomada de Tortora. (54)**



Cuando se realiza la tinción de Gram a partir de hemocultivos positivos y solamente se logra identificar bacterias Gram positivas o Gram negativas con una única morfología (cocos, bacilos, bacilos cortos), se considera al cultivo monomicrobiano, caso contrario se le considera cultivo polimicrobiano, siendo este último presente en bacteriemias en un 10 a 20%. (Imagen 6). (2, 6, 9, 31 y 48)

**Imagen 6. Clasificación de bacterias basada en su morfología microscópica y a partir de la tinción de Gram de hemocultivos positivos: (A) fondo, (B) cadenas / pares Gram (+), (C) agrupación en racimos Gram (+) y (D) bacilos Gram (-), Tomada de Smith D. A. (50)**



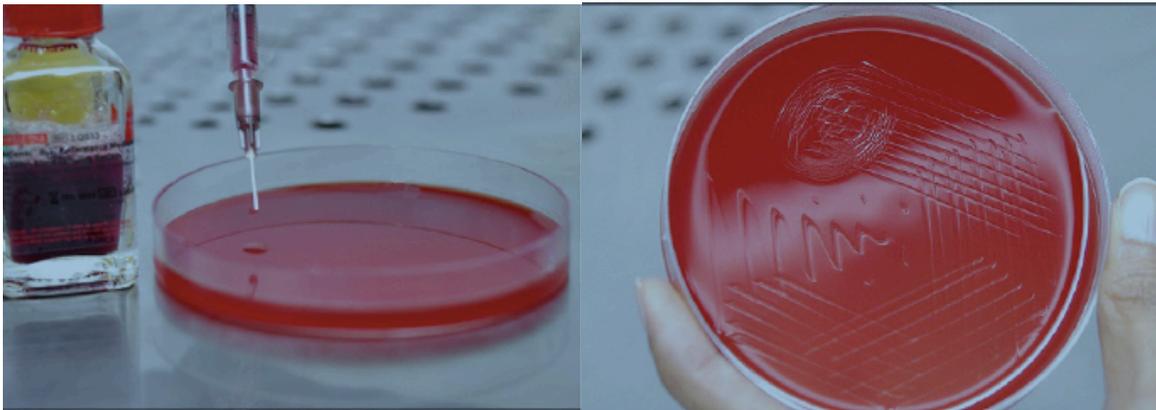
Para realizar la tinción de Gram es necesario contar con la competencia por parte del personal encargado en la ejecución, así como, contar con reactivos correctamente gestionados para su uso, con el fin de evitar errores al teñir a las bacterias y generar malas clasificaciones que pudieran ser perjudiciales en el proceso de diagnóstico del agente etiológico del paciente con bacteriemia. (33)

#### **6.2.4. Método convencional de subcultivo para la recuperación bacteriana de hemocultivos positivos**

En muchos laboratorios clínicos en el área de microbiología el método tradicional y estándar de oro para recuperar bacterias a partir de hemocultivos positivos, incluye tomar muestras y subcultivar sobre agar sólido de 24 a 48 horas, posteriormente se puede realizar la identificación acorde a sus pruebas bioquímicas y perfiles de susceptibilidad. (6, 9 y 20)

El método convencional de subcultivo se realiza a partir de un hemocultivo positivo que se subcultiva por el método de aislamiento (agotamiento por estrías cruzadas (Imagen 7)) en diferentes medios de cultivo sólido selectivos y diferenciales; principalmente el agar sangre 5% y agar chocolate (incubados en condiciones aerobias con 5% de CO<sub>2</sub> por 24 a 48 horas), agar sangre enriquecido (incubado en anaerobiosis hasta por 48 a 72 horas) y agar especial (variable según la morfología observada y clasificación por la tinción de Gram). (Imagen 7) (Tabla 3) (3)

**Imagen 7. Fotografías de subcultivo por aislamiento en agar sangre de oveja al 5% a partir de un hemocultivo, Tomadas de Ali M. J. (3)**



**Tabla 3. Ejemplos de uso de medios de cultivos agar sangre, agar chocolate y agar especial (MacConkey) para algunos agentes etiológicos involucrados en bacteriemias. Tomada de Mahon C. R. (33)**

Medio de cultivo	Agente etiológico	Uso generales en el diagnóstico presuntivo
Agar sangre	<i>Staphylococcus aureus</i> , Estafilococos coagulasa negativa.	Observar hemolisis por <i>Staphylococcus aureus</i> y no-hemolisis en <i>Staphylococci</i> coagulasa negativa
	<i>Streptococcus spp.</i>	Observar alfa-hemolisis por <i>Streptococcus pneumoniae</i> . Observar crecimiento de <i>Streptococcus agalactiae</i>
	<i>Proteus mirabilis</i>	Observar que después del crecimiento se muestra swarming.
Agar chocolate	<i>Haemophilus influenzae</i>	Auxilia al crecimiento por la liberación de factor X o factor termoestable (hemina) del hierro, y el factor V o factor termolábil (NAD o NADP) por lisis del eritrocito.
Agar especial (ejemplo MacConkey)	<i>Escherichia coli</i>	Observar crecimiento con fermentación rápida de la lactosa.
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Observar que presenta colonias mucoides y fermentación de lactosa.

Se ha identificado una desventaja de tiempo cuando se realiza el método convencional de subcultivo, en relación a la identificación y perfiles de susceptibilidad, ya que estas se realizan sólo después de aislar colonias por crecimiento prolongando al tiempo de realización, especialmente cuando se trata de bacterias de crecimiento lento como las anaerobias, y que el tiempo para la determinación apropiada del antimicrobiano está fuertemente relacionado con la mortalidad del paciente, por lo tanto, acortar dicho tiempo en reconocer al patógeno es extremadamente importante. (6)

### **6.2.5. Identificación y perfiles de susceptibilidad de bacterias recuperadas de hemocultivos positivos**

Posterior al subcultivo se realiza la identificación de bacterias recuperadas de hemocultivos positivos corresponde a conocer el agente etiológico causante de la bacteriemia. (20)

La identificación de género y especie proporciona al personal médico información para seleccionar o ajustar el agente antimicrobiano específico en cuanto a la resistencia intrínseca, esto apoya a reducir la mortalidad y morbilidad de los pacientes con bacteriemia. (20)

La resistencia intrínseca se refiere al mecanismo de resistencia innata de la especie bacteriana. En la práctica la resistencia intrínseca suele implicar que todas las cepas de una especie de bacteria son resistentes a un antibiótico dado. (27)

La terapia antimicrobiana específica basada en género y especies bacterianas y su resistencia intrínseca está bien documentada en la guía de renovación anual de la CLSI M100, inclusive se encuentra gestión médica por zonas geográficas o casos de IAAS. (5)

De manera convencional la identificación se realiza a partir de colonias aisladas por métodos de subcultivos. (8)

En el mercado existen varios sistemas automatizados para la identificación bacteriana (Tabla 4), de los cuales, su utilidad depende de la concordancia con bases de datos para seleccionar los respectivos géneros y especies pudiendo ser a una probabilidad estadística dada y además con tiempo reportados de obtención de resultados de minutos a horas. (5, 8, 9 y 20)

**Tabla 4. Equipos automatizados para realizar la identificación de bacterias. Adaptada de Mahon C. R. (33)**

<b>Sistemas automatizados comerciales disponibles para la identificación de microorganismos</b>				
<b>Nombre</b>	<b>Fabricante</b>	<b>Principio</b>	<b>Tiempo promedio de Identificación</b>	<b>Organismos identificados</b>
<b>AUTOMATIZADO</b>				
MALDI-TOF MS®	Bruker Daltonics®	Análisis de biomoléculas extraídas de la bacteria, con apoyo de una matriz orgánica (ácido alfa-ciano-3,4-hidroxicinámico (HCCA)) que permite la producción de iones intactos en fase gaseosa de biomoléculas de gran tamaño, no volátiles y termolábiles, como las proteínas, ionizadas suavemente (menor fragmentación de las biomoléculas) por un láser que las volatiliza fácilmente formando iones en una cámara de alto vacío, atraídas al detector de las partículas cargadas por un potente campo magnético (tiempo de vuelo (TOF)), detectadas en función de su masa/carga y su abundancia relativa (intensidad) y registrando el tiempo en que tarda la partícula cargada en atravesar el campo magnético.	30 minutos	Organismos Gram positivos y Gram negativos y anaerobios
Accelerate Pheno®	Accelerate Diagnostic®	Método de imagen que combina una técnica de	2 horas	Organismos Gram positivos, Gram

		<p>electrofiltración en gel e hibridación “in situ” fluorescente (FISH), junto a la microscopia automatizada que permite identificar la presencia de 10 especies y 6 géneros bacterianos.</p>		<p>negativos y levaduras</p>
<p>MicroScan (Autoscan, WalkAway)®</p>	<p>Beckman Coulter®</p>	<p>Posee una gran incubadora lectora autónoma con capacidad de 40 o 96 paneles de prueba. Se utilizan paneles de microdilución que se hidratan e inoculan manualmente, los paneles se colocan en posiciones en el módulo de incubadora grande. El tipo de prueba bioquímica a realizar se indica en una etiqueta de código de barras legible ubicada en cada extremo del panel, misma a la que da lectura el equipo para que robóticamente agregue los reactivos necesarios con seguimiento. Al final coloca los paneles debajo de la estación central del fotómetro para realizar las lecturas por uso de carbohidratos / sustrato cromogénico / sustrato fluorogénico por parte de las bacterias</p>	<p>2 horas con 30 minutos</p>	<p>Enterobacteriaceae, otros bacilos Gram negativos, <i>Neisseria spp.</i>, <i>Haemophilus spp.</i>, streptococci, enterococci, staphylococci, levaduras, anaerobios y bacilos Gram positivos</p>
<p>Vitek 2®</p>	<p>bioMérieux®</p>	<p>Posee una gran incubadora lectora autónoma con capacidad de 60 o 140 tarjetas de prueba. El tipo de prueba bioquímica a realizar se indica</p>	<p>5 horas</p>	<p>Enterobacteriaceae, otros bacilos Gram negativos, <i>Neisseria spp.</i>, <i>Haemophilus spp.</i>, streptococci,</p>

		<p>en una etiqueta de código de barras legible ubicada en cada tarjeta, misma a la que da lectura el equipo. Al final coloca los paneles debajo de la estación central del fotómetro para realizar las lecturas por uso de carbohidratos / sustrato cromogénico / por parte de las bacterias.</p>		<p>enterococci, staphylococci, levaduras, anaerobios y bacilos Gram positivos</p>
--	--	---	--	---

En conjunto a la identificación se realizan los perfiles de susceptibilidad para identificar que antimicrobianos son específicamente efectivos para un paciente, a grandes rasgos el objetivo principal es la evaluación del probable tratamiento provisto por hospitales, clínicas y demás, con el fin de tratar y controlar enfermedades infecciosas, sobre todo ante la presencia de resistencias intrínsecas o adquiridas de las bacterias. (7)

La resistencia adquirida ocurre cuando una bacteria que fue susceptible a un antibiótico adquiere una mutación o material genético exógeno que le permite resistir la actividad de dicho antibiótico y afecta sólo algunas cepas de una especie bacteriana. (27)

Para analizar los perfiles de susceptibilidad se emplean diferentes métodos por cada laboratorio, que van desde la difusión en disco Kirby Bauer y dilución como lo es la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC), de los cuales, están descritos varios procesos estandarizados por parte de la CLSI y existen también equipos automatizados para su realización. (7 y 33)

Para la realización de la prueba de difusión en disco Kirby Bauer se requiere de manera convencional usar colonias aisladas de la bacteria no mayores a 24 a 48 horas de incubadas, por medio de inóculos se genera una suspensión de 0.5 McFarland (corresponde aproximadamente a  $1.5 \times 10^8$  UFC/ml de *Escherichia coli*,) donde la densidad óptica de la suspensión se corrobora en un lector espectrofotométrico a una absorbancia de 625 nm obteniendo un rango entre 0.08 a 0.13 como aceptable según el Comité Europeo de Perfiles

de Suceptibilidad a Antimicrobianos (EUCAST). La suspensión de bacterias se siembra de manera masiva en el Agar Mueller Hinton, Agar Sangre Mueller Hinton o Agar Sangre dependiendo el tipo de bacteria o de perfil de susceptibilidad a realizar. En la superficie del agar se colocan los discos de difusión estandarizados a 5mm de diámetro y 2 mm grosor, que contienen los antibióticos a analizar (uno por cada disco) de manera separada (no más de 6 discos en una placa circular de 90mm, ni más de 12 en una placa circular de 150mm) y se incuba de 16 a 24 horas con base en las indicaciones EUCAST, con fines de observar inhibición o no de crecimiento bacteriano alrededor del disco de difusión, y en su caso, medir el diámetro de inhibición en mm con ayuda de un instrumento de medición, como una regla o vernier calibrado posteriormente se interpreta el resultado obtenido de tamaño de diámetro con apoyo de guías específicas de la CLSI y EUCAST, mismas que aportan la forma de lectura por medio de puntos de corte, donde se define la susceptibilidad o resistencia; dicho protocolo se lleva de 38 a 48 horas considerando la difusión del disco, microdilución manual y pruebas de gradiente. (7 y 33)

Para la realización de una prueba MIC se trabaja a partir de una suspensión de 0.5 McFarland (mismas indicaciones de obtención que el método de difusión en disco Kirby Bauer), se puede realizar una macrodilución o dilución en tubo de diferentes antibióticos en caldo Muller-Hinton, en los cuales, se agrega una suspensión estandarizada de bacterias y se incuba por 24 horas a 35°C. La MIC se determina como la concentración más baja que inhibe el crecimiento por ausencia de turbidez con apoyo de un lector espectrofotométrico. Para equipos automatizados la prueba MIC de macrodilución en caldo se ha miniaturizado y adaptado a bandejas de microdilución de pocillos múltiples que cuentan generalmente con 96 pocillos que se llenan con 0.1 ml de concentraciones de dilución doble de antibiótico en caldo. Debido a la gran cantidad de pozos, se puede contener una gran cantidad de diluciones de antibióticos, la incubación tiende a ser de máximo 24 horas a 35°C, y a partir del cual se analiza la MIC como la concentración más baja que no muestra un crecimiento bacteriano evidente (turbidez o gránulo en el fondo del pocillo) por medio del lector espectrofotométrico. (33)

Existen equipos automatizados aprobados por la FDA, con tarjetas de lectura específicas según el Gram, género o especie, como Vitek 2<sup>®</sup> (bioMérieux<sup>®</sup>), Sensitive Aris<sup>®</sup> (Thermo Fisher Scientific<sup>®</sup>), Alfred 60<sup>AST</sup><sup>®</sup> (Alifax<sup>®</sup>), BD PHOENIX SYSTEM<sup>®</sup> (Becton-Dickinson<sup>®</sup>), entre otros, para realizar las perfiles de susceptibilidad, mismas que pueden aplicar clasificaciones para definir puntos de corte de susceptibilidad o resistencia, apoyadas de las guías específicas de la CLSI y EUCAST. Estos protocolos tardan de 4 a 48 horas dependiendo el uso de protocolos de validación, reglas de interpretación predefinidas, detección de resistencias inducidas o si se requiere el uso de equipos adicionales. (Tabla 5) (2, 10, 32 y 36)

Los perfiles de susceptibilidad proporciona información al médico para que seleccione o ajuste el agente antimicrobiano apropiado en conjunto de conocer la información respecto a la resistencia intrínseca y/o adquirida. (9)

**Tabla 5. Sistemas manuales y automatizados para realizar las pruebas de susceptibilidad a antimicrobianos. Adaptada de Mahon C. R. (33)**

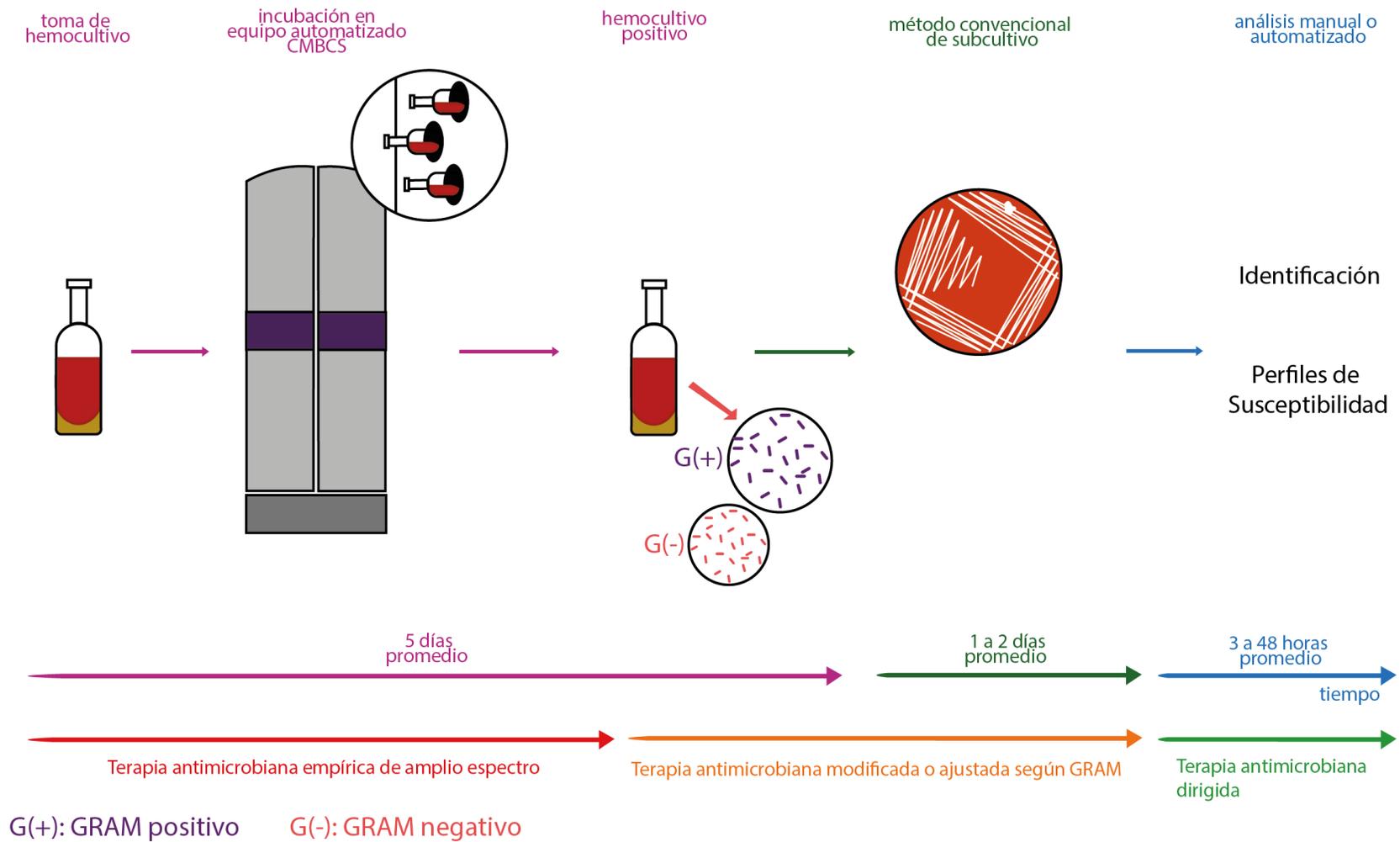
<b>Sistemas manuales y automatizados comerciales disponibles para realizar pruebas de susceptibilidad a antimicrobianos</b>			
<b>Nombre</b>	<b>Fabricante</b>	<b>Principio</b>	<b>Tiempo promedio de emisión de resultados</b>
<b>MANUAL</b>			
Etest	bioMérieux®	Difusión en agar	24 a 48 horas
Kirby bauer	Variable	Difusión en agar	24 a 48 horas
<b>AUTOMATIZADO</b>			
Vitek®	bioMérieux®	MIC	4 horas
Lumione BL-2000®	Hitachi®	MIC	6 horas
SERS Spectra®	Renishaw Diagnostic®	MIC	12 horas
Alfred60®	Alifax®	MIC	6 horas
Accelerate Pheno®	Accelerate Diagnostic®	MIC	7 horas
PHOENIX®	BD Diagnostic Systems®	MIC	8 horas
Sensititre Aris System®	ThermoFisher Scientific®	MIC	16 horas

Como se observa en las tablas 3 y 4 hay equipos que pueden realizar tanto la identificación como los perfiles de susceptibilidad. (33)

Acelerar los procedimientos de identificación y pruebas de susceptibilidad a antimicrobianos genera la pronta predicción de tratamiento con el fin de evitar el uso de terapias empíricas de amplio espectro, por tiempos prolongados debidas al tiempo de espera de resultados subsecuentes a los métodos convencionales, Esto puede conducir al desarrollo de cepas bacterianas resistentes a los antimicrobianos y al aumento de la morbilidad y mortalidad de los pacientes. (9, 20 y 31)

La Imagen 8 tiene el propósito de resumir la práctica convencional para el diagnóstico de una bacteriemia en el laboratorio clínico, así como su relación respecto al tiempo de ejecución de la prueba y la terapia antimicrobiana empleada por el personal médico.

**Imagen 8. Ilustración de resumen de los tiempos y terapias empleadas utilizando el método convencional para el diagnóstico de bacteriemias a partir de un hemocultivo. Basada de Mahon C. R. (33)**



## **7. ANTECEDENTES**

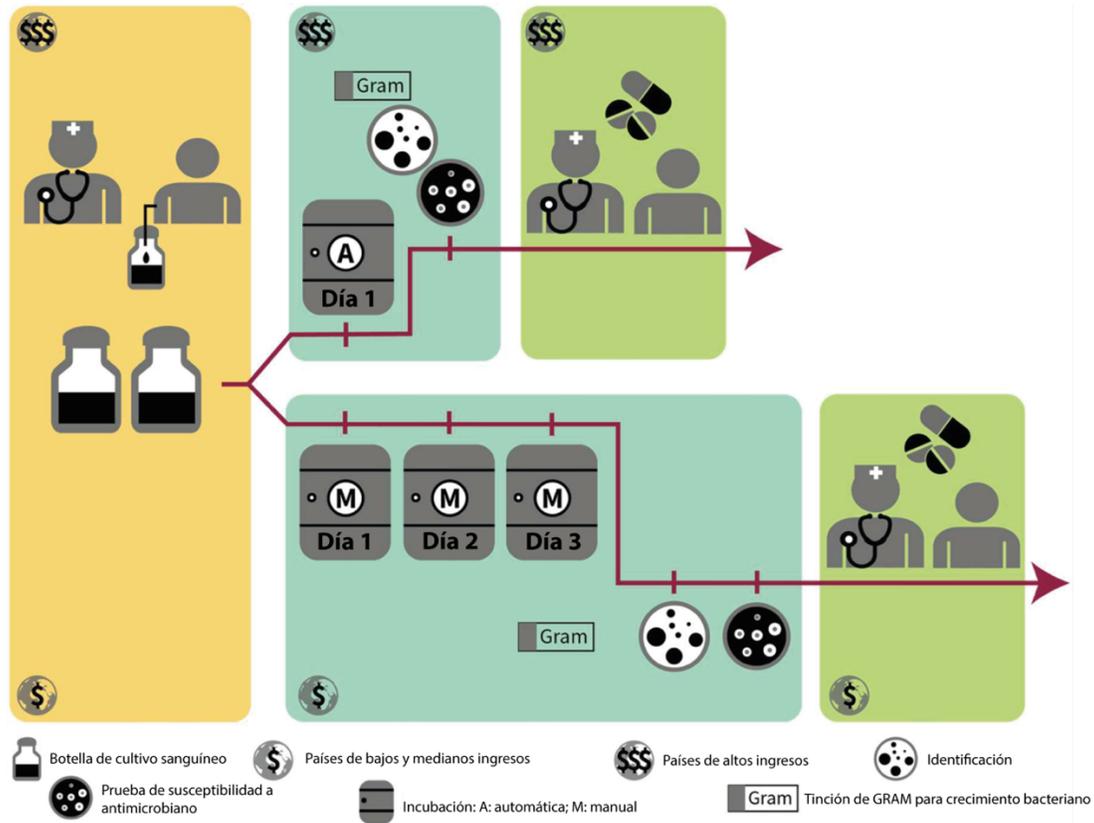
### **7.1. Tiempo de positividad de hemocultivos y la mortalidad.**

En relación a pacientes con bacteriemia, esto incluyendo a pacientes con sepsis y choque séptico, se demostró que el tiempo de positividad de hemocultivos es un factor independiente en relación con la mortalidad, esto debido a que el aumento de la mortalidad ocurre a menos de 12 horas y más de 27 horas de iniciar incubación de los hemocultivos, siendo mejor relacionado el aumento de la mortalidad con otros factores como; el atraso de la aplicación de tratamiento adecuado basado en perfiles de susceptibilidad (6 a 12% de aumento de mortalidad por cada hora de retraso), a la presencia de bacterias Gram negativas (78% de mortalidad), choque séptico (63% de mortalidad) y la endocarditis (80% de mortalidad). (25)

### **7.2. Métodos rápidos de recuperación bacteriana directo de hemocultivos positivos**

Existen flujos de trabajo para hemocultivos positivos que permiten acelerar la identificación y los perfiles de susceptibilidad, sin embargo implican un mayor gasto de recursos por parte del laboratorio. (Imagen 9). (41)

**Imagen 9. Flujo de trabajo de hemocultivos positivos en países clasificados con base en su nivel de ingresos. Tomada de Ombelet S. (41)**



Los flujos de trabajo que mejoran el tiempo de respuesta, se han desarrollado a partir de ensayos moleculares utilizando tecnologías de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) como el equipo FilmArray<sup>®</sup> (bioMérieux<sup>®</sup>) útil en identificación o de tecnología de microarreglos como Gene-Chip<sup>®</sup> (Thermo Fisher Scientific<sup>®</sup>) útil en resistencia bacteriana. Algunos de estos ensayos reducen significativamente el tiempo de respuesta a horas y han sido utilizados por muchos laboratorios clínicos, sin embargo, existen limitaciones importantes como el costo de los instrumentos que en general es elevado (de 300 a 6000 pesos por prueba), además de que la cobertura de especies bacterianas es limitada debido a la dependencia de las sondas de oligo-DNA de los microorganismos. (47)

Un enfoque alternativo que puede superar estas limitaciones es el uso del equipo de Desorción láser asistida por matriz acoplada a espectrometría de masas de ionización de tiempo de vuelo (MALDI-TOF MS<sup>®</sup> (Bruker Daltonics<sup>®</sup>)) directamente de hemocultivos

positivos y pudiendo ser apoyado del estuches comerciales como Sepsityper® (Bruker Daltonics®) específico para este equipo, con limitantes de uso exclusivo para identificación y detección de algunas resistencia a betalactamasas y carbapenemasas, el cual reduce significativamente el tiempo a minutos para la identificación en comparación de métodos convencionales, pero cuyo costo por prueba oscila en 60 pesos considerando también que el reactivo y la renta anual del equipo es aproximada de un millón de pesos. (31)

Investigadores y algunos laboratorios clínicos informan en la literatura el uso de diversos métodos rápidos de recuperación bacteriana a partir de hemocultivos positivos, que aceleran el comenzar con la identificación y perfiles de susceptibilidad. Estos métodos son fáciles de usar, confiables y rentables para el laboratorio clínico. (29 y 31)

Los métodos rápidos se fundamentan en las siguientes 4 metodologías pioneras, los cuales se presentan en diversas variables no normalizadas, como se describe a continuación (Imagen 10):

- a) **El método de células intactas:** Utilizado para la identificación en el sistema MALDI-TOF MS® (Bruker Daltonics®), en el cual, se toma 4 ml del hemocultivo positivo y se centrifuga a 2000 g por 30 segundos, el sobrenadante se vuelve a centrifugar a 15000 g por 5 minutos, del cual el pellet se lava con 1 mL de agua desionizada por 15 segundos, se centrifuga nuevamente a 15000 g por 5 minutos y finalmente el pellet se resuspende en 1 mL de medio Agar Infusión Cerebro Corazón (BHI) y se hacen alícuotas para su uso. (17)
- b) **El método de centrifugación en tubo separador de suero:** Inicia a partir de tomar 8 ml de hemocultivo positivo que se transfieren a un tubo separador de suero de 8.5 mL (Becton Dickinson®), la muestra se centrifuga a 2000 g por 10 minutos y el sobrenadante se alícuota para su uso posterior. (17)
- c) **El método de filtración/lisis llamado método casero:** Combina la lisis y filtración en la recuperación bacteriana directa de hemocultivos positivos. En el protocolo A, 9 mL de hemocultivo positivo son tratados con saponina al 0.1% por cada 1 ml de cultivo por 5 minutos, el lisado resultante se filtra con filtro milipore de 5µM en un tubo Falcon vacío

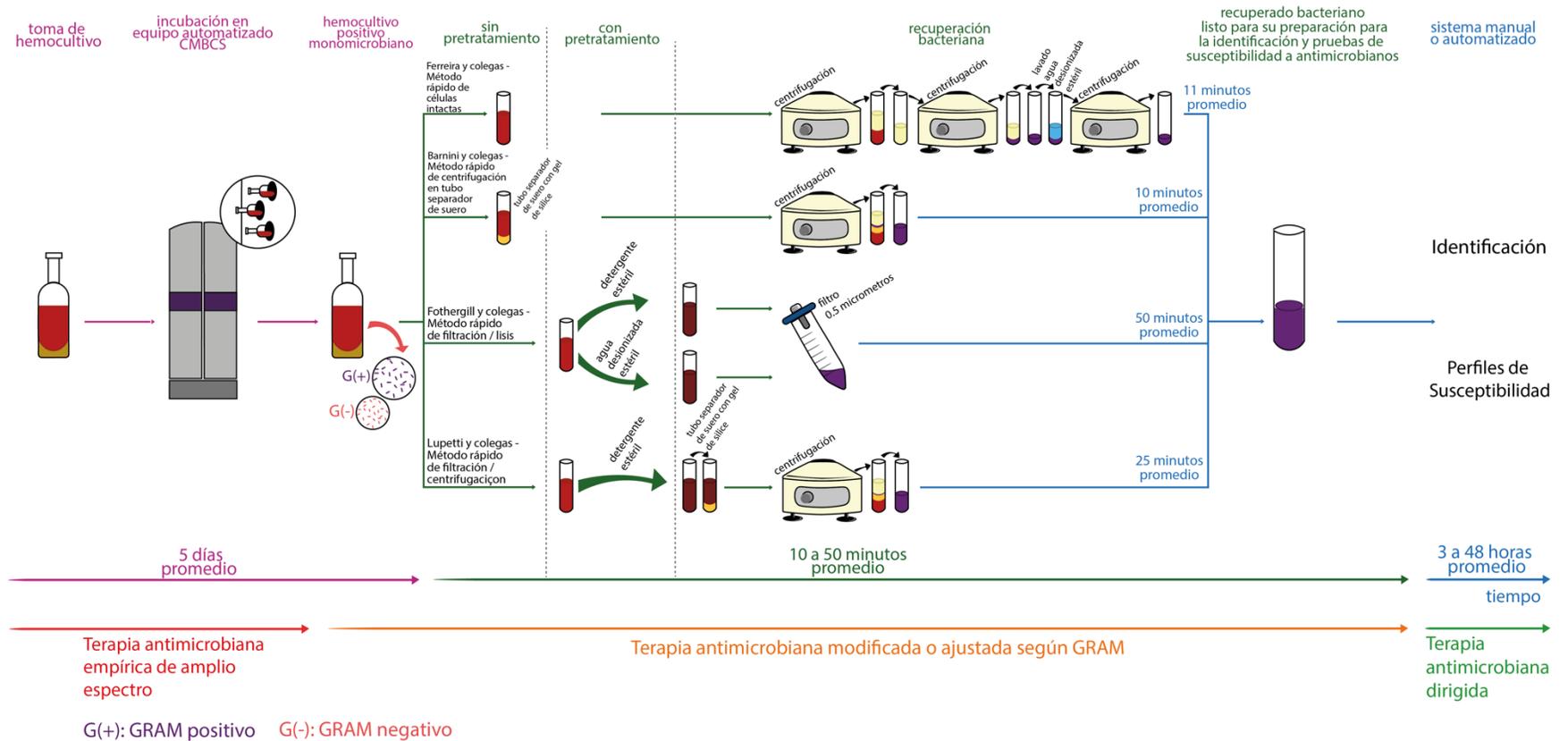
de 15 ml. En el protocolo B que involucra la lisis osmótica por dilución del cultivo de sangre 1:100 con agua desionizada estéril, el lisado resultante se filtra con filtro Milipore® de 5µM en un tubo Falcon® vacío de 15 ml. Después de filtrar las muestras en ambos protocolos están listas para su uso. (17)

- d) **El método de filtración/centrifugación:** Se trata 7mL de hemocultivo positivo con saponina al 0.01% por 15 minutos a temperatura ambiente, posteriormente se transfiere a un tubo separador de suero y se centrifuga 1500 a 2000 g por 10 minutos, se alícuota y queda listo para su uso. (17)

Los métodos rápidos se realizan con el fin de recuperar sedimentos bacterianos libres de células sanguíneas humanas, proteínas y medio de cultivo que pudieran interferir con la identificación y perfiles de susceptibilidad. Algunos de estos métodos varían en cuanto a su preparación y tiempo de ejecución, por lo que se requieren que estén estandarizados, como Sepsityper® (Bruker Daltonics®), un método comercial con los mismos fines de recuperación bacteriana, en el cual, el uso de pretratamientos basados en detergentes como la saponina (compuesta de una molécula de aglicona como ácido olanólico, hederagenina, ácido fitolacagénico entre otros y una molécula de carbohidrato como arabinosa, glucosa o galactosa) apoya para lisar selectivamente las células sanguíneas, al fijarse a los esteroides de la membrana celular (el nivel de actividad lítica es atribuida al tipo de aglicona y a la presencia de cadenas laterales de azúcares), generando poros y aumentando la permeabilidad, la ausencia de esteroides en membranas celulares de organismos procariotas hace a este tratamiento adecuado para no dañar las células bacterianas. Las proteínas, medio de cultivo y otra contaminación se pueden eliminar por medio de centrifugaciones y lavados para que no interfieran en los posteriores análisis. (20, 31, 56 y 58)

A partir de las recuperaciones bacterianas rápidas diversos autores han propuesto la implementación en sistemas automatizados para la identificación y determinación de perfiles de susceptibilidad. (31)

**Imagen 10. Ilustración de resumen en tiempo de los principales métodos rápidos de recuperación bacteriana para el diagnóstico de bacteriemias. Basada de Freimann y Kayin. (20 y 31)**



## **8. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿Los métodos rápidos de recuperación bacteriana a partir de hemocultivos positivos podrán sustituir a los métodos convencionales de subcultivo en el diagnóstico de las bacteriemias?

## 9. JUSTIFICACIÓN

Las bacteriemias se definen como la presencia de bacterias vivas en el torrente sanguíneo, siendo transitorias y sin complicaciones clínicas cuando el sistema inmunológico de la persona funciona correctamente, pero, cuando este sistema está desbalanceado, puede dar origen al Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica (SIRS) como lo es la sepsis, debida de una respuesta inmunológica exacerbada a la presencia y actividad de los componentes bacterianos presentes, que derivan en la presencia de síntomas como fiebre, hipotermia, taquicardia y edema.

Un paciente con sepsis se le administra un tratamiento empírico de amplio espectro, que no se sabe si es bien dirigido, e inclusive pudiera favorecer la generación de resistencia bacteriana. Con el apoyo de la identificación y los perfiles de susceptibilidad del agente etiológico recuperado de hemocultivos, el personal médico establece el tratamiento apropiado.

Para el diagnóstico de la bacteriemia se utiliza como estándar de oro el hemocultivo y el método convencional de subcultivo, estos métodos tienen la desventaja de tardar un promedio de 6 a 7 días en la recuperación bacteriana, más un promedio de 3 a 48 horas para realizar la identificación y los perfiles de susceptibilidad. Uno de los riesgos más importantes asociados con el tiempo empleado para la determinación del tratamiento específico por el laboratorio clínico estriba en la elevada morbilidad y mortalidad asociada a las bacteriemias. En este contexto la reducción de los tiempos en el diagnóstico resulta de vital importancia. Una estrategia alternativa para conseguirlo se plantea mediante el empleo de un método rápido que reduce el tiempo total de recuperación bacteriana a un promedio de 5 a 6 días.

Los métodos rápidos utilizados para este propósito no sustituye el uso del método convencional de subcultivo. Estos podrían agilizar el tratamiento oportuno y adecuado de las bacteriemias. Dado que existe más de una manera de realizar métodos rápidos de forma manual o mediante el uso de equipos comerciales, es importante conocer las implicaciones, ventajas y desventajas de cada uno de ellos.

## **10. HIPÓTESIS**

Si los métodos rápidos para recuperar bacterias a partir de hemocultivos positivos son concordantes con el método convencional de subcultivo, entonces podrían sustituirlos para acelerar el diagnóstico de bacteriemias.

## **11. OBJETIVOS**

### **11.1. General**

Revisar en la bibliografía el uso de diversos métodos rápidos de recuperación bacteriana a partir de hemocultivos positivos y su comparación con el método convencional de subcultivo.

### **11.2. Particulares**

Seleccionar bibliografía sobre métodos que aceleran la recuperación bacteriana a partir de hemocultivos positivos.

Calcular la sensibilidad de los métodos rápidos contra los métodos convencionales de subcultivo en la recuperación bacteriana a partir de hemocultivos positivos.

Comparar la correlación reportada entre el uso de métodos rápidos y los métodos convencionales de subcultivo para la recuperación bacteriana a partir de hemocultivos positivos, con base en los resultados de pruebas de identificación y perfiles de susceptibilidad.

Describir ventajas y desventajas respecto al uso de los métodos rápidos para la recuperación bacteriana a partir de hemocultivos positivos.

## **12. MATERIAL Y MÉTODOS**

### **12.1. Diseño experimental**

Este trabajo es una revisión bibliográfica sistemática, retrospectiva, transversal, comparativa y abierta, en la que se describieron las principales características sobre el uso de los métodos rápidos de recuperación bacteriana a partir de hemocultivos positivos en comparación con el método convencional de subcultivo, de publicaciones entre los años 2016 – 2020.

### **12.2. Protocolo y registro**

Para la selección de las referencias bibliográficas se aplicaron los siguientes puntos sugeridos por la metodología de Publicación de Revisiones Sistemáticas y Meta Análisis PRISMA (57):

- a) Protocolo y registro: Reportar metodología a usar para la selección de referencias bibliográficas.
- b) Criterios de elegibilidad: Declarar criterios para aceptar o descartar referencias bibliográficas.
- c) Fuentes de información: Reportar bases de datos donde obtener las referencias bibliográficas.
- d) Búsqueda: Reportar forma de búsqueda de las referencias bibliográficas.
- e) Proceso de extracción de datos: Reportar forma de extraer información relevante de las referencias bibliográficas.
- f) Lista de datos: Auxiliar el proceso de extracción de datos.

### **12.3. Criterios de elegibilidad**

A. Criterios de inclusión de bibliografía:

- a) Todas las publicaciones con referencia al tema de los años 2016 en adelante.
- b) Publicaciones en todos los idiomas.

- c) Reportes sobre el uso de uno o más métodos rápidos de recuperación de bacterias a partir de hemocultivos positivos.
- d) Reportes de uso de hemocultivos de pacientes con bacteriemia.
- e) Reportes de realización de identificación y/o determinación de pruebas de susceptibilidad a antimicrobianos de hemocultivos positivos, con uso de equipos automatizados o manuales.
- f) Autores sin conflictos de interés.

B. Criterios de exclusión de bibliografía:

- a) Reportes o fracciones de reportes sobre el uso de métodos rápidos de recuperación para otros microorganismos diferentes a las bacterias a partir de hemocultivos positivos.

#### **12.4. Fuentes de información**

Se utilizaron las siguientes bases de datos para la obtención de referencia bibliográfica:

- a) National Center of Biotechnology Information NCBI / US National Library of Medicine National Institutes of Health PMC. (39).
- b) Medigraphic Literatura Biomédica. (37)
- c) ELSEVIER. (16)

Cuyo acceso es las 24 horas los 365 días del año.

Consultadas del 28 de Septiembre de 2020 al 11 de Febrero de 2021.

#### **12.5. Búsqueda**

Se realizó un análisis de metadatos (13) a partir de 9 comparadores directos (Tabla 6) que corresponden a la relación de un enunciado o palabra con otro, sin repetir y siempre con relación al tema, dichos comparadores directos se utilizaron en los buscadores de las bases de datos.

Los enunciados y palabras claves usadas fueron:

- a) Bacteria.
- b) Hemocultivo positivo.
- c) Identificación rápida.
- d) Perfiles de susceptibilidad de antibióticos rápidos.
- e) Tubo separador de suero.

**Tabla 6. Comparadores directos para realizar análisis de metadatos.**

<b>Comparador directo</b>	<b>Primer enunciado o palabra</b>	<b>Segundo enunciado o palabra</b>
1	Bacteria	Identificación rápida
2		Perfiles de susceptibilidad de antibióticos rápidos
3		Tubo separador de suero
4	Hemocultivo positivo	Bacteria
5		Identificación rápida
6		Perfiles de susceptibilidad de antibióticos rápidos
7		Tubo separador de suero
8	Tubo separador de suero	Identificación rápida
9		Perfiles de susceptibilidad de antibióticos rápidos

## 12.6. Proceso de obtención de datos

Se recopiló la información por medio de tablas (Tabla 7):

**Tabla 7. Tabla para extraer datos de las referencias bibliográficas relacionadas con los métodos rápidos de recuperación bacteriana.**

DATOS (véase lista de datos)	REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA							
	1	2	3	4	5	6	7	8
1)	xxx	xxx	xxx	xxx	xxx	xxx	xxx	xxx
2)	xxx	xxx	xxx	xxx	xxx	xxx	xxx	xxx
Etcétera	...	...	...	...	...	...	...	...

## 12.7. Lista de datos

Se recopiló la siguiente información respecto a los métodos rápidos por medio de la tabla anterior:

- 1) Número consecutivo asignado.
- 2) Fuente.
- 3) Año.
- 4) Autor.
- 5) Título.
- 6) País de origen.
- 7) Objetivo.
- 8) Comparativos estudiados.
- 9) Equipo automatizado para CMBCS.
- 10) Tipo de frasco de hemocultivo.
- 11) Equipo automatizado para identificación.
- 12) Software de equipo automatizado para identificación.
- 13) Equipo automatizado para pruebas de susceptibilidad a antimicrobianos.

- 14) Software de equipo automatizado para pruebas de susceptibilidad a antimicrobianos.
- 15) Muestras.
- 16) Uso de tinción de Gram.
- 17) Método rápido y clasificación del método rápido
- 18) Bioestadística y criterios de aceptación.
- 19) Tiempo de incubación de hemocultivo.
- 20) Tiempo de recuperación bacteriana.
- 21) Tiempo para realizar la identificación.
- 22) Tiempo de pruebas para realizar los perfiles de susceptibilidad.
- 23) Resultados de identificación.
- 24) Ventajas y desventajas en relación con la identificación.
- 25) Resultados de la susceptibilidad a antimicrobianos.
- 26) Ventajas y desventajas en relación con los perfiles de susceptibilidad.
- 27) Conclusiones

## **12.8. Estadística**

Se analizaron las variables estadísticas (Tabla 8) con apoyo del software PRISMA® y Excel®.

**Tabla 8. Variables estadísticas.**

VARIABLE	ESCALA	TIPO	DATOS	VALOR VERDADERO	ESTADÍSTICO	HIPOTESIS
Dicotómica de Método rápido contra Método convencional de Subcultivo (Recupero o No Recupero bacterias)	Nominal	Cualitativo	Independientes	Conocido	Se calcula sensibilidad	Probabilidad del método rápido (valor observado) de recuperar bacterias de hemocultivos positivos contra método convencional de subcultivo (valor esperado)
Resultado de concordancia en la identificación de Gram positivos	Razón	Cuantitativa	Independientes	Conocido	Se obtiene la concordancia entre los resultados por medio de Kappa de Cohen (Tabla 19)	Incompatibilidad o no entre la distribución de frecuencias observadas y alguna distribución predeterminada o hipotética
Resultado de concordancia en la identificación de Gram negativos	Razón	Cuantitativa	Independientes			
Resultado de concordancia en la prueba de susceptibilidad a antimicrobiano de Gram positivos	Razón	Cuantitativa	Independientes			
Resultado de concordancia en la prueba de susceptibilidad a antimicrobiano de Gram positivos	Razón	Cuantitativa	Independientes			

## 13. RESULTADOS

### 13.1. Metadatos

Para la selección de las referencias bibliográficas, se utilizaron 9 comparadores directos (Tabla 6) en las bases de datos NCBI-PMC, MEDIGRAPHIC y ELSEVIER (Tabla 9).

**Tabla 9. Cantidad de artículos científicos obtenidos con el uso de 9 comparadores directos en 3 bases de datos.**

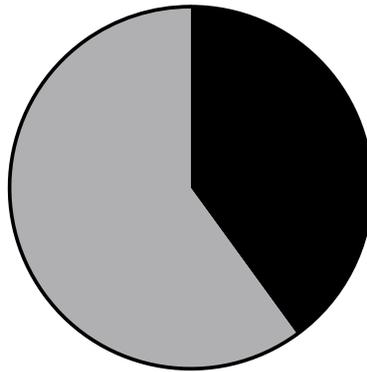
#	COMPARADOR DIRECTO	NCBI-PMC	MEDIGRAPHIC	ELSEVIER
1	Hemocultivo positivo – Bacteria	213,610	250	1,030
2	Hemocultivo positivo – Tubo separador de suero	1,324	250	4
3	Hemocultivo positivo – Perfiles de susceptibilidad de antibióticos rápidos	14,784	250	93
4	Hemocultivo positivo – Identificación rápida	126,555	250	310
5	Bacteria – Tubo separador de suero	1,060	250	3
6	Bacteria – Perfiles de susceptibilidad de antibióticos rápidos	31,547	250	124
7	Bacteria – Identificación rápida	265,415	250	399
8	Tubo separador de suero – Perfiles de susceptibilidad de antibióticos rápidos	112	250	0
9	Tubo separador de suero – Identificación rápida	927	250	1

A partir de los resultados obtenidos en la Tabla 9 se seleccionaron las publicaciones obtenidas del uso de los comparadores directos 5, 8 y 9, debido a que fueron los que presentaron un filtro más exhaustivo en el número de publicaciones. A las publicaciones seleccionadas se les aplicó los criterios de elegibilidad informados en el numeral 12.3. De este modo se obtuvieron 22 publicaciones.

### 13.2. Origen de las muestras de hemocultivos positivos

En relación al origen de las muestras de hemocultivos positivos, se reportó en los 22 artículos que los métodos rápidos fueron aplicados a pacientes hospitalizados, de los cuales, en 5 publicaciones informan el uso en pacientes pediátricos (del recién nacido a <18 años de edad) y adultos (>ó= a 18 años de edad). (Figura 1)

- 60% Estudiaron muestras de hemocultivos de pacientes adultos
- 40% Estudiaron muestras de hemocultivos de pacientes pediátricos

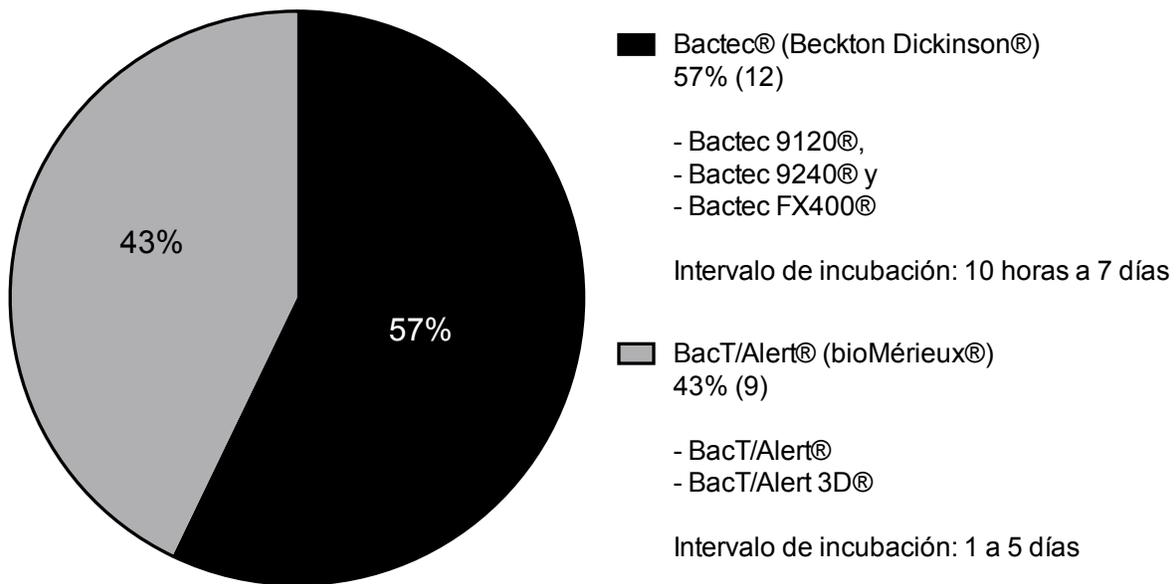


**Total: 5 artículos**

**Figura 1. Porcentaje del origen de las muestras de los hemocultivos.** En 5 artículos consultados se menciona que 60% estudiaron muestras de hemocultivos de pacientes adultos hospitalizados y el 40% restante de pacientes pediátricos hospitalizados.

### 13.3. Equipo CMBCS

En relación a la información referente al uso de los equipos CMBCS, los autores de las 21 publicaciones reportaron usar sólo modelos de equipos de las marcas BACTEC® (Becton-Dickinson®) y BacT/Alert® (BioMérieux®), cuya importancia fue en relación al tiempo de positividad de hemocultivos para comenzar la recuperación bacteriana. (Figura 2)



**Total: 21 artículos**

El numero entre paréntesis corresponde al número de equipos (total 21) reportados usarse en 21 artículos consultados y representa el porcentaje descrito.

**Figura 2. Equipos CMBCS empleados y tiempos de incubación para dar positivo a crecimiento bacteriano reportados en los artículos consultados.** En 21 de los 22 artículos consultados se menciona el uso de 3 modelos de equipo Bactec® (Bactec 9120®, Bactec 9240® y Bactec FX400®) y 2 modelos de equipo BacT/Alert® (BacT/Alert 3D® y BactecFX®), los cuales reportaron positividad de los hemocultivos en diferentes tiempos de incubación que van de 10 horas a 7 días.

#### 13.4. Hemocultivos positivos

En relación a la información referente a las muestras de hemocultivos positivos analizados, se reportó por parte de los autores de las 22 publicaciones, que sólo se analizaron hemocultivos monomicrobianos.

#### 13.5. Métodos rápidos de recuperación bacteriana

A partir de las publicaciones analizadas se observó el uso de 40 métodos rápidos de recuperación bacteriana (Tabla 10), estos fueron clasificados por su similitud metodológica en 18 categorías. Seis categorías correspondieron a métodos comerciales (BACpro® II (Nittobo Medical®), HB&L® (Alifax®), Método BHI, Pheno Test® (Accelerate Diagnostics®), PR2 y Sepsityper® (Bruker Daltonics®)), con un **tiempo de recuperación de 3 a 180 minutos**, siendo el método Sepsityper® (Bruker Daltonics®) el más utilizado y con **tiempos de recuperación de 3 a 180 minutos**. Las 12 categorías restantes hacen referencia a métodos rápidos no comerciales (DC, Direct MALDI ID, Método casero, Método SIC, PR1, Protocolo 1, Protocolo 2, Protocolo en casa, Saponina, SDS (Dodecil Sulfato de Sodio), SST (Tubo Separador de Suero) y SST ACK(Amonio-Cloruro-Potasio)) con **tiempo de recuperación de 5 a 242 minutos**, siendo el método SST el más utilizado con **tiempos de recuperación de 5 a 180 minutos**. Por otro lado, entre las 17 categorías descritas, únicamente 8 de ellas (BACpro® II (Nittobo Medical®), HB&L® (Alifax®), Pheno Test® (Accelerate Diagnostics®), Protocolo casero, Saponina, SDS, Sepsityper® (Bruker Daltonics), SST ACK) usaron un pretratamiento basado en detergentes.

**Tabla 10. Métodos rápidos y tiempos de recuperación bacteriana directa de hemocultivos positivos descritos en los 22 artículos consultados.**

<b>Categoría</b>	<b>Método rápido utilizado</b>	<b>Número de artículos que lo ocupan</b>	<b>Autor del método pionero</b>	<b>Pretratamiento</b>	<b>Tiempo(s) de recuperación reportado(s)</b>
1	SST	12	Barnini / Ferreira / Chen	No	5 a 180 minutos
2	Sepsityper® (Bruker Daltonics)	6	Comercial	SDS 10% o buffer de lisis Sepsityper®	3 a 180 minutos
3	Saponina	3	Lupetti / Martiny	Saponina 5%	5 a 23 minutos
4	HB&L® (Alifax)	2	Comercial	Detergente (no se declara)	15 minutos
5	Método casero	2	Barnini / Ferreira	No	12 a 22 minutos
6	Pheno Test® (Accelerate Diagnostics)	1	Comercial	Detergente (no se declara)	5 minutos
7	BACpro® II (Nittobo Medical)	1	Comercial	Detergente (no se declara)	6 minutos
8	PR1	1	Barnini	No	10 minutos
9	Protocolo 2	1	Barnini	No	10 minutos
10	Protocolo 1	1	Ferreira	No	20 minutos
11	SDS	1	Lupetti /	SDS 10%,	23 minutos
12	Protocolo casero	1	Barnini	SDS al 10%	24 minutos
13	Direct MALDI ID	1	Ferreira	No	30 minutos
14	SST ACK	1	Lupetti	ACK	37 minutos
15	DC	1	Ferreira	No	55 minutos
16	Método SIC	1	Martín-Pujol	No	210 minutos
17	PR2	1	Comercial	No	240 minutos
18	Método BHI	1	Ferreira	No	242 minutos

### 13.6. Sensibilidad de los métodos rápidos respecto a la recuperación de bacterias de hemocultivos positivos.

A partir de los reportes de recuperación bacteriana de los métodos rápidos contra los métodos convencionales de subcultivo en las 22 publicaciones seleccionadas, se calculó el porcentaje de sensibilidad de los métodos rápidos (22), con la finalidad de considerar si la probabilidad del método rápido para recuperar bacterias de hemocultivos positivos es buena ( $>ó=95%$ ) o no ( $<95%$ ). (Tabla 11)

**Tabla 11. Sensibilidad de los 40 métodos rápidos reportados en las 22 publicaciones.**

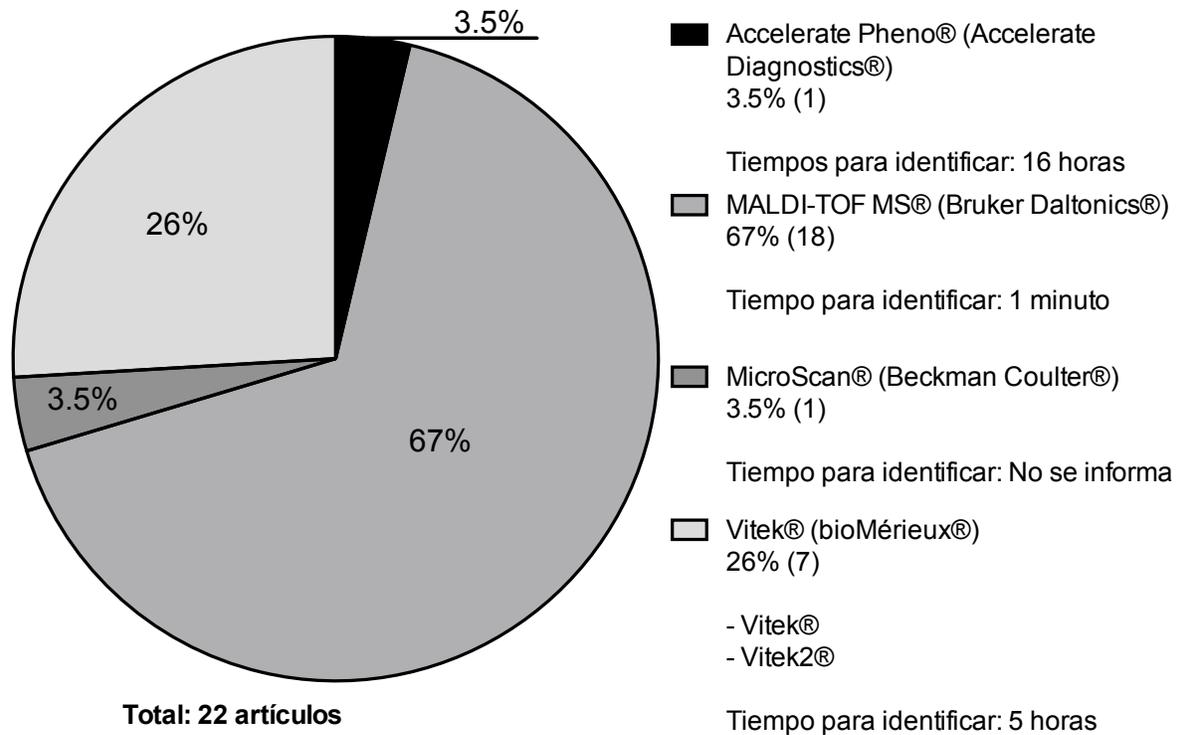
Métodos rápidos	Hemocultivos positivos analizados	Recupero bacterias	No recupero bacterias	Sensibilidad	Criterio de aceptación (22)
Direct MALDI ID (49)	47	47	0	100%	$>ó=95%$
HB&L® (Alifax®) (10)	275	275	0	100%	$>ó=95%$
Protocolo 1 (45)	61	61	0	100%	$>ó=95%$
Protocolo 2 (45)	81	81	0	100%	$>ó=95%$
Protocolo casero (61)	273	273	0	100%	$>ó=95%$
Saponina (19)	170	170	0	100%	$>ó=95%$
Sepsityper® (Bruker Daltonics®) (21)	81	81	0	100%	$>ó=95%$
SST (10)	288	288	0	100%	$>ó=95%$
SST (19)	170	170	0	100%	$>ó=95%$
SST (2)	150	150	0	100%	$>ó=95%$
SST (23)	60	60	0	100%	$>ó=95%$
SST (32)	133	133	0	100%	$>ó=95%$
SST (35)	15	15	0	100%	$>ó=95%$
SST (5)	103	103	0	100%	$>ó=95%$
SST (8)	100	100	0	100%	$>ó=95%$
SST ACK (26)	75	75	0	100%	$>ó=95%$
Sepsityper® (Bruker Daltonics®) (6)	179	178	1	99%	$>ó=95%$
PR1 (9)	183	179	4	98%	$>ó=95%$
PR2 (9)	183	179	4	98%	$>ó=95%$

HB&L® (Alifax®) (23)	60	58	2	97%	>ó=95%
Sepsityper® (Bruker Daltonics®) (34)	142	135	7	95%	>ó=95%
BACpro® II (Nittobo Medical®) (31) módulo Sepsityper®	179	169	10	94%	>ó=95%
Método SIC (34)	142	131	11	92%	>ó=95%
Método casero (6)	179	165	14	92%	>ó=95%
SST (20)	99	90	9	91%	>ó=95%
SST (44)	524	466	58	89%	>ó=95%
Pheno Test® (Accelerate Diagnostics®) (23)	60	53	7	88%	>ó=95%
BACpro® II (Nittobo Medical®) (31) módulo estándar	199	174	25	87%	>ó=95%
Saponina (34)	142	123	19	87%	>ó=95%
Sepsityper® (Bruker Daltonics®) (31) módulo Sepsityper®	179	147	32	82%	>ó=95%
Método BHI (54)	145	119	26	82%	>ó=95%
SST (50)	127	97	30	76%	>ó=95%
DC (20)	99	75	24	76%	>ó=95%
Sepsityper® (Bruker Daltonics) (53)	144	108	36	75%	>ó=95%
SDS (53)	144	104	40	72%	>ó=95%
Saponina (53)	144	101	43	70%	>ó=95%
Método casero (31) módulo Sepsityper®	179	125	54	70%	>ó=95%
Sepsityper® (Bruker Daltonics®) (31) módulo estándar	199	136	63	68%	>ó=95%
Método casero (31) módulo estándar	199	114	85	57%	>ó=95%
SST (54)	145	72	73	50%	>ó=95%

\*El número dentro del paréntesis de la columna de método rápido corresponde a la referencia bibliográfica.

### 13.7. Equipo para identificación

Se resume la información referente a los equipos de identificación bacteriana y sus tiempos reportados para emitir resultados a partir de recuperaciones bacterianas obtenidas por métodos rápidos:

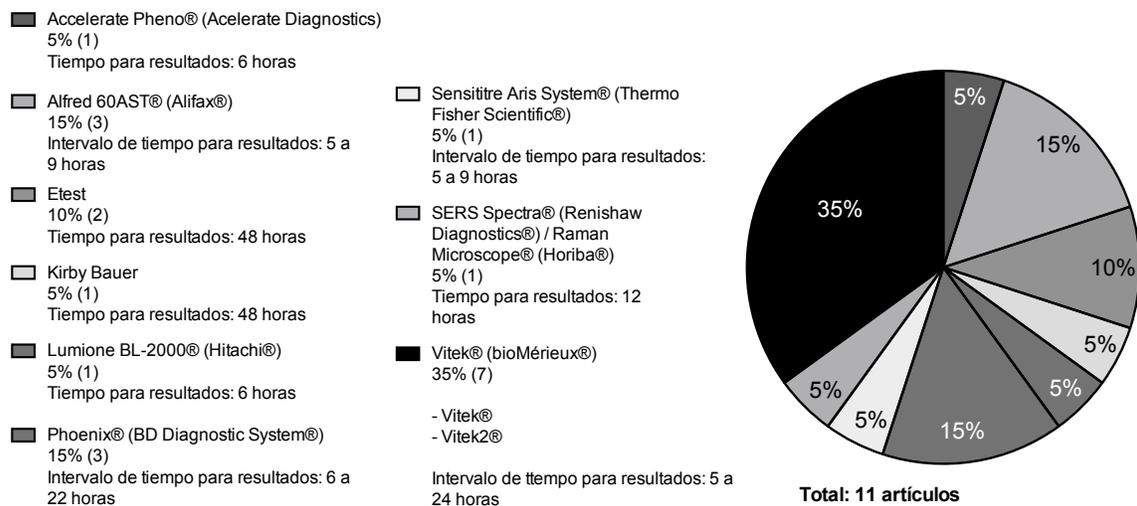


El número entre paréntesis corresponde al número de equipos (total 27) que se utilizaron en los 22 artículos consultados y representa el porcentaje descrito.

**Figura 3. Equipos y tiempos empleados para la identificación bacteriana en los artículos consultados.** En 22 artículos consultados se utilizaron 4 equipos automatizados (Accelerate Pheno® MicroScan®, MALDI-TOF MS® y Vitek® (dos modelos diferentes Vitek® y Vitek2®)), en los que se reportó un tiempo de identificación de 1 minuto a 16 horas, siendo el equipo MALDI-TOF MS® el más eficiente y el más utilizado (69%).

### 13.8. Equipo para perfiles de susceptibilidad

Se resume la información referente a los equipos automatizados y métodos manuales para realizar los perfiles de susceptibilidad y sus tiempos reportados para emitir resultados a partir de recuperaciones bacterianas obtenidas por métodos rápidos:



El número entre paréntesis corresponde al número de equipos (total 20) que se utilizaron en los 11 artículos consultados y representa el porcentaje descrito.

**Figura 4. Equipos automatizados, técnicas manuales y tiempos empleados para realizar las pruebas de susceptibilidad a antimicrobianos en los artículos consultados.** En 11 de los 22 artículos consultados se utilizaron 7 equipos automatizados (Accelerate Pheno®, Alfred 60AST®, Lumione BL-2000®, Phoenix®, Sensitre Aris System®, SERS Spectra/Raman Microscope® y Vitek® (dos modelos diferentes Vitek® y Vitek2®)), con los que se reportó un tiempo para emitir resultados de 3 a 24 horas, siendo el equipo Vitek® el que más se utilizó (35%), con tiempos para emitir resultados de 5 a 24 horas. Para las 2 técnicas manuales (Etest y Kirby Bauer) se reportó un tiempo para emitir resultados de 48 horas.

**13.9. Concordancias de los métodos rápidos respecto al método convencional de subcultivo en la identificación y los perfiles de susceptibilidad para bacterias Gram negativas y Gram positivas.**

Con la finalidad de determinar la concordancia de los 40 métodos rápidos (valor observado) respecto al método convencional de subcultivo (valor esperado de 100%), se calculó el porcentaje de concordancia categórica por el Índice Kappa de Cohen (1). Además, los datos se categorizaron considerando si se realizó la identificación (género y especie) (Tabla 15 y 16) o perfiles de susceptibilidad (Tabla 17 y 18) y de si se trataba de bacterias Gram negativas o Gram positivas.

**Tabla 12. Concordancias estadísticas de 35 métodos rápidos que se evaluaron por medio de la identificación de bacterias Gram negativas.**

#	Método rápido*	Datos observados (%)	Datos esperados (%)	Índice Kappa	Grado de acuerdo**
1	PR1 (9)	97.5	100	0.99	Casi perfecto
2	PR2 (9)	97.5	100	0.99	Casi perfecto
3	Sepsityper® (Bruker Daltonics®) (21)	95.9	100	0.97	Casi perfecto
4	Saponina (53)	100	100	1.00	Casi perfecto
5	SDS (53)	100	100	1.00	Casi perfecto
6	Sepsityper® (Bruker Daltonics®) (53)	100	100	1.00	Casi perfecto
7	Protocolo 1 (45)	100	100	1.00	Casi perfecto
8	Protocolo 2 (45)	100	100	1.00	Casi perfecto
9	Saponina (19)	100	100	1.00	Casi perfecto
10	SST (19)	100	100	1.00	Casi perfecto
11	Direct MALDI ID® (49)	96.8	100	0.98	Casi perfecto
12	Protocolo casero (60)	95.8	100	0.97	Casi perfecto
13	SST (8)	99	100	1.00	Casi perfecto
14	SST (23)	100	100	1.00	Casi perfecto

15	Pheno Test® (Accelerate Diagnostics®) (23)	98	100	0.99	Casi perfecto
16	Sepsityper® (Bruker Daltonics®) (34)	96.2	100	0.97	Casi perfecto
17	Saponina (34)	86.8	100	0.88	Casi perfecto
18	Método SIC (34)	92.5	100	0.94	Casi perfecto
19	SST (54)	73.5	100	0.75	Sustancial
20	Método BHI (54)	91.7	100	0.93	Casi perfecto
21	SST (44)	96	100	0.97	Casi perfecto
22	SST (6)	91.3	100	0.92	Casi perfecto
23	SST (32)	90	100	0.91	Casi perfecto
24	Sepsityper® (Bruker Daltonics®) (6)	98.9	100	1.00	Casi perfecto
25	Método casero (6)	92.3	100	0.93	Casi perfecto
26	Método casero (31) módulo estándar	88.1	100	0.89	Casi perfecto
27	Sepsityper® (Bruker Daltonics®) (31) módulo estándar	76.2	100	0.77	Sustancial
28	BACpro® II (Nittobo Medical®) (31) módulo estándar	94	100	0.95	Casi perfecto
29	Método casero (31) módulo Sepsityper®	91.8	100	0.93	Casi perfecto
30	Sepsityper® (Bruker Daltonics®) (31) módulo Sepsityper®	91.8	100	0.93	Casi perfecto
31	BACpro® II (Nittobo Medical®) (31) módulo Sepsityper®	98.6	100	1.00	Casi perfecto
32	DC (20)	70	100	0.71	Sustancial
33	SST (20)	100	100	1.00	Casi perfecto
34	SST (50)	92.9	100	0.94	Casi perfecto
35	SST (2)	100	100	1.00	Casi perfecto

\*El número dentro del paréntesis corresponde a la referencia bibliográfica.

\*\*Grado de acuerdo calificado con base en la tabla 16.

**Tabla 13. Concordancias estadísticas de 29 métodos rápidos que se evaluaron por medio de la identificación de bacterias Gram positivas.**

#	Método rápido*	Datos observados (%)	Datos esperados (%)	Índice Kappa	Grado de acuerdo**
1	PR1 (9)	96.1	100	0.97	Casi perfecto
2	PR2 (9)	96.1	100	0.97	Casi perfecto
3	Sepsityper® (Bruker Daltonics) (21)	95.9	100	0.97	Casi perfecto
4	Saponina (53)	98.3	100	0.99	Casi perfecto
5	SDS (53)	98.4	100	0.99	Casi perfecto
6	Sepsityper® (Bruker Daltonics) (53)	96.9	100	0.98	Casi perfecto
7	Direct MALDI ID (49)	100	100	1.00	Casi perfecto
8	Protocolo casero (60)	88.3	100	0.89	Casi perfecto
9	SST (23)	100	100	1.00	Casi perfecto
10	Pheno Test® (Accelerate Diagnostics®) (23)	90	100	0.91	Casi perfecto
11	Sepsityper® (Bruker Daltonics®) (34)	94.4	100	0.95	Casi perfecto
12	Saponina (34)	86.5	100	0.88	Casi perfecto
13	Método SIC (34)	92.1	100	0.93	Casi perfecto
14	SST (54)	28.5	100	0.30	Discreto
15	Método BHI (54)	74.1	100	0.75	Sustancial
16	SST (44)	83	100	0.84	Casi perfecto
17	SST (32)	90	100	0.91	Casi perfecto
18	Sepsityper® (Bruker Daltonics®) (6)	100	100	1.00	Casi perfecto
19	Método casero (6)	92	100	0.93	Casi perfecto
20	Método casero (31) módulo estándar	34.8	100	0.36	Discreto
21	Sepsityper® (Bruker Daltonics®) (31) módulo estándar	62.6	100	0.64	Sustancial
22	BACpro® II (Nittobo Medical®) (31) módulo estándar	82.6	100	0.84	Casi perfecto
23	Método casero (31) módulo Sepsityper®	75.5	100	0.77	Sustancial

24	Sepsityper® (Bruker Daltonics®) (31) módulo Sepsityper®	75.5	100	0.77	Sustancial
25	BACpro® II (Nittobo Medical®) (31) módulo Sepsityper®	91.5	100	0.93	Casi perfecto
26	DC (20)	79.7	100	0.81	Sustancial
27	SST (20)	84.7	100	0.86	Casi perfecto
28	SST (50)	42.8	100	0.44	Moderado
29	SST (2)	89.7	100	0.91	Casi perfecto

\*El número dentro del paréntesis corresponde a la referencia bibliográfica.

\*\*Grado de acuerdo calificado con base en la tabla 16.

**Tabla 14. Concordancias estadísticas de 15 métodos rápidos que se evaluaron por medio de perfiles de susceptibilidad de bacterias Gram negativas.**

#	Método rápido*	Datos observados (%)	Datos esperados (%)	Índice Kappa	Grado de acuerdo**
1	PR1 (9)	87.3	100	0.88	Casi perfecto
2	PR2 (9)	90	100	0.91	Casi perfecto
3	Protocolo 1 (45)	99.7	100	1.00	Casi perfecto
4	Protocolo 2 (45)	99.2	100	1.00	Casi perfecto
5	Saponina (19)	95.2	100	0.96	Casi perfecto
6	SST (8)	100	100	1.00	Casi perfecto
7	Pheno Test® (Accelerate Diagnostics®) (23)	85.4	100	0.86	Casi perfecto
8	HB&L® (Alifax®) (23)	91.1	100	0.92	Casi perfecto
9	SST (44)	97.75	100	0.99	Casi perfecto
10	SST (32)	96.1	100	0.97	Casi perfecto
11	SST (10)	100	100	1.00	Casi perfecto
12	HB&L® (Alifax®) (10)	90.8	100	0.92	Casi perfecto

13	SST (35)	50	100	0.51	Moderado
14	SST (2)	97.4	100	0.98	Casi perfecto
15	SST ACK (26)	93	100	0.94	Casi perfecto

\*El número dentro del paréntesis corresponde a la referencia bibliográfica.

\*\*Grado de acuerdo calificado con base en la tabla 16.

**Tabla 15. Concordancias estadísticas de 11 métodos rápidos que se evaluaron por medio de perfiles de susceptibilidad de bacterias Gram positivas.**

#	Método rápido*	Datos observados (%)	Datos esperados (%)	Índice Kappa	Grado de acuerdo**
1	PR1 (9)	93.1	100	0.94	Casi perfecto
2	PR2 (9)	93.8	100	0.95	Casi perfecto
3	Pheno Test® (Accelerate Diagnostics®) (23)	95.2	100	0.96	Casi perfecto
4	HB&L® (Alifax®) (23)	85.1	100	0.86	Casi perfecto
5	SST (44)	98	100	0.99	Casi perfecto
6	SST (32)	98.6	100	1.00	Casi perfecto
7	SST (10)	100	100	1.00	Casi perfecto
8	HB&L® (Alifax®) (10)	88.1	100	0.89	Casi perfecto
9	SST (35)	77.7	100	0.79	Sustancial
10	SST (2)	97.4	100	0.98	Casi perfecto
11	SST ACK (26)	93.8	100	0.95	Casi perfecto

\*El número dentro del paréntesis corresponde a la referencia bibliográfica.

\*\*Grado de acuerdo calificado con base en la tabla 16.

### 13.10. Ventajas y Desventajas

Ventajas:

- a) Se aplican a equipos automatizados y manuales.
- b) Se adaptan muy bien a la metodología de equipos automatizados que para identificar requieren un promedio de 30 minutos, como el caso del equipo MALDI-TOF MS®.
- c) Se pueden aplicar antes de que el equipo CMBCS emita la positividad del hemocultivo (a las 10 horas de iniciar la incubación).
- d) Son comparables en concordancia con los métodos convencionales.
- e) Existen versiones comerciales.
- f) Recuperan bacterias intracelulares.
- g) Los costos de unos métodos son muy bajos en contraste con los comerciales.
- h) Ahorran aproximadamente de 20 a 44 horas para comenzar a realizar la identificación y pruebas de susceptibilidad a antimicrobianos.
- i) Se obtienen buenas concordancias en comparación al método convencional en la identificación y pruebas de susceptibilidad a antimicrobianos para Gram negativos.
- j) Pueden potencializar su concordancia respecto al método convencional con el uso de pretratamientos basados en detergentes como la Saponina.

Desventajas:

- a) No pueden sustituir al método convencional de subcultivo debido a que no presentaron concordancias excelentes.
- b) No existe un 100% de concordancia con el método convencional.
- c) Sólo se pueden utilizar para hemocultivos bacterianos monomicrobianos.
- d) La mayoría de autores que estudiaron el uso de los métodos rápidos de recuperación bacteriana a partir de hemocultivos positivos sólo trabajó con Gram negativas.
- e) La mayoría de la información publicada de los métodos de recuperación bacteriana ha sido realizada con Gram negativas, falta más información y pruebas para Gram positivas.

- f) Muy pocos autores estudiaron el uso de métodos rápidos de recuperación bacteriana a partir de hemocultivos positivos para pruebas de susceptibilidad a antimicrobianos.
- g) Se requiere el uso de pre tratamientos basados en detergentes, centrifugación a altas velocidades y lavados, en el método utilizado para mantener una elevada concordancia con el método convencional sobre todo para el equipo MALDI-TOF MS®.
- h) Para la identificación de bacterias Gram positivas se debe considerar realizar una extracción correcta de las proteínas antes de la lectura en el equipo MALDI-TOF MS®

## 14. DISCUSIÓN

Para la selección de la bibliografía sobre métodos que aceleran la recuperación bacteriana (métodos rápidos) a partir de hemocultivos positivos, se decidió utilizar la metodología PRISMA (57), ya que esta permitió realizar revisiones sistemáticas y de metadatos con éxito, mismas que fueron parte del diseño experimental del presente trabajo.

De las 22 publicaciones seleccionadas:

Con el propósito de conocer si los métodos rápidos se pueden aplicar a pacientes con bacteriemia, se decidió colocar como criterio de aceptación aceptar publicaciones que usaron hemocultivos de pacientes, lo que permitió demostrar su uso en pacientes, debido a que todas las publicaciones informaron trabajar con hemocultivos de pacientes hospitalizados pediátricos y adultos, esto es muy importante considerando que los métodos rápidos buscarán su aceptación de aplicación en la práctica clínica, misma que queda pendiente de autorización para aprobar su uso por autoridades como la FDA en Estados Unidos y COFEPRIS en México.

La autorización de los métodos rápidos se podría lograr mediante la validación del método, considerando el uso de guías respecto a la validación de pruebas cualitativas, como lo es la guía de la CLSI EP12 A2, en donde se consideraría el uso de los métodos rápidos contra el método convencional de subcultivo a partir de hemocultivos positivos y negativos, de los cuales, se podría determinar parámetros de desempeño del método como la exactitud diagnóstica, sensibilidad, especificidad, tasa de falsos positivos y tasa de falsos negativos, parámetros de predicción de resultados como los valores predictivos positivos, valores predictivos negativos y parámetros de concordancia respecto al método convencional de subcultivo como los cocientes de probabilidades e índice Kappa, que aporten información respecto a su aplicación.

Con el propósito de conocer la aportación de los equipos CMBCS en el diagnóstico de bacteriemias, se decidió revisar porqué sólo se usaron dos marcas comerciales BACTEC® y BacT/Alert®. El autor González M. D. (24) declaró que, la mayoría de los laboratorios

clínicos implementa en la práctica clínica estos equipos CMBCS porque están aprobados por la FDA, evitan la contaminación del hemocultivo por apertura para sembrar y determinar presencia de bacterias (anteriormente así se declaraba positivo), permiten incubar diversos líquidos biológicos (incluido a la sangre), los frascos de hemocultivos son estandarizados y específicos de uso con su equipo respectivo (fabricantes cuentan con procesos estandarizados para la correcta recolección) y reportan un promedio de 5 días para dar positivo. En relación a los tiempos de positividad, en la presente revisión sobresale el trabajo del autor Giordano C. (23), mismo que informó utilizar métodos rápidos a partir de hemocultivos positivos de pacientes (reportado ser tomados con base en los requisitos de fabricante), incubados en equipo CMBCS por 10 horas, logrando posteriormente recuperar bacterias por el método rápido, demostrando que el uso de equipos CMBCS, la estandarización del uso de frascos de hemocultivos en la toma de muestra al paciente, juegan un papel importante respecto al tiempo de positividad en incubación, mismos que bien utilizados pueden auxiliar en el diagnóstico de una bacteriemia, acelerando el comenzar la aplicación de los métodos rápidos según Gutiérrez M. G. (25)

En las 22 publicaciones se informó que los métodos rápidos sólo se puede aplicar a hemocultivos positivos monomicrobianos, y con el propósito de conocer qué porcentaje de éstos están relacionados con pacientes hospitalizados con bacteriemias, se decidió revisar el porcentaje de hemocultivos positivos polimicrobianos (a los que no se le puede aplicar los métodos rápidos) reportados, siendo un rango de entre 10% a 20% según lo reportado por Akgun S., Azrad M., Barnini S., Falconer K., Kayin M. y Sharma M. (2, 6, 9, 17, 31 y 49), por lo que se puede inferir que los métodos rápidos se podrían aplicar a un aproximado de entre 80% a 90% de pacientes hospitalizados con bacteriemia.

De los 40 métodos rápidos reportados usarse en las 22 publicaciones, estos se fundamentaron en metodologías de los autores Barnini, Chen, Ferreira, Fothergill y Lupetti Martín-Pujol y Martiny, de los cuales, Barnini, Ferreira, Fothergill y Lupetti fueron pioneros en publicarlos según Falconer K. (17), y con el propósito de analizar los metadatos respecto a su uso, se decidió clasificar a los métodos rápidos en 18 categorías por su similitud en la metodología empleada (Tabla 10). Cabe notar que cuando se presenta más de un método en una categoría,

éstos presentan diversas variaciones en los pasos para la recuperación de bacterias, mismas que pudieran afectar o beneficiar la recuperación de bacterias por el uso o ausencia de pre tratamiento basado en detergente, la realización de una o más centrifugaciones a alta velocidad y uno o varios lavados según Barman P. (8), de los cuales, todos recuperaron bacterias de hemocultivos positivos en un intervalo de 3 a 242 minutos, con un ahorro de tiempo respecto al método convencional de subcultivo de aproximadamente de 20 a 44 horas, lo que es consistente con lo declarado por Faron M. L. (18) referente a que, múltiples estudios que usaron métodos rápidos de para recuperar bacterias a partir de hemocultivos positivos demostraron una reducción de 12 a 35 horas contra los métodos convencionales de subcultivo en los flujos de trabajo de los hospitales.

Con base en el ahorro de tiempo reportado en las publicaciones, se puede inferir que la aplicación de los métodos rápidos podría disminuir los índices de mortalidad en los pacientes hospitalizados con bacteriemia, a sabiendas que cada hora de retraso en la implementación de tratamiento basado en perfiles de susceptibilidad aumenta entre 6 al 12% la mortalidad de acuerdo con Gutiérrez M. G. (25).

Respecto al uso de pre tratamiento basado en detergentes los autores reportaron usar ACK, Saponina y SDS con el fin de limpiar la muestra de células sanguíneas, de los cuales el mejor detergente a utilizar es la Saponina, por estar dirigido específicamente a los esteroides de membranas celulares, los cuales no están presentes en procariotas evitando el riesgo de perder bacterias, contrario a la no selectividad del ACK y SDS, tensoactivos que principalmente inactivan sistemas enzimáticos que determinan cambios en la permeabilidad de la membrana celular procariota según Troisi y Yábar V. (56 y 58). El uso de detergentes es consistente con lo dicho por Barman P. (8), respecto a la utilidad de la limpieza de la muestra eliminando las células sanguíneas con el uso de pre tratamientos basado en detergentes, indicando también que las centrifugaciones a alta velocidad y los diversos lavados juegan un papel importante al disminuir el ruido de fondo, sobre todo cuando el uso de las bacterias es directo como la identificación por el equipo MALDI-TOF MS®.

De los 40 métodos rápidos, con el propósito de conocer la probabilidad que tienen para recuperar bacterias de hemocultivos positivos contra el método convencional de subcultivo,

se decidió calcular sólo la sensibilidad de cada uno, esto considerando que en las publicaciones no se estudiaron los métodos rápidos a partir de hemocultivos negativos que permitieran realizar el cálculo de la especificidad o del valor predictivo positivo o negativo respecto a hemocultivos provenientes de pacientes con bacteriemia, dicho esto, se demostró que 21 métodos rápidos tiene muy buena sensibilidad según la CLSI EP12-A2 (22), considerándolos muy buenos para recuperar bacterias cuando los hemocultivos son positivos, y de los cuales 15 métodos tienen costos de realización aproximada de 4 pesos por prueba, siendo rentables contra los 6 métodos comerciales restantes con costo aproximado de 250 pesos por prueba o los métodos moleculares según Oviaño M. (42). De los 19 métodos rápidos que no fueron sensibles, es posible que no se realizara una correcta ejecución de la metodología, considerando que la menor sensibilidad obtenida del 50% del método rápido SST de Torres I. (54), pudo ser debida a que no realiza lavados posteriores a una única centrifugación y que usaron tratamiento basado en detergentes no selectivos como SDS, pudiendo perder bacterias. En el caso de las bajas sensibilidades obtenidas del uso de Saponina por parte de Martin-Pujol O. (34) y Tanner H. (51), pudo ser debida por falta de estandarización de la metodología según Martiny y Lupetti respectivamente.

De los 40 métodos rápidos y con el propósito de analizar si las recuperaciones de bacterias pueden ser útiles en la identificación y perfiles de susceptibilidad contra las bacterias recuperadas por el método convencional de subcultivo, se decidió calcular la concordancia basada en el Índice de Kappa de Cohen (1) donde los datos se categorizaron considerando si se realizó la identificación (Tabla 12 y 13) o los perfiles de susceptibilidad (Tabla 14 y 15) y de si se trataba de bacterias Gram negativas o Gram positivas, informando lo anterior en las siguientes 4 categorías:

1. Concordancia en la identificación de bacterias Gram negativas: Se revisaron metadatos de 35 métodos rápidos (Tabla 12), de los cuales, todos demostraron concordancias que iban desde 0.71 y hasta 1, que en porcentaje corresponden de 71% hasta un 100%, siendo consistentes con los rangos esperados para los equipos que más reportaron usarse (Figura 3) Vitek® de 80.7 – 92.8% y MALDI-TOF MS® de 59.7 – 97.8% que sólo utilizaron el método rápido comercial Sepsityper® dicho por Canadian Agency for Drugs and

Technologies in Health (11), dichas concordancias demostraron ser más allá del azar (ser un evento esperado) según el Índice de Kappa de Cohen (1), siendo excelentes y aceptables (Tabla 16). Con base en estos resultados se podría inferir que cualquiera de los métodos rápidos emiten resultados similares y considerando que, al no demostrar concordancia del 100% respecto al método convencional de subcultivo no podrían sustituir al mismo, pero, si agilizarían la identificación de bacterias Gram negativas, siempre acompañado de la confirmación del resultado obtenido por el método convencional de subcultivo.

2. Concordancia en la identificación de bacterias Gram positivas: Se revisaron metadatos de 29 métodos rápidos (Tabla 13), de los cuales, 27 demostraron concordancias que iban desde 0.42 y hasta 1, que en porcentaje corresponden de 42.8% hasta un 100%, siendo no consistentes con los rangos esperados para los equipos que más reportaron usarse (Figura 3) Vitek® de 80.7 – 92.8% y MALDI-TOF MS® de 59.7 – 97.8% que sólo utilizaron el método rápido comercial Sepsityper® dicho por Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health (11), dichas concordancias demostraron ser más allá del azar (ser un evento esperado) según el Índice de Kappa de Cohen (1), siendo excelentes y aceptables (Tabla 16). Con base en dichos resultados se podría inferir que cualquiera de los métodos rápidos al no demostrar concordancia del 100% respecto al método convencional de subcultivo no podrían sustituir al mismo, pero, probablemente si agilizarían la identificación de bacterias Gram positivas siempre acompañado de la confirmación del resultado obtenido por el método convencional de subcultivo. De los 7 métodos rápidos cuya concordancia no fue excelente (5 de concordancia aceptable y 2 no aceptables) corresponden a resultados publicados por Torres I. (54) y Kayin M. (31). Torres I. (54) no logró identificar *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium* e informó que no se realizó lavados posteriores a una única centrifugación en relación a los demás autores de la misma categoría SST. También este mismo autor implemento otro método rápido en el que uso el medio de cultivo BHI para enriquecer el crecimiento bacteriano a partir de una alícuota del hemocultivo positivo de paciente, logrando aumentar la concordancia sin llegar a ser excelente. Kayin M. (31) evaluó 2 métodos rápidos que no utilizaron lavados (uno comercial y otro no), de los cuales, sólo el método comercial uso pre tratamiento basado en detergente emitiendo mejores concordancias

que el método rápido no comercial sin llegar a ser excelentes, pudiendo ser la mejora del método rápido comercial debido al uso del pre tratamiento basado en detergente y el no llegar a ser excelentes por no identificar algunos *Staphylococcus sp.*, *Micrococcus sp.*, *Streptococcus sp.*, *Enterococcus sp.*, entre otros Gram positivos por la falta de lavados, siendo consistente con lo dicho por Barman S. (8) respecto a la utilidad de la limpieza de la muestra eliminando las células sanguíneas con el uso de pre tratamientos basado en detergentes y los lavados que disminuyen el ruido de fondo, sobre todo cuando el equipo MALDI-TOF MS® es utilizado. En los dos métodos rápidos no excelentes restantes: DC (20) (aceptable) y SST (50) (no aceptable) informaron no usar pre tratamiento basado en detergente, pero, si varias centrifugaciones a alta velocidad y lavados, pudiendo ser la baja concordancia para el método rápido DC (20) debida a la falta de uso de pre tratamiento basado en detergente y en el caso de SST (50), comentado por el mismo autor, debido a la falta de uso de pre tratamiento basado en detergente y a que el grosor de la pared celular de las Gram positivas hace que sean más difíciles de lisar para su extracción de proteínas directamente en una placa metálica, dificultando su lectura por el equipo MALDI-TOF MS®.

3. Concordancia en los perfiles de susceptibilidad de bacterias Gram negativas: Se revisaron metadatos de 15 métodos rápidos (Tabla 14), de los cuales, la concordancia es excelente para 14 y aceptable para 1 (Tabla 16). El resultado de concordancia del método rápido SST (55) cuyo resultado observado fue de 0.5, que corresponde a 50%, evaluó el uso del método rápido en el equipo Lumione BL-2000® (Hitachi) (equipo automatizado no común en clínica según González M. D. (24), en el cual, sólo se estudió la susceptibilidad para el antibiótico Levofloxacino y el recuperado bacteriano se diluyó 30000 veces (contrario a la recomendación de llevar al 0.5 de McFarland según la CLSI (15), se declaró que para Gram negativos se informa falsa resistencia a Levofloxacino para *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Enterobacter cloacae*, lo cual no es prometedor en clínica en relación al equipo y método rápido, debido a que el principal agente Gram negativo en las bacteremias es *Escherichia coli* (60% de los casos), dicho por Ombelet S. (41) y reiterado por Ibqal M. S. Z. (28)
4. Concordancia en las perfiles de susceptibilidad de bacterias Gram positivas: Se revisaron metadatos de 11 métodos rápidos (Tabla 15), de los cuales, la concordancia es excelente

para 10 y aceptable para 1 (Tabla 16). El método rápido cuya concordancia resultó sólo aceptable fue el método rápido SST (35), mismo que se analizó previamente en el inciso anterior, y del cual en relación a los Gram positivos, informa falsa resistencia a Levofloxacino para *Staphylococcus capitis* y *Streptococcus mitis* pudiendo ser debida a que el recuperado bacteriano se diluyó 30000 veces (contrario a la recomendación de llevar al 0.5 de McFarland según la CLSI(15).

El pretratamiento parece ser importante para los métodos rápidos como se ha observado en la comparación de los resultados de la identificación y perfiles de susceptibilidad de bacterias Gram negativas y Gram positivas (Tablas 12, 13, 14 y 15), en ellas se obtuvieron concordancias excelentes y aceptables para su uso. Las primeras (concordancias excelentes), de acuerdo con lo dicho por Barman P. (8), pudieron ser derivadas de la actividad de limpieza de la muestra, centrifugaciones a alta velocidad que informaron realizar incluyendo varios lavados y las concordancias aceptables derivadas de los resultados de evaluar una base de datos estándar (módulo estándar) con otra más robusta (módulo Sepsityper®) en el equipo MALDI-TOF MS® del autor Kayin M. (31), en el cual demostró ser mejor el módulo Sepsityper®, mejorando la concordancia en la identificación de las bacterias Gram negativas y Gram positivas. Lo anterior es consistente con lo dicho por Oviaño M. (42), que consideró necesario para mejorar la identificación bacteriana en equipos automatizados el actualizar sus bases de datos con los más recientes lanzamientos al mercado, facilitando así la incorporación de más géneros y especies bacterianas, modificando la interpretación de las puntuaciones de identificación y apoyando la gestión de resultados considerando la complejidad de las muestras, como las procedentes de hemocultivos.

## **15. CONCLUSIÓN**

La metodología PRISMA para recopilar y analizar metadatos es una herramienta adecuada para realizar la presente revisión bibliográfica.

Los métodos rápidos evaluados mostraron una reducción promedio de 1 a 2 días en el tiempo que se requiere para la identificación y perfiles de susceptibilidad respecto a realizar método convencional de subcultivo.

La sensibilidad de los métodos rápidos de recuperación bacteriana se incrementa cuando se aplican procesos estandarizados con el uso de detergentes, centrifugación a alta velocidad y lavados, pudiéndose aplicar en métodos no comerciales con una buena rentabilidad para el laboratorio.

Las concordancias de los métodos rápidos en la identificación y perfiles de susceptibilidad tiene un mejor valor de aceptación en las bacterias Gram negativas contra las Gram positivas.

Los métodos rápidos no pueden sustituir al método convencional, pero sí podrían auxiliar el acelerar la identificación y perfiles de susceptibilidad siempre confirmando a la par del método convencional de subcultivo.

## 16. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abraira V. (2001). El índice kappa. SEMERGEN notas estadísticas: 2000; 27: 247-249.
2. Akgun, S., & Sayiner, H. S. (2020). Comparison of Rapid and Routine Methods of Identification and Antibiotic Susceptibility Testing of Microorganisms from Blood Culture Bottles. *Polish Journal of Microbiology*, 69(2), 165–176. <https://doi.org/10.33073/PJM-2020-019>
3. Ali, M. J., Ayyar, A., Motukupally, S. R., Sharma, S., & Naik, M. N. (2014). Bacteriemia during dacryocystorhinostomy: results of intra-operative blood cultures. *Journal of ophthalmic inflammation and infection*, 4, 27. <https://doi.org/10.1186/s12348-014-0027-7>
4. Aloni-Grinstein, R., Schuster, O., Yitzhaki, S., Aftalion, M., Maoz, S., Steinberger-Levy, I., & Ber, R. (2017). Isolation of *Francisella tularensis* and *Yersinia pestis* from blood cultures by plasma purification and immunomagnetic separation accelerates antibiotic susceptibility determination. *Frontiers in Microbiology*, 8(312). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00312>
5. Athamna, A., & Freimann, S. (2019). A new rapid method for detecting extended-spectrum beta-lactamase/AmpC-producing Enterobacteriaceae directly from positive blood cultures using the Uro4 HB&L™ system. *Brazilian Journal of Microbiology*, 50(4), 927–933. <https://doi.org/10.1007/s42770-019-00103-4>
6. Azrad, M., Keness, Y., Nitzan, O., Pastukh, N., Tkhawkho, L., Freidus, V., & Peretz, A. (2019). Cheap and rapid in-house method for direct identification of positive blood cultures by MALDI-TOF MS technology. *BMC Infectious Diseases*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/s12879-019-3709-9>
7. Bayot ML, Bragg BN. Antimicrobial Susceptibility Testing. [Updated 2020 Aug 5]. In:

- StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539714/>
8. Barman, P., Chopra, S., & Thukral, T. (2018). Direct testing by VITEK® 2: A dependable method to reduce turnaround time in Gram-negative bloodstream infections. *Journal of Laboratory Physicians, 10*(03), 260–264. [https://doi.org/10.4103/jlp.jlp\\_11\\_18](https://doi.org/10.4103/jlp.jlp_11_18)
  9. Barnini, S., Brucculeri, V., Morici, P., Ghelardi, E., Florio, W., & Lupetti, A. (2016). A new rapid method for direct antimicrobial susceptibility testing of bacteria from positive blood cultures. *BMC Microbiology, 16*(1). <https://doi.org/10.1186/s12866-016-0805-5>
  10. Boland, L., Streeel, C., De Wolf, H., Rodriguez, H., & Verroken, A. (2019). Rapid antimicrobial susceptibility testing on positive blood cultures through an innovative light scattering technology: Performances and turnaround time evaluation. *BMC Infectious Diseases, 19*(989). <https://doi.org/10.1186/s12879-019-4623-x>
  11. Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health; (2015). MALDI-TOF Mass Spectrometry for Pathogen Identification: A Review of Accuracy and Clinical Effectiveness [Internet]. Ottawa (ON): Oct 16. SUMMARY OF EVIDENCE. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK350097/>
  12. Cañas, B. S., Jáuregui, R., Ballesteros, M. A. (2015). Effects of antibiotic administration delay and inadequacy upon the survival of septic shock patients. *Medicina Intensiva, Vol. 39*(8), pp. 459-466. DOI: 10.1016/j.medin.2014.12.006
  13. Catalá-López, F., Tobías, A., & Roqué, M. (2014). Conceptos básicos del metaanálisis en red. *Atencion Primaria, 46*(10), 573–581. <https://doi.org/10.1016/j.aprim.2014.01.006>
  14. Chakraborty RK, Burns B. Systemic Inflammatory Response Syndrome. [Updated 2021 Mar 1]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547669/>

15. Cohen J., G. William, Opal S. M., (2017). *Infectious Diseases*. 4<sup>a</sup> ed. Ed, Elsevier. China. 410, 421, 422, pp. <https://www.elsevier.com/books/infectious-diseases/9780702062858>
16. ELSEVIER. <https://www.elsevier.es/es>.
17. Falconer, K., Hammond, R., & Gillespie, S. H. (2020). Improving the recovery and detection of bloodstream pathogens from blood culture. *Journal of Medical Microbiology*, 69(6), 806–811. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.001209>
18. Faron, M. L., Buchan, B. W., & Ledebor, N. A. (2017). Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry for Use with Positive Blood Cultures: Methodology, Performance, and Optimization. *Journal of Clinical Microbiology*, 55(12), 3328–3338. <https://doi.org/10.1128/JCM.00868-17>
19. Fleurbaaij, F., Goessens, W., van Leeuwen, H. C., Kraakman, M. E. M., Bernards, S. T., Hensbergen, P. J., & Kuijper, E. J. (2017). Direct detection of extended-spectrum beta-lactamases (CTX-M) from blood cultures by LC-MS/MS bottom-up proteomics. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 36(9), 1621–1628. <https://doi.org/10.1007/s10096-017-2975-y>
20. Freimann, S., Shapira, M., & Athamna, A. (2019). Serum separator tube method for matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight analysis. *Access Microbiology*, 1(2). <https://doi.org/10.1099/acmi.0.000011>
21. French, K., Evans, J., Tanner, H., Gossain, S., & Hussain, A. (2016). The clinical impact of rapid, direct MALDI-ToF identification of bacteria from positive blood cultures. *PLoS ONE*, 11(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169332>
22. Garret P. E., Lasky F. D., Meier K. L., (2008), User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline-Second Edition EP12-A2, *Clinical and*

23. Giordano, C., Piccoli, E., Brucculeri, V., & Barnini, S. (2018). A Prospective Evaluation of Two Rapid Phenotypical Antimicrobial Susceptibility Technologies for the Diagnostic Stewardship of Sepsis. *BioMed Research International*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/6976923>
24. Gonzalez, M. D., Chao, T., & Pettengill, M. A. (2020). Modern Blood Culture: Management Decisions and Method Options. *Clinics in laboratory medicine*, 40(4), 379–392. <https://doi.org/10.1016/j.cll.2020.07.001>
25. Gutierrez M. G., Pizarra A. G., Lepe J. A. (2016). Time to positivity of blood cultures in patients with bloodstream infections: *A useful prognostic tool*. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 35(10):638-644. <http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2016.10.003>
26. Han, Y. Y., Lin, Y. C., Cheng, W. C., Lin, Y. T., Teng, L. J., Wang, J. K., & Wang, Y. L. (2020). Rapid antibiotic susceptibility testing of bacteria from patients' blood via assaying bacterial metabolic response with surface-enhanced Raman spectroscopy. *Scientific Reports*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-68855>
27. Hauser A. R. (2019). Manual de Antibióticos, El ABC para elegir el medicamento antimicrobiano correcto. 3ra ed. Ed. Wolters Kluwer. Philadelphia, USA. 370p. <https://shop.lww.com/Manual-de-antibi-ticos/p/9788417602499>
28. Iqbal-Mirza, S. Z., Estévez-González, R., Serrano-Romero de Ávila, V., de Rafael González, E., Heredero-Gálvez, E., & Julián-Jiménez, A. (2020). Factores predictores de bacteriemia en los pacientes atendidos en el Servicio de Urgencias por infección [Predictive factors of bacteraemia in the patients seen in emergency departments due to infections]. *Revista española de quimioterapia* : 33(1), 32–43. <https://doi.org/10.37201/req/075.2019>

29. Idelevich, E. A., Becker, K., & Reischl, U. (2018). Diagnostik von blutstrominfektionen: Neue mikrobiologische Verfahren in der klinischen Praxis und Entwicklung. *Deutsches Arzteblatt International*, 115(49), 822–832. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2018.082>
30. Jung, J. S., Hamacher, C., Gross, B., Sparbier, K., Lange, C., Kostrzewa, M., & Schubert, S. (2016). Evaluation of a semiquantitative matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry method for rapid antimicrobial susceptibility testing of positive blood cultures. *Journal of Clinical Microbiology*, 54(11), 2820–2824. <https://doi.org/10.1128/JCM.01131-16>
31. Kayin, M., Mert, B., Aydemir, S., & Özenci, V. (2019). Comparison of rapid BACpro® II, Sepsityper® kit and in-house preparation methods for direct identification of bacteria from blood cultures by MALDI-TOF MS with and without Sepsityper® module analysis. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 38(11), 2133–2143. <https://doi.org/10.1007/s10096-019-03654-4>
32. Kumar, M., Shergill, S. P. S., Tandel, K., Sahai, K., & Gupta, R. M. (2019). Direct antimicrobial susceptibility testing from positive blood culture bottles in laboratories lacking automated antimicrobial susceptibility testing systems. *Medical Journal Armed Forces India*, 75(4), 450–457. <https://doi.org/10.1016/j.mjafi.2018.08.010>
33. Mahon C. R., Lehman D. C., (2018). Textbook of Diagnostic Microbiology. 6<sup>a</sup> ed. Ed. Elsevier. USA. 1088p. <https://www.elsevier.com/books/textbook-of-diagnostic-microbiology/mahon/978-0-323-48218-9>
34. Martín-Pujol, O., Tosco-Nuñez, T., & de Miguel-Martinez, I. (2019). Comparison of three procedures for the rapid identification of bacteraemia-causing microorganisms. Evaluation of their effectiveness and applicability to microbiology laboratories. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 37(5), 319–323. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2018.06.018>

35. Matsui, A., Niimi, H., Uchiho, Y., Kawabe, S., Noda, H., & Kitajima, I. (2019). A rapid ATP bioluminescence-based test for detecting levofloxacin resistance starting from positive blood culture bottles. *Scientific Reports*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-49358-9>
36. Maurer, F. P., Christner, M., Hentschke, M., & Rohde, H. (2017). Advances in rapid identification and susceptibility testing of bacteria in the clinical microbiology laboratory: Implications for patient care and antimicrobial stewardship programs. *Infectious Disease Reports*, 9(1), 18–27. <https://doi.org/10.4081/idr.2017.6839>
37. Medigraphic Literatura Biomédica. <https://www.medigraphic.com/newMedi/>.
38. Minasyan, H. (2019). Sepsis: Mechanisms of bacterial injury to the patient. *Scandinavian Journal of Trauma, Resuscitation and Emergency Medicine*, 27(1), 1–22. <https://doi.org/10.1186/s13049-019-0596-4>
39. National Center of Biotechnology Information NCBI / US National Library of Medicine National Institutes of Health PMC. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/>.
40. NORMA OFICIAL MEXICANA DE EMERGENCIA NOM-EM-002-SSA2-2003, Para la vigilancia epidemiológica, prevención y control de las infecciones nosocomiales.
41. Ombelet, S., Barbé, B., Affolabi, D., Ronat, J.-B., Lompo, P., Lunguya, O., Jacobs, J., & Hardy, L. (2019). Best practices of blood cultures in low- and middle-income countries. *Frontiers in Medicine*, 6(June). <https://doi.org/10.3389/fmed.2019.00131>
42. Oviaño, M. (2019). Rapid identification of microorganisms directly from positive blood cultures by MALDI-TOF MS. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 37(5), 287–289. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2018.12.007>

43. Pardinás-Llergo, MJ, Alarcón-Sotelo, A, Ramírez-Angulo, C, Rodríguez-Weber, F, & Díaz-Greene, EJ. (2017). Probabilidad de éxito de obtener un hemocultivo positivo. *Medicina interna de México*, 33(1), 28-40. Recuperado en 01 de mayo de 2021, de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0186-48662017000100028&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0186-48662017000100028&lng=es&tlng=es)
44. Pereira, D. C., & Goldani, L. Z. (2019). Integrating bacterial identification and susceptibility testing: A simple and rapid approach to reduce the turnaround time in the management of blood cultures. *BioMed Research International*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/8041746>
45. Porte, L., Gattini, F., Varela, C., & Weitzel, T. (n.d.). Evaluación de la susceptibilidad directa desde hemocultivos positivos utilizando el sistema Vitek 2: comparación de dos protocolos rápidos. *Rev Chilena Infectol* 2017, 34(2):190-19. [www.sochinf.cl](http://www.sochinf.cl)
46. Punt J., Stranford S. A., Jones P. P., Owen J. A. (2020). Inmunología de Kuby. 8ª ed. Ed. McGraw-Hill. USA. <https://www.mheducation.com.mx/kuby-inmunologia-9781456273798-latam>
47. Reyna M. M. E., Valenzuela S. J. F. (2016). DNA microarrays: applications in microbiology. *Epistemus*, Vol. Sep2016, 42-47
48. Scerbo, M. H., Kaplan, H. B., Dua, A., Litwin, D. B., Ambrose, C. G., Moore, L. J., Murray, C. C. K., Wade, C. E., & Holcomb, J. B. (2016). Beyond blood culture and Gram stain analysis: A review of molecular techniques for the early detection of bacteremia in surgical patients. *Surgical Infections*, 17(3), 294–302. <https://doi.org/10.1089/sur.2015.099>
49. Sharma, M., Gautam, V., Mahajan, M., Rana, S., Majumdar, M., & Ray, P. (2017). Direct identification by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) from positive blood culture bottles: An opportunity to

- customize growth conditions for fastidious organisms causing bloodstream infections. *Indian Journal of Medical Research*, 146(October), 541–544. [https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR\\_823\\_16](https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_823_16)
50. Sierra, E., Maldonado, N., Arroyave, B., Robledo, C., & Robledo, J. (2019). Identificación directa de microorganismos a partir de muestras de orina y hemocultivos utilizando MALDI-TOF. *Infectio* (Vol. 23, Issue 4, pp. 364-370)
51. Smith DA, Nehring SM. Bacteriemia. [Updated 2020 Nov 20]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441979/>
52. Smith, K. P., Kang, A. D., & Kirby, J. E. (2018). Automated interpretation of blood culture Gram stains by use of a deep convolutional neural network. *Journal of Clinical Microbiology*, 56(3), 1–12. <https://doi.org/10.1128/JCM.01521-17>
53. Tanner, H., Evans, J. T., Gossain, S., & Hussain, A. (2017). Evaluation of three sample preparation methods for the direct identification of bacteria in positive blood cultures by MALDI-TOF. *BMC Research Notes*, 10(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s13104-016-2366-y>
54. Torres, I., Giménez, E., Huntley, D., Martínez, M., Colomina, J., & Navarro, D. (2019). Comparison of two methods skipping cell lysis and protein extraction for identification of bacteria from blood cultures by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass-spectrometry. In *Rev Esp Quimioter* (Vol. 32, Issue 4, pp. 365-369).
55. Tortora G. J., Funke B. R. (2019). *Microbiology An Introduction*. 13<sup>a</sup> ed. Ed. Pearson. USA. 964p. <https://www.pearson.com/store/p/microbiology-an-introduction/P100000797731>
56. Troisi, Jacopo & Fiore, Raffaele & Pulvento, Cataldo & d'Andria, R. & Vega-Galvez,

- Antonio & Miranda, Margarita & Martínez, Enrique & Lavini, Antonella. (2014). Saponinas. 10.13140/2.1.1568.5129.
57. Urrútia, G., & Bonfill, X. (2010). Declaración PRISMA: una propuesta para mejorar la publicación de revisiones sistemáticas y metaanálisis. In *Medicina Clínica* (Vol. 135, Issue 11, pp. 507–511). <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2010.01.015>
58. Yábar V., Emilio F.; Reyes D., Vilma J. (2017). Eficacia de un desinfectante biodegradable a base de saponinas de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) en el control de crecimiento de *Escherichia coli*. Depósito Legal en la Biblioteca Nacional del Perú, (No. 2006-4116, pp. 1-6). <http://repositorio.uncp.edu.pe/handle/UNCP/4682>
59. Yagupsky, P., Morata, P., & Colmenero, J. D. (2019). Laboratory Diagnosis of Human Brucellosis. *Clinical microbiology reviews*, 33(1), e00073-19. <https://doi.org/10.1128/CMR.00073-19>
60. Yu, J., Liu, J., Li, Y., Yu, J., Zhu, W., Liu, Y., & Shen, L. (2018). Rapid detection of carbapenemase activity of *Enterobacteriaceae* isolated from positive blood cultures by MALDI-TOF MS. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/s12941-018-0274-9>
61. Zhou, M., Yang, Q., Kudinha, T., Sun, L., Zhang, R., Liu, C., Yu, S., Xiao, M., Kong, F., Zhao, Y., & Xu, Y. C. (2017). An improved in-house MALDI-TOF MS protocol for direct cost-effective identification of pathogens from blood cultures. *Frontiers in Microbiology*, 8(1824). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01824>

## 17. ANEXOS

### 17.1. Análisis estadístico

**Tabla 16. Concordancia Kappa de Cohen. (1)**

<b>Kappa (k)</b>	<b>Grado de acuerdo</b>	<b>Valor</b>	<b>Significado</b>
<0.00	Sin acuerdo	No aceptable	Concordancia por azar
0.00 – 0.20	Insignificante	No aceptable	Concordancia por azar
0.21 – 0.40	Discreto	No aceptable	Concordancia por azar
0.41 – 0.60	Moderado	Aceptable	Concordancia más allá del azar
0.61 – 0.80	Sustancial	Aceptable	Concordancia más allá del azar
0.81 – 1.00	Casi perfecto	Excelente	Concordancia más allá del azar