



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIO DE POSGRADO

HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

**EVALUACIÓN DEL MÉTODO DE TOMA DE HEMOCULTIVOS EN
PACIENTES CON EVENTO DE FIEBRE Y NEUTROPENIA BAJO
TRATAMIENTO DE UN CANCER.**

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO EN LA
ESPECIALIDAD EN:

INFECTOLOGÍA

DR. LUIS FERNANDO MEJÍA RIVERA

TUTOR

DRA. MARGARITA NAVA FRÍAS
Jefe de Departamento de Infectología
en el HIMFG



HOSPITAL INFANTIL de MÉXICO
FEDERICO GÓMEZ

Instituto Nacional de Salud

65 AÑOS DE EXCELENCIA EN PEDIATRÍA
Salud para las Nuevas Generaciones

México, D. F. julio de 2008



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.

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA**

DIVISIÓN DE ESTUDIO DE POSGRADO

HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

**EVALUACIÓN DEL MÉTODO DE TOMA DE HEMOCULTIVOS EN
PACIENTES CON EVENTO DE FIEBRE Y NEUTROPENIA BAJO
TRATAMIENTO DE UN CANCER.**

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO EN LA ESPECIALIDAD EN:

INFECTOLOGÍA

PRESENTA:

DR. LUIS FERNANDO MEJÍA RIVERA

TUTOR

DRA MARGARITA NAVA FRÍAS

Departamento de Infectología del HIMFG

MÉXICO, D. F. JULIO DE 2008

DEDICATORIA

A toda mi familia por su incondicional apoyo, su motivación, paciencia e inspiración y de manera particularmente especial a mi esposa **GLORIA YASMÍN** por su profundo amor.

ÍNDICE

1. Marco teórico	05
2. Justificación	16
3. Hipótesis	17
4. Objetivo general	18
5. Objetivos específicos	19
6. Materiales y métodos	20
a. Diseño del estudio	20
b. Población de estudio	20
c. Criterios de inclusión	20
d. Criterios de exclusión	21
e. Definición de variables	21
f. Descripción del estudio	24
g. Análisis estadístico	26
7. Resultados	27
8. Discusión	32
9. Conclusión	34
10. Anexos	35
11. Referencias	37

MARCO TEÓRICO.

Las infecciones continúan siendo la causa más importante de morbilidad y mortalidad en pacientes con cáncer debido a la neutropenia que sufren durante el tratamiento con quimioterapia altamente mielo-supresora. En estos pacientes la fiebre puede ser la única manifestación de infección, algunas veces grave y rápidamente progresiva, incluso, en ausencia de signos y síntomas clásicos de infección. Desde 1966, Bodey et al ¹, reconoce la relación existente entre el recuento absoluto de neutrófilos y el riesgo de infección, así como el impacto de la duración de neutropenia en el desarrollo de infecciones oportunistas. Es desde entonces que se utiliza el término fiebre y neutropenia, para designar los episodios febriles en pacientes oncológicos con neutropenia secundaria al tratamiento con quimioterapia y en donde fiebre se considera la medición de la temperatura oral $> 38.3\text{ }^{\circ}\text{C}$ o $38\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante una hora; neutropenia, a la cuenta total de neutrofilos $\leq 500/\text{mm}^3$ o cuenta $\leq 1000/\text{mm}^3$ esperando neutropenia $<500/\text{mm}^3$ por efecto de la quimioterapia en las siguientes 24 a 48 horas y que, clínicamente exista sospecha de infección (exclusión de episodios febriles por actividad de la enfermedad de base, drogas o administración de derivados sanguíneos) ².

En la mayoría de los episodios de fiebre y neutropenia no se puede determinar el origen de la fiebre y en menos de la mitad de los pacientes, se documenta infección desde un punto de vista clínico o microbiológico. Debido a esto, los episodios de infección se clasifican por su expresión en fiebre de origen desconocido (si sólo hay fiebre), infección clínicamente documentada (si hay un foco demostrable) o infección microbiológicamente demostrada (si se identifica el microorganismo responsable, con o sin bacteremia). Aproximadamente la mitad de los pacientes se distribuyen en el primer grupo y el resto, se distribuyen casi por igual entre los otros dos grupos, no habiendo cambios significativos en su distribución en los últimos años (tabla 2) ³. En un estudio descriptivo en pacientes con leucemia aguda linfoblástica (LAL) en el Hospital Infantil de México Federico Gómez durante el año 2005, el 40% de 200 episodios de fiebre y neutropenia se clasificaron como fiebre de origen desconocido, y solo en 17% se logró la documentación microbiológica ⁴. La medida de efectividad en dichas muestras de

Hemocultivos es dada por el porcentaje de aislamientos de bacterias. En el periodo comprendido entre el 01 de marzo de 2007 y el 29 de febrero de 2008 se procesaron, en la sección de microbiología del laboratorio central del Hospital Infantil de México Federico Gómez, un total de 8416 muestras procedentes de sangre periférica y de catéteres venosos centrales para realización de Hemocultivos (Revisión realizada por el autor para la actual presentación). De estas muestras, en 1386 se reportaron aislamientos positivos, para una medida de rendimiento del 16,47% (Tabla 1), de los cuales 934 (11,098%) correspondieron a aislamientos de bacterias del tipo cocos Gram positivos, siendo predominante el crecimiento de *Staphylococcus coagulasa negativos* en un total de 659 hemocultivos y un porcentaje de 7,83%, seguido por *Staphylococcus aureus* en 148 muestras (1,76%). En 387 cultivos (4,6%) se presentó aislamiento de bacterias del tipo bacilos Gram negativos principalmente *Escherichia coli* en 78 de los cultivos (0,93%) y *Klebsiella sp.* en 71 cultivos (0,84%). Este porcentaje de recuperación en hemocultivos es ligeramente inferior a lo reportado en la literatura comparando incluso dichos resultados con los obtenidos en otros hospitales de tercer nivel de atención de la misma ciudad en donde los porcentajes variaron, en diferentes años, entre el 17 y el 21,9%⁵.

Tabla 1. Número de hemocultivos procesados entre el 01 de marzo de 2007 y el 29 de febrero de 2008 en el Hospital Infantil de México Federico Gómez y frecuencia de resultados positivos.

BACTERIAS		CULTIVOS PERIFÉRICOS	HEMOCULTIVOS CENTRALES	HEMOCULTIVOS NO ESPECIFICADOS	TOTALES - No (%)
GRAM POSITIVOS		560	355	19	934 (11,098%)
<i>Staphylococcus</i> COAGULASA NEGATIVOS		380	265	14	659 (7,83 %)
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	246	197	10	453 (5,38 %)
	<i>Staphylococcus hominis</i>	100	51	3	154 (1,83 %)
	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	19	7	-	26 (0,31 %)
	<i>Staphylococcus lentus</i>	7	5	-	12 (0,14 %)
	<i>Staphylococcus capitis</i>	2	1	-	3 (0,036 %)
	<i>Staphylococcus xylosus</i>	2	1	-	3
	<i>Staphylococcus warneri</i>	2	1	-	3

	<i>Staphylococcus intermedius</i>	-	2	-	2 (0,024 %)
	<i>Staphylococcus simulans</i>	1	-	-	1 (0,012 %)
	<i>Staphylococcus luydunensis</i>	-	-	1	1
	<i>Staphylococcus cohnii</i>	1	-	-	1
<i>Staphylococcus aureus</i>		92	54	2	148 (1,76 %)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>		12	3	1	16 (0,19 %)
COCOS GRAM POSITIVOS					
<i>Streptococcus spp. (GRUPOS A-B-G)</i>		11	1	-	12 (0,14 %)
<i>Streptococcus Grupo viridans</i>		37	7	1	45 (0,535 %)
<i>Enterococcus spp.</i>		28	25	1	54 (0,64 %)
	<i>Enterococcus faecium</i>	10	16	1	27
	<i>Enterococcus faecalis</i>	18	9	-	27
GRAM NEGATIVOS		238	142	7	387 (4,6 %)
<i>Escherichia coli</i>		42	33	3	78 (0,93 %)
<i>Klebsiella spp.</i>		40	30	1	71 (0,84 %)
	<i>K. pneumoniae</i>	36	30	1	67
	<i>K. oxytoca</i>	4	-	-	4
<i>Salmonella spp.</i>		9	3	-	12 (0,14 %)
<i>Pseudomonas spp.</i>		35	12	3	50 (0,6 %)
	<i>P. aeruginosa</i>	32	11	3	46
	<i>P. spp.</i>	2	-	-	2
	<i>P. putida</i>	-	1	-	1
	<i>P. stutzeri</i>	1	-	-	1
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>		20	6	-	26 (0,31 %)
<i>Acinetobacter spp.</i>		13	8	-	21 (0,25 %)
	<i>A. baumannii</i>	8	5	-	13
	<i>A. haemolyticus</i>	5	2	-	7
	<i>A. lwoffii</i>	-	1	-	1
<i>Serratia marcescens</i>		6	4	-	10 (0,12 %)
<i>Burkholderia cepacia</i>		4	2	-	6 (0,07 %)
<i>Morganella morganii</i>		1	1	-	2 (0,02 %)
<i>Enterobacter spp.</i>		24	20	-	44 (0,52 %)
	<i>E. cloacae</i>	21	18	-	39
	<i>E. aerogenes</i>	3	1	-	4
	<i>E. arburias</i>	-	1	-	1

Haemophilus		2	-	-	2 (0,02 %)
	<i>H. influenzae B</i>	1	-	-	1
	<i>H. spp.</i>	1	-	-	1
Neisseria		2	1	-	3 (0,036 %)
	<i>N. meningitidis "C"</i>	-	1	-	1
	<i>N. spp.</i>	2	-	-	2
OTROS		40	22	-	62 (0,74 %)
	<i>Ochrobactrum anthropi</i>	12	6	-	18
	<i>Proteus mirabilis</i>	1	4		5
	<i>Ralstonia picketti</i>	4	7	-	11
	<i>Ralstonia paucula</i>	9	-	-	9
	<i>Aeromonas hydrophila</i>	5	-	-	5
	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	3	-	-	3
	<i>Achromobacter dentrificans</i>	1	-	-	1
	<i>Achromobacter xylooxidans</i>	1	2	-	3
	<i>Alcaligenes xylooxidans</i>	2	1	-	3
	<i>Rhizobium radiobacter</i>	-	2	-	2
	<i>Acromonas hydrophila</i>	1	-	-	1
	<i>Pantoea spp.</i>	1	-	-	1
VARIOS					
Brucella		3	-	-	3 (0,04 %)
	<i>B. melitensis</i>	1	-	-	1
	<i>B. spp.</i>	2	-	-	2
HONGOS	LEVADURAS	28	34	-	62 (0,74 %)
TOTAL MUESTRAS HEMOCULTIVOS		5.746	2.527	143	8.416
TOTAL CULTIVOS POSITIVOS		829 (9,85%)	531 (6,31%)	26 (0,31%)	1.386 (16,47%)

Para explicar la baja frecuencia de identificación microbiológica se han planteado diferentes explicaciones al respecto. En primer lugar, los casos clasificados como fiebre de origen desconocido es posible que no correspondan a episodios reales de infección;

en segundo lugar, es probable que exista una infección por microorganismos no cultivables; por último, que la fiebre se deba a los productos bacterianos o sus fracciones, o que la bacteria no circule en la sangre o existan en bajas concentraciones ⁶.

Tabla 2. Incidencia de las diferentes expresiones clínicas de los episodios de fiebre y neutropenia en pacientes hemato-oncológicos bajo quimioterapia.

Tipo de infección	1975-1977	1986-1989	1990-1993
Fiebre de origen desconocido	47	53	58
Clínicamente documentada	22	20	17
Microbiológicamente documentada	31	27	25

Modificado de: Roslton K, Raad I, Whimbey E, Bodey GP. The changing spectrum of bacterial infections in febril neutropenic patients. En: Klastersky JA, editor. Febril neutropenia. Berlin: Springer-Verlag; 1997.

En estos pacientes, las vías que los microorganismos utilizan para llegar al torrente sanguíneo son dos principalmente, o a través del sistema linfático después de atravesar una barrera epitelial, o por la inoculación directa después de colonizar un dispositivo intravenoso ⁷. La llegada a la sangre de la bacteria produce patrones clínicos que se manifiestan como: bacteriemias transitorias, intermitentes o continuas ⁸. La bacteriemia transitoria es el patrón más común, ocurre después de una manipulación o instrumentación de un tejido colonizado o infectado (absceso, furúnculo o celulitis). De igual forma es transitoria y temprana, en el curso de diversas enfermedades sistémicas e infecciones localizadas, siendo reportada en varios estudios de pacientes con meningitis del 50 al 80%, artritis séptica entre el 20 y 70%, osteomielitis del 30 a 50% y del 5 al 90% en los pacientes con infección por gonococo y meningococo. Una bacteriemia intermitente es asociada con abscesos abdominales, pélvicos, perinefríticos, hepáticos, entre otros; siendo en algunos casos la causa de fiebre de origen a determinar. La bacteriemia continua es una característica de la infección intravascular como en pacientes con catéter venoso central (CVC), endocarditis, primeros días de fiebre tifoidea y brucelosis ⁹. Es a partir de estos patrones clínicos que se han propuesto las recomendaciones para la toma de

hemocultivos, no obstante, en población pediátrica existen controversias importantes acerca del número de cultivos, el volumen de sangre ideal para los mismos y el medio en el que se inocula la sangre.

Volumen y número de cultivos

El cultivo de la sangre (hemocultivo) constituye uno de los procedimientos más importantes para el diagnóstico de una bacteriemia; su éxito está relacionado con los métodos que se utilizan para recoger la muestra ¹⁰. Las recomendaciones actuales para la toma de hemocultivos en niños están basados en tomar volúmenes de sangre pequeños, lo que posiblemente subestime la bacteriemia, siendo el volumen de sangre procesada el factor más importante que determina el éxito del cultivo ^{10, 11}. Por ejemplo, se produce incremento del rendimiento del hemocultivo en 40%, cuando se cultivan 20 ml de sangre comparado con 10 ml en pacientes adultos, debido a que más de la mitad de los pacientes sépticos portan menos de un microorganismo por mililitro de sangre ¹². En bacteriemias continuas se recomienda tomar un solo cultivo independientemente del tiempo de la toma, siempre y cuando no se haya iniciado un antibiótico. En bacteriemia intermitente, el momento de la extracción de sangre es importante, debido a que los signos clínicos son la respuesta a la liberación de endotoxinas, estos signos se manifiestan una hora después que la bacteria pasa por la sangre. Por lo tanto, es posible que existan pocos o ningún microorganismo cuando el paciente se torna febril. Razonamiento por el cual, se recomienda tomar más de un cultivo de sangre de forma aleatoria en las primeras 24 horas, lo que continúa siendo controversial. Li et al ¹², compara el rendimiento del hemocultivo con cultivos seriados de forma simultánea, a las 2 y 24 horas con diferentes volúmenes reportando que, tomar más de un cultivo es tan eficaz como tomar volúmenes altos. De igual manera, Isaacman et al. ¹³ analiza 300 cultivos realizados en niños donde compara volúmenes de 2 ml contra 6 ml en muestras seriadas encontrando que a mayores volúmenes, mayor la posibilidad de aislar un germen (6 ml recupero 72% (21/29) vs 2 ml 33% (10/30) p = 0.0005). Cuando se compara la concordancia entre el primer hemocultivo con el segundo, es decir, que si el primer hemocultivo es negativo un segundo cultivo incrementa la posibilidad de identificar un germen cuando hay bacteriemia, el rendimiento de un segundo cultivo no

justifica tomarlos de forma sistemática y se recomienda solo en pacientes neonatos con aislamiento por estafilococo coagulasa negativos (SCoN), pacientes con endocarditis, pacientes con infecciones relacionada a catéter y pacientes con infección micótica^{14,15,16}.

Las razones para realizar hemocultivos con pequeñas cantidades de sangre están en relación al menor volumen circulante de los niños, las dificultades técnicas que con frecuencia encuentra quien realiza la flebotomía para obtener mayores volúmenes de sangre y el evitar transfusiones por realizar flebotomías continuas. Así, lo ideal sería que con volúmenes bajos se obtuviera el mismo rendimiento del cultivo, y estudios recientes, proponen volúmenes hasta 0,2 ml con una sensibilidad del 95% cuando se compara con 2 ml en niños menores de 12 meses de edad¹⁷.

Concentraciones de bacterias por mililitro

Tradicionalmente se considera que en sangre la concentración de bacterias en niños con bacteriemia es mayor que en adultos, concepto que se popularizó en los 90's. Sin embargo, esto depende de varios factores como la especie y variaciones en la cepa, la severidad de la enfermedad, y el uso previo de antibióticos. Entre otros, Sullivan et al.¹⁸, en 73 niños en quien sospecha bacteriemia encuentra una correlación entre el tipo de microorganismo (*Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*), concentraciones mayores de bacterias y la gravedad de la presentación clínica. Sin embargo, en la bacteriemia hospitalaria, parece ser al contrario, semejante a lo que ocurre en el adulto. Kellogg et al.¹⁹, reporta mayor frecuencia (60%), de lo que se reportaba (38%), concentraciones bajas de bacterias (≤ 10 unidades formadoras de colonias (UFC/ml) en pacientes menores de 15 años; y esto es importante tomarlo en cuenta porque cerca del 30% de estos pacientes tienen menos de 1 UFC/ml en sangre. Quiere decir esto que una bacteria o sus productos son los que desencadenan, en uno de cada cuatro pacientes, los datos sistémicos de infección y en algunos pacientes un desenlace fatal. En el mismo estudio, se descarta que la bacteriemia de bajo grado sea secundaria al uso previo de antibióticos, puesto que solo 7,4% de los pacientes contaban con el antecedente. De hecho, en la actualidad se puede afirmar que la

mayoría de las bacteriemias hospitalarias en pacientes pediátricos tienen bajas concentraciones de bacterias en sangre.

Por lo expuesto anteriormente, diversos autores plantean la necesidad de tomar mayores volúmenes de sangre (alrededor de 4,5% del volumen circulante) para detectar la bacteriemia de bajo grado. El volumen circulante de un paciente se correlaciona bien con el peso y en diferentes hospitales han estandarizado tablas que indican el volumen a tomar relacionado por el peso del paciente (tabla 3) ²⁰. Las ventajas de cultivar mayores volúmenes de sangre e inocular dos o más frascos de cultivos aumenta el número de patógenos detectados, disminuye el tiempo de detección y la capacidad para diferenciar contaminaciones ²¹. Además incrementa la oportunidad de recuperar patógenos como *S. pneumoniae*, patógenos en pacientes con tratamiento antibiótico previo y anaerobios ²². La frecuencia de estos últimos en pacientes con cáncer ha disminuido en los últimos años de 4,8% a 1,7%, lo que hace poco rentable inocular frascos para anaerobios de forma sistemática. Expertos en el tema proponen que los cultivos para anaerobios se soliciten solo en aquellas patologías en las que se sospeche estén involucrados ²³.

Tabla 3. Guía para determinar el volumen de sangre de una flebotomía para un hemocultivo basada en el peso del paciente.

Peso del paciente en Kg	Volumen de sangre a tomar (ml)
1.5 a 2.1	1.0
2.2-11.1	1.5
11.2-17.1	3.0
17.2-37.2	5.0
> 37.3	10

Técnica del procedimiento de toma de muestras para hemocultivos

Nadie pone en duda la importancia que el hemocultivo tiene en el diagnóstico microbiológico del agente causal de una enfermedad bacteriana, tanto para conocer la

susceptibilidad a los antibióticos y así, optimización del tratamiento antimicrobiano, como para identificar si se puede discontinuar un tratamiento innecesario, disminuir costos y reducir la tasa de microorganismos resistentes cuando los tratamientos empíricos se cambian a tratamientos específicos.

La toma de hemocultivos se debe llevar a cabo antes de iniciar el esquema antibiótico, en un paciente con enfermedad sistémica, fiebre de alto grado ($>39^{\circ}\text{C}$), leucocitosis, presencia de formas inmaduras en sangre periférica (bandemia), neutropenia, trombocitopenia o la combinación de todos estos factores hematológicos, en pacientes neonatos con datos de sepsis, fiebre e hipotermia; y en niños menores de 2 años de edad, con infección que haga sospechar presencia de *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* o meningococo, entre otros, igualmente que pacientes con endocarditis. Para la toma de dichas muestras de hemocultivos existen guías con recomendaciones basadas en la evidencia teniendo en cuenta que se sugiere que la positividad en los mismos puede verse influenciada por la forma adecuada en que son tomadas las muestras ^{5,24}. Entre las recomendaciones para la recolección de las muestras de sangre para estudio microbiológico se requiere personal altamente calificado, se sugiere que el procedimiento se realice bajo estándares de asepsia clásicos y estrictos en concordancia a lo establecido por Wilson y Weinstein desde mediados de los años 90's, particularmente en población pediátrica (Categoría 1-A) ²⁵ y mantenimiento estricto de las normas de bioseguridad, instrucciones detalladas para su manejo y disposición adecuada de los residuos biológicos además de políticas institucionales que garanticen las medidas para prevenir las infecciones (Categoría 1-A), obteniendo las muestras de sangre antes del inicio de la terapia antimicrobiana.

La toma de dichas muestras exige la utilización de un completo equipo que cuente con mascarillas con visera o tapabocas con gafas, gorro, guantes estériles, paquetes de gasas estériles, jabón o solución a base de yodo o clorhexidina para la desinfección correcta del área de punción en el paciente, blusa o bata estéril, jeringas de aguja fija o punta *luerlock* de un volumen acorde con la edad o el peso del paciente, un dispositivo

pericraneal con adaptador para muestras al vacío o camisa para toma de muestras al vacío (Categoría 2).

Dichas normas sugieren que el procedimiento de preparación de la piel del paciente se realice de la siguiente manera:

- Utilizar un gorro, mascarilla con visera, bata, guantes y campos estériles (Categoría 1-B).
- Seleccionar el sitio de la venopunción para la(s) toma(s), venas de grueso calibre, preferiblemente la cefálica o la basílica.
- Colocar una cinta adhesiva en la tapa protectora de los frascos y levantar con la cinta, volviendo a tapar ligeramente.
- Realizar lavado de manos con Yodopovidona al 10% o Gluconato de Clorhexidina al 2-4% antes y después de realizar el procedimiento, teniendo en cuenta el protocolo institucional (Categoría 1-A).
- Limpiar la piel en forma excéntrica desde el punto de inserción de la aguja haciendo un círculo de 3 a 5 cm de diámetro con jabón yodado o Clorhexidina al 2-4% sin devolverse, luego aplicar solución yodada en el área y dejarla actuar durante dos minutos (Categoría 1-A).
- Cuando se disponga de personal circulante durante el procedimiento, éste debe portar gorro y mascarilla.

Para la toma de la muestra:

- Colocarse los guantes estériles manteniendo la técnica aséptica.
- Insertar la aguja sin tocar o palpar el sitio de la venopunción. Utilizar sistema al vacío que consta de una camisa que se adapta al cuello del frasco del hemocultivo teniendo la precaución de mantener siempre el frasco en posición vertical con relación a las venas del paciente, para evitar que el líquido refluya a la vena. De lo contrario utilizar una jeringa con un pericraneal para darle extensión y posibilidad de inocular la sangre en dos botellas.
- Extraer la cantidad de sangre que se requiera de acuerdo al peso del paciente y distribuirla en el (los) frascos (previa asepsia del tapón con alcohol).

- Mezclar suavemente los frascos utilizando la técnica de inversión.
- Cambiar de guantes manteniendo la técnica aséptica y repetir el mismo procedimiento con la segunda venopunción (segundo sitio identificado).
- Realizar la disposición final de residuos hospitalarios y material corto-punzante teniendo en cuenta las normas de bioseguridad y el protocolo institucional.
- Colocar los frascos en una bolsa para transporte de muestras (bolsa transparente), sellándola y enviándola rápidamente al laboratorio clínico. El tiempo no debe exceder los 30 minutos.

La mayor parte de las muestras de sangre se vacían en frascos que contienen caldos y que difieren dependiendo de las casas comerciales. Estos frascos llegan al laboratorio, se incuban a $36 \pm 1^{\circ} \text{C}$ y se inspeccionan a intervalos regulares para detectar el crecimiento bacteriano. La mayor parte de los laboratorios llevan a cabo este estudio a través de instrumentos automatizados para hemocultivos. Cuando se detecta crecimiento, los caldos son sub-cultivados con el propósito de aislar el microorganismo para su identificación y las pruebas de sensibilidad a antimicrobianos. La mayor parte de los aislamientos con significación clínica se detectan en los primeros 2 días de incubación; sin embargo, todos los cultivos se deben incubar por un periodo mínimo de 5 a 7 días.

JUSTIFICACIÓN

Los cambios epidemiológicos en los patrones de sensibilidad de los diferentes gérmenes causantes de infecciones potencialmente graves en pacientes susceptibles, como aquellos que son inducidos a mielosupresión secundaria al tratamiento de quimioterapia para procesos hemato-oncológicos, han obligado a considerar nuevas tendencias en los tratamientos antimicrobianos. Esto convierte en esencial el tratamiento antibiótico “dirigido” de acuerdo a los reportes en los aislamientos individuales.

La medida de efectividad en el resultado de los hemocultivos, dada por el porcentaje de aislamientos, se altera por diversas variables, entre ellas, la técnica utilizada en la toma de muestras de sangre para estudios microbiológicos, cuyos pasos están normados en guías y protocolos internacionales basados en evidencias.

Teniendo en cuenta la sugerencia que la positividad en los hemocultivos puede verse influenciada por la forma adecuada en que son tomadas las muestras, es primordial conocer la técnica llevada a cabo por el personal médico del Hospital Infantil de México para proponer las correcciones convenientes e incidir en el futuro rendimiento de los hemocultivos y la racionalización y mejor utilización de los medicamentos disponibles en el tratamiento de infecciones.

HIPÓTESIS

El procedimiento de toma de muestras de sangre para hemocultivos en pacientes hemato-oncológicos, durante un episodio de neutropenia y fiebre, en el Hospital Infantil de México Federico Gómez se realiza bajo estándares de asepsia clásicos y en concordancia a los pasos establecidos por las guías internacionales para tal fin.

OBJETIVO GENERAL

Comparar el método cómo se realiza actualmente la toma de muestras de sangre para hemocultivos en pacientes oncológicos, neutropénicos y febriles con los estándares de la literatura.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1.** Describir las técnicas de bioseguridad utilizadas por el personal que realiza la toma de muestras de sangre para hemocultivos en pacientes oncológicos, neutropénicos y febriles en el Hospital Infantil de México Federico Gómez.
- 2.** Describir características epidemiológicas básicas y clínicas de los pacientes en quienes se realiza la toma de muestras de sangre para hemocultivos en pacientes oncológicos, neutropénicos y febriles en el Hospital Infantil de México Federico Gómez.

MATERIALES Y MÉTODOS

a. Diseño del Estudio

Se trata de un ensayo descriptivo, observacional, de sombra, prospectivo, sin cegamiento.

b. Población de Estudio

Niños y adolescentes mayores de 1 mes de edad con diagnóstico de base de alguna enfermedad de carácter hemato-oncológico, que cursaron con evento de neutropenia y fiebre y asistieron por el mismo motivo al servicio de urgencias del Hospital Infantil de México Federico Gómez entre marzo y junio de 2008.

c. Sitio del Estudio

Se llevó a cabo en el Hospital Infantil de México Federico Gómez, Instituto Nacional de Salud, que atiende pacientes de tercer nivel con padecimientos hemato-oncológicos.

d. Criterios de Inclusión

- Pacientes mayores de 1 mes de edad, con padecimientos de tipo hemato-oncológico de base, que ingresaron al servicio de urgencias del Hospital Infantil Federico Gómez (HIMFG) entre el 01 de marzo y el 30 de junio de 2008.
- Pacientes que presentaban, al momento del ingreso al servicio de urgencias del Hospital Infantil de México Federico Gómez, fiebre (una medición de temperatura oral $> 38.3^{\circ}\text{C}$ o 38°C durante una hora), neutropenia (cuenta total de neutrófilos $\leq 500/\text{mm}^3$ o cuenta $\leq 1000/\text{mm}^3$ esperando neutropenia $< 500/\text{mm}^3$ por efecto de la quimioterapia en las siguientes 24 a 48 horas) y sospecha de infección (exclusión de episodios febriles por actividad de la enfermedad de bases, drogas o administración de derivados sanguíneos).

e. Criterios de Exclusión

- Pacientes mayores de 1 mes de edad, con padecimientos hemato-oncológicos de base que ingresaron al Hospital Infantil Federico Gómez (HIMFG) entre el 01 de marzo y el 30 de junio de 2008, en quienes se corrobore por interrogatorio que recibieron antibióticos en los últimos 30 días sin el antibiótico se considere para el manejo profiláctico.

f. Criterios de Eliminación

- Aquellas muestras de sangre que sean inadecuadamente transportadas y manejadas según los estándares microbiológicos actuales.
- Pacientes con sospecha clínica de endocarditis.

g. Definición de variables

- Edad, definida en meses.
- Género, masculino o femenino.
- Tipo de neoplasia: Leucemias, Linfomas, Tumores sólidos y otros trastornos de carácter hematológico (Anemias Aplásicas, etc).
- Fase del tratamiento oncológico de quimioterapia: Inducción para la remisión, consolidación, mantenimiento, recaída, neoadyuvancia, adyuvancia.
- Forma de presentación clínica al momento de la observación: Fiebre de origen a determinar, infección clínicamente documentada, infección microbiológicamente documentada; en el caso de la determinación de una infección clínicamente documentada, descripción del sitio de focalización infecciosa.
- Aislamiento microbiológico reportado como resultado del hemocultivo, germen identificado.
- Procedimiento para la toma de muestras de sangre para hemocultivos:
 - Tipo de personal que realizó la toma de muestra de sangre;
 - Seguimiento de las normas de bioseguridad en el momento de la flebotomía (uso de gorro, bata, tapa-bocas con visera o gafas de protección);

- Seguimiento de medidas de asepsia estricta para la realización de toma de muestras de sangre para hemocultivos:
 - Lavado de manos previamente y posterior a la realización del procedimiento de flebotomía,
 - utilización de campos estériles sobre el sitio seleccionado para la toma de muestras de sangre,
 - colocación de guantes estériles manteniendo una técnica aséptica);
 - manejo de la piel donde se realizó el procedimiento de flebotomía con un primer tiempo de limpieza aséptica de la zona escogida para la venopunción con apoyo de una pinza y utilizando una torunda o una gasa impregnada con jabón yodado, alcohol al 70% o Gluconato de Clorhexidina al 2-4% y permitiendo un mínimo de tiempo de secado de 30 segundos para lograr el efecto residual del antiséptico o ideal de 2 a 3 minutos, realizando dicha limpieza de forma excéntrica desde el centro, donde se escogió el punto de punción, hacia la periferia sin devolverse y haciendo un círculo de 3 a 5 cm de diámetro;
 - manejo de la piel donde se realizó el procedimiento de flebotomía con un segundo tiempo de limpieza aséptica de la zona escogida para la flebotomía con apoyo de una pinza y con la misma técnica descrita en el punto anterior.
 - Posterior a la limpieza, en dos tiempos, del área escogida para la venopunción cambio de guantes por unos estériles con la debida técnica aséptica.
- Extracción de un volumen de sangre indicado de acuerdo al peso de paciente.
- Extracción de sangre utilizando un sistema o camisa para toma de muestras al vacío o un pericraneal con adaptador para ejercer el mismo efecto.
- Cambió la aguja por otra nueva.

- Retiro de la retapa de aluminio del frasco de hemocultivo al momento de inocular la muestra.
- Limpieza de la superficie del tapón ahulado del frasco para hemocultivo con una torunda impregnada en solución de yodo, alcohol o Clorhexidina (dejando secar previamente a la inoculación de la muestra en el frasco) y limpieza de dicho tapón para retirar los sobrantes de la muestra.
- Mezcla de la sangre, con movimientos suaves de vaivén, para la homogenización completa con el caldo de cultivo.

DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO

Un estudio descriptivo, observacional, de sombra, prospectivo, sin cegamiento fue llevado a cabo entre el 01 de marzo y el 30 de junio de 2008, en el que se realizaron 100 observaciones de la forma como fue ejecutada la técnica de toma de muestras de sangre para hemocultivos en igual número de pacientes mayores de 1 mes de vida que ingresaron al servicio de urgencias del Hospital Infantil de México Federico Gómez con un evento agudo de neutropenia y fiebre asociado al diagnóstico de base de padecimiento hemato-oncológico, para el cual se encontraban en tratamiento de quimioterapia, teniendo en cuenta que no hubieran recibido manejo con antimicrobianos en los 30 días previos.

Sin ninguna intervención directa ni previa información del objetivo del estudio por parte del investigador al personal encargado, se hizo la observación del cumplimiento o no de cada uno de los estándares sugeridos en las guías y protocolos internacionalmente publicados para el procedimiento de venopunción y toma de muestras de sangre para hemocultivos. La observación verificó, en forma general, el cumplimiento de las normas de bioseguridad, la realización del mismo por parte de personal experimentado, las medidas de asepsia durante el procedimiento y la extracción de la muestra con el material indicado y en el volumen sugerido de acuerdo al peso del paciente.

Durante la observación fueron registrados los pasos del procedimiento en un formato de recolección de datos junto con los de índole demográfico del paciente como edad, sexo, estado clínico, diagnóstico de base, fase del tratamiento oncológico, focalización infecciosa y posteriormente el resultado del aislamiento microbiológico al momento del reporte oficial por parte del laboratorio central de bacteriología del Hospital Infantil de México Federico Gómez. El procesamiento de las muestras en el laboratorio se realizó en el equipo automatizado de detección microbiana **BacT/ALERT®-PF (BIOMÉRIEUX)**.

El protocolo de investigación fue presentado y aprobado en julio de 2007 por el comité de ética y el departamento de investigación del Hospital Infantil de México Federico Gómez.

Los datos se transcribieron a una base de Excel y se procedió al análisis estadístico.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados se presentan como medidas de análisis descriptivo de las variables del estudio.

Se obtuvieron básicamente medidas de frecuencia absoluta y relativa, por tratarse de variables cualitativas, utilizando el PROGRAMA DE ANALISIS EPIDEMIOLOGICO EPI-INFO 2.000.

RESULTADOS

Se observó cómo fueron tomadas las muestras para Hemocultivos, por medio de flebotomía, en 100 pacientes pediátricos del Hospital Infantil de México Federico Gómez que ingresaron al servicio de urgencias con diagnóstico de proceso hemato-oncológico de base, recibiendo tratamiento de quimioterapia mielo-supresora y cursando con evento de neutropenia y fiebre.

Características de la Población

De los 100 pacientes con enfermedad Hemato-oncológica de base, en tratamiento de quimioterapia mielo-supresora, neutropenia secundaria y fiebre:

- 54 eran del sexo femenino y 46 del masculino.
- La edad promedio fue de 91,67 meses (7,64 años) con un rango entre los 5 y los 221 meses (18,41 años).
- Respecto al tipo de neoplasia:
 - 53 pacientes cursaban con un proceso de Leucemia:
 - 26 presentaban el tipo de Leucemia Linfocítica Aguda-L2,
 - 19 el de Leucemia Linfocítica Aguda-L1 y
 - 8 el de Leucemias Mieloblásticas;
 - 41 pacientes cursaban con tumores sólidos:
 - 9 presentaron Osteosarcomas,
 - 8 Rabdomyosarcomas,
 - 4 Sarcomas,
 - 4 Gliomas,
 - 3 Neuroblastomas,
 - 3 Tumores de Willms,
 - 3 Hepatoblastomas,
 - 2 Carcinomas,
 - 2 Retinoblastomas,
 - 1 Tumor Neuroectodérmico y
 - 1 Tumor Germinal;

- 4 pacientes presentaban diagnóstico de Linfoma y
 - 4 diagnóstico de Histiocitosis.
- Previo al evento de neutropenia y fiebre se encontraban en fase del tratamiento oncológico:
 - 21 en fase de Inducción para la remisión.
 - 8 en fase de consolidación,
 - 58 en fase de mantenimiento,
 - 10 en fase de recaída y
 - 3 de neoadyuvancia/adyuvancia.
- La forma de presentación clínica al momento de la observación:
 - 74 pacientes presentaban fiebre de origen a determinar y
 - 26 un foco infeccioso clínicamente documentad:
 - 7 presentaron un diagnóstico de colitis neutropénica,
 - 6 de gastroenteritis,
 - 5 de mucositis de diferente grado de acuerdo a la clasificación de la Organización Mundial de la Salud,
 - 4 de choque séptico sin un foco infeccioso evidente a la exploración física,
 - 3 de infección en piel y tejidos subcutáneos
 - 1 de neumonía y
 - 1 con diagnóstico de Infección de Vías Urinarias basado en la forma de presentación clínica y el posterior aislamiento en orina del germen *Escherichia coli*.

Procedimiento para toma de muestras de Hemocultivo

En los 98 de los 100 casos la muestra de sangre fue tomada por el médico residente encargado y en 2 por personal de enfermería.

En todos los 100 procedimientos la muestra de sangre fue tomada antes del inicio de los antimicrobianos (100%).

En relación a las normas de bioseguridad:

- En ninguno de los procedimientos el encargado utilizó gorro ni bata para la toma de la muestra de sangre (0%).
- En todos ellos se utilizó tapa-bocas (100%). Sin embargo, este no contaba en ninguno de los procedimientos con visera, tampoco el encargado utilizó lentes protectores (0%).

En relación a las medidas de asepsia para la toma de las muestras:

- Previo a la toma de muestra de sangre, en todos los 100 eventos, el encargado realizó un procedimiento de lavado de manos (100%). Dado que no era uno de los objetivos del estudio, en este punto se debe tener en cuenta que no se realizó observación intencional de la técnica del lavado, de tal forma que se verificara si la misma estaba de acuerdo a los protocolos institucionales o a las guías internacionales al respecto.
- En ninguno de los procedimientos el encargado utilizó campos estériles sobre el sitio seleccionado para la toma de muestras de sangre (0%).
- Previo a todos los procedimientos de toma de muestras el encargado procedió a la colocación de guantes estériles manteniendo una técnica aséptica (100%).
- Posteriormente y, para evitar la contaminación externa de la muestra, el encargado realizó una primera limpieza aséptica de la zona escogida para la venopunción en el todos los eventos (100%), sin embargo, en ninguno de ellos se apoyo de una pinza (0%).
- En todos los procedimientos dicha limpieza se realizó con ayuda de una torunda impregnada con jabón yodado (100%), sin embargo, en solo 12 de los mismos se permitió un secado por un mínimo de tiempo de 30 segundos para lograr el efecto residual del antiséptico (12%). El tiempo ideal recomendado de 2 a 3 minutos de secado no se permitió en ninguno de los casos (0%).
- En ninguno de los procedimientos se recurrió, para la limpieza del área escogida para venopunción, al alcohol etílico al 70% o al Gluconato de Clorhexidina a concentraciones del 2-4% (0%).
- Dicha limpieza en todos los procedimientos se realizó de forma excéntrica desde el centro, donde se escogió el punto de punción, hacia la periferia sin devolverse y haciendo un círculo de 3 a 5 cm de diámetro (100%).

- En ninguno de los procedimientos (0%) se procedió a realizar una segunda asepsia de la zona de venopunción (con apoyo de una pinza, con una torunda o gasa impregnada de tintura de Yodopovidona al 2% o Gluconato de Clorhexidina al 2-4% y permitiendo un secado mínimo de 30 segundos e ideal entre 2 y 3 minutos).
- Posterior a la limpieza del área escogida para la venopunción en todos los procedimientos el encargado realizó cambio de guantes por unos estériles con la debida técnica aséptica (0%).

En relación a la muestra:

- En ninguno de los 100 procedimientos se realizó extracción de un volumen de sangre indicado de acuerdo al peso de paciente (0%).
- En ninguno de los 100 procedimientos se realizó una extracción de sangre utilizando un sistema o camisa para toma de muestras al vacío o un pericraneal con adaptador para ejercer el mismo efecto (0%).
- En todos los procedimientos, luego de la punción y extracción de sangre para las muestras, se cambió la aguja por otra nueva (100%).
- En ninguno de los 100 procedimientos se retiró la retapa de aluminio del frasco de hemocultivo al momento de inocular la muestra (0%), esto se realizó previamente antes del inicio de todo el protocolo.
- En ninguno de los procedimientos (0%) el encargado procedió a limpiar la superficie del tapón ahulado del frasco para hemocultivo con una torunda impregnada en solución de yodo, alcohol o Clorhexidina (dejando secar previamente a la inoculación de la muestra en el frasco). Igualmente, en ninguno de los casos, y al sacar la aguja, se limpió dicho tapón con el objetivo de retirar los sobrantes de la muestra (0%).
- En ninguno de los procedimientos se mezcló con movimientos suaves de vaivén la sangre con el caldo de cultivo hasta la homogenización completa (0%).

Aislamiento microbiológico

De las 100 muestras de hemocultivos tomadas para la observación se reportaron en total 9 aislamientos:

- 5 de *Staphylococcus epidermidis*.
- 3 de *Klebsiella pneumoniae*.
- 1 de *Streptococcus viridans*.

En uno sólo de los pacientes en que se reportó aislamiento de *Staphylococcus epidermidis* se realizó una segunda toma de muestra para hemocultivo en la que en el reporte final no hubo crecimiento bacteriano lo que documenta, en este único caso, que el aislamiento logrado se trató de una contaminación de la muestra.

DISCUSIÓN

En los últimos años se han reportado mundialmente cambios radicales en los patrones epidemiológicos de las infecciones bacterianas, en particular las que afectan a pacientes susceptibles por inmunocompromiso como los que presentan patologías tumorales de base. Contra los gérmenes con patrones de resistencia se ha recurrido a esquemas antimicrobianos diferentes y estrategias de manejo que prevengan a futuro la expansión y falta de control de los mismos y de paso las complicaciones y aumentos en la morbi-mortalidad de los pacientes que los adquieren.

El hemocultivo tiene una importancia radical en las estrategias de control de resistencia bacteriana al ofrecer la posibilidad de un diagnóstico microbiológico del agente causal en una enfermedad infecciosa, conocer su susceptibilidad a los antimicrobianos y así, la optimización del tratamiento evitando los esquemas innecesarios, disminuyendo costos y reduciendo la tasa de microorganismos resistentes cuando los tratamientos empíricos de amplio espectro se cambian oportunamente a tratamientos específicos y dirigidos.

Las descripciones realizadas hasta el momento, sobre la frecuencia de positividad en el aislamiento de micro-organismos en cultivos de sangre procesados en el Hospital Infantil de México en los últimos 3 años, muestran que está en niveles ligeramente inferiores a los reportados en otras latitudes e instituciones similares. Para explicar la baja frecuencia de identificación microbiológica se han planteado diferentes teorías al respecto, entre las que se incluyen las que sugieren una recolección de escasos volúmenes de sangre y las de no seguimiento de las recomendaciones establecidas en publicaciones de guías y protocolos basados en evidencia para una correcta técnica de toma de hemocultivos.

Las bien definidas recomendaciones para la recolección de las muestras de sangre para estudio microbiológico exigen la realización del procedimiento por parte de personal calificado, el cumplimiento de normas de bioseguridad y protección de los mismos, sugieren que para el procedimiento se utilice equipo y estándares estrictos de asepsia, manejo adecuado de las muestras y disposición correcta de los residuos biológicos.

Habiendo sido seleccionados de forma intencional para observación pacientes particularmente susceptibles de adquirir infecciones sistémicas bacterianas potencialmente graves, como lo son los que cursan con patologías tumorales, el presente estudio demuestra que en el servicio de urgencias del Hospital Infantil de México Federico Gómez, en el periodo marzo a junio de 2008, se presentaron deficiencias fundamentales en el cumplimiento de la mayoría de los puntos generales definidos en las guías y protocolos internacionalmente publicados y basados en la evidencia para la toma de muestras de sangre para hemocultivos.

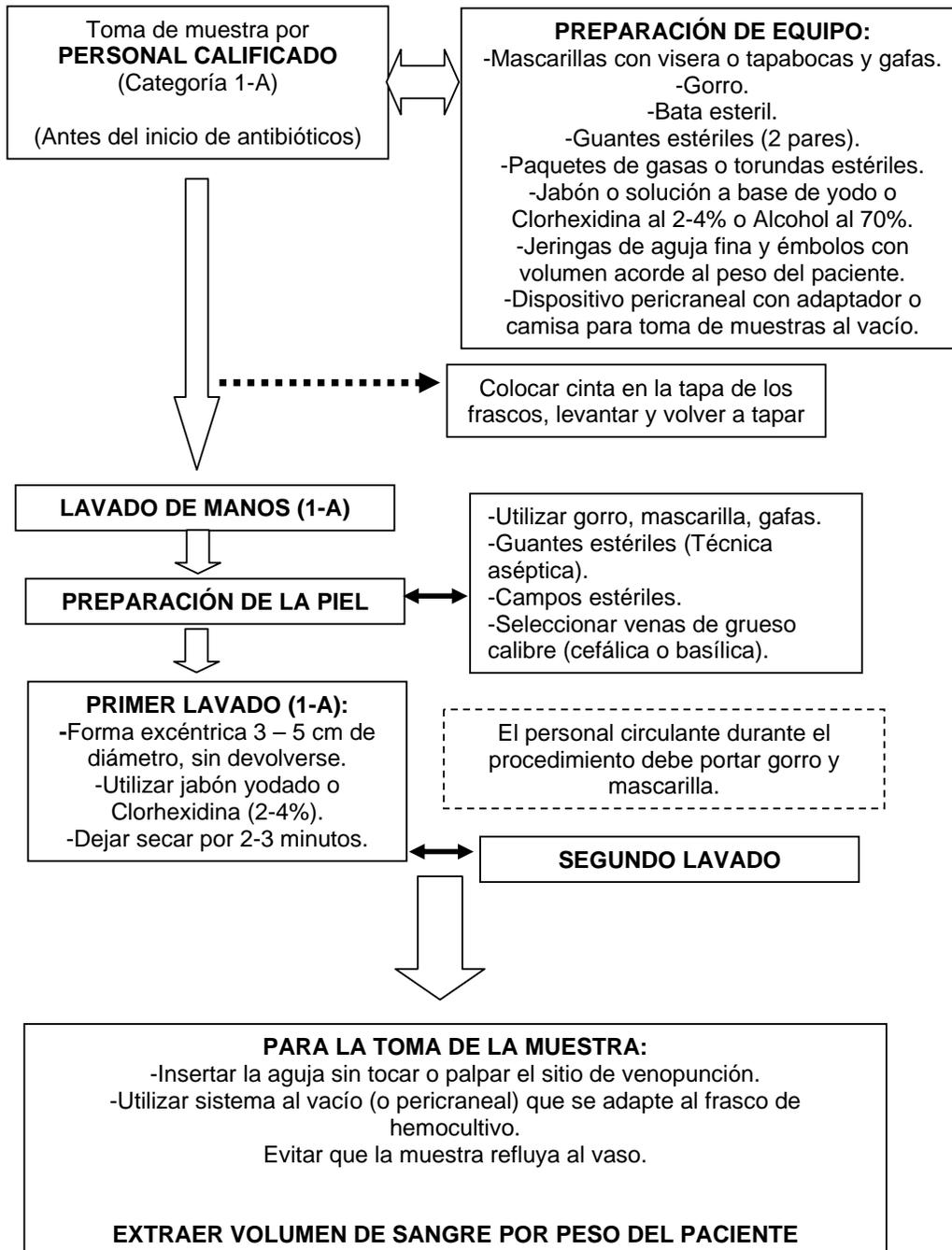
Basados en la anterior apreciación se sugiere, para la institución, que en adelante se dé cumplimiento a requisitos bien definidos en la toma de muestras de sangre que sean procesadas para el análisis microbiológico pretendiendo que los resultados no se vean comprometidos y por ende los tratamientos de los pacientes. Se propone una guía con recomendaciones categorizadas de acuerdo con la evidencia existente, racionalización teórica, aplicabilidad e impacto económico y el planteamiento realizado por el Center for Diseases Contros (CDC) de Atlanta para el análisis microbiológico en la institución (Anexo1).

CONCLUSIONES

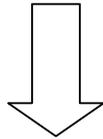
En el servicio de urgencias del Hospital Infantil de México Federico Gómez, en el periodo marzo a junio de 2008, se presentaron deficiencias fundamentales en el cumplimiento de la mayoría de los puntos generales respecto a los definidos en las guías y protocolos internacionalmente publicados y basados en la evidencia para la toma de muestras de sangre para hemocultivos, obviándose normas de bioseguridad, asepsia, manejo y disposición de las muestras.

ANEXO 1

GUÍA PARA LA TOMA DE MUESTRAS DE HEMOCULTIVOS

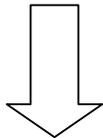


(CONTINUA)



DISPOSICIÓN DE LA MUESTRA:

- Cambio de guantes estériles (técnica aséptica).
- Limpieza del tapón ahulado del frasco con alcohol 70%.
- Inocular la muestra (Volumen / Peso del paciente).
- Mezclar los frascos por inversión suave.
- Limpieza del tapón del frasco para evitar residuos de la muestra.
- Transportar las muestras en bolsas transparentes selladas y rotuladas.
- Trasladar las muestras al laboratorio antes de 30 minutos.



DISPOSICIÓN FINAL DE RESIDUOS HOSPITALARIOS Y MATERIAL CORTO-PUNZANTE.

BIBLIOGRAFÍA.

1. Bodey GP, Buckley M, Sathe YS, Freireich EJ. Quantitative relationships between circulating leukocytes and infection in patients with acute leukemia. *Ann Intern Med* 1966; 64: 328-40.
2. Hughes WT, Armstrong D, Bodey GP, Brown AE, Edwards JE, Feld R, et al. 1997 guidelines for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with unexplained fever. Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 1997; 25: 551-73.
3. Roslton K, Raad I, Whimbey E, Bodey GP. The changing spectrum of bacterial infections in febril neutropenics patients. En: Klastersky JA, editor. *Febril neutropenia*. Berlin: Springer-Verlag; 1997.
4. Urribarri JC y Diemon JM. Características clínicas y de laboratorio en pacientes pediátricos con leucemia linfoblástica aguda con evento de neutropenia y fiebre en el Hospital Infantil de México HIM de enero 2004 a diciembre del 2005. Tesis, U.N.A.M México D.F., 2006.
5. Leaños MB, Abad AM, Solórzano FS y Miranda MG. Microorganismos aislados de hemocultivos en 10 años en un hospital pediátrico de tercer nivel de atención. *Enf Infecc Microbiol* 2007; 27 (1): 6-10.
6. Diaz-Mediavilla J, Lizasoain M. Epidemiología de las infecciones en el paciente neutropénico. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2005; 23 (Suppl 5):7-13.
7. Donowitz GR, Maki DG, Crnich CJ, Pappas PG, Rolston KV. Infections in the neutropenic patient--new views of an old problem. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2001;113-39.
8. Baron EJ, Weinstein MP, Dunne WM, Tenover FC, Tenover BC, Tenover JC, et al. *Cumitech IC, Blood Cultures IV*. Coordinating ed, Baron EJ. ASM press, Washington; 2005.
9. Magadia RR, Weinstein MP. Laboratory diagnosis of bacteremia and fungemia. *Infect Dis Clin North Am* 2001; 15: 1009-24.
10. Tenney JH, Reller LB, Mirrett S, Weinstein MP, Wang WL. Controlled evaluation of the effect of atmosphere of incubation on detection of bacteremia and fungemia in supplemented peptone broth. *J Clin Microbiol* 1982; 16: 437-42.
11. Hall MM, Ilstrup DM, Washington JA. Effect of volume of blood cultured on detection of bacteremia. *J Clin Microbiol* 1976; 3:643-5.
12. Li J, Plorde JJ, Carlson LG. Effects of volume and periodicity on blood cultures. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 2829-31.

13. Isaacman DJ, Karasic RB, Reynolds EA, Kost SI. Effect of number of blood cultures and volume of blood on detection of bacteremia in children. *J Pediatr* 1996; 128: 190-5.
14. Khashu M, Osiovich H, Henry D, Al Khotani A, Solimano A, Speert DP. Persistent bacteremia and severe thrombocytopenia caused by coagulase-negative *Staphylococcus* in a neonatal intensive care unit. *Pediatrics* 2006; 117:340-8.
15. Hoyer A, Silberbach M. Infective endocarditis. *Pediatr Rev* 2005; 26:394-400.
16. Mermel LA, Farr BM, Sherertz RJ, Raad II, O'Grady N, Harris JS, Craven DE; Infectious Diseases Society of America, American College of Critical Care Medicine, Society for Healthcare Epidemiology of America. Guidelines for the management of intravascular catheter-related infections. *J Intraven Nurs* 2001; 24:180-205.
17. Solorzano-Santos F, Miranda-Navales MG, Leanos-Miranda B, Diaz-Ponce H, Palacios-Saucedo G. A blood micro-culture system for the diagnosis of bacteremia in pediatric patients. *Scand J Infect Dis* 1998;30:481-3.
18. Sullivan TD, LaScolea LJ Jr, Neter E. Relationship between the magnitude of bacteremia in children and the clinical disease. *Pediatrics* 1982;69: 699-702.
19. Kellogg JA, Manzella JP, Bankert DA. Frequency of low-level bacteremia in children from birth to fifteen years of age. *J Clin Microbiol* 2000;38:2181-5.
20. Gaur AH, Giannini MA, Flynn PM, Boudreaux JW, Mestemacher MA, Shenep JL, Hayden RT. Optimizing blood culture practices in pediatric immunocompromised patients: evaluation of media types and blood culture volume. *Pediatr Infect Dis J*. 2003;22:545-52.
21. Kanamaru A, Tatsumi Y. Microbiological data for patients with febrile neutropenia. *Clin Infect Dis* 2004 15;39 Suppl 1:S7-S10.
22. Buttery JP. Blood cultures in newborns and children: optimising an everyday test. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2002; 87:F25-8.
23. Gene A, Palacin E, Garcia-Garcia JJ, Munoz-Almagro C. Value of anaerobic blood cultures in pediatrics. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2005; 24: 47-50.
24. Cuervo MP y Rico CL. Guía para la toma de hemocultivos. *Revista de enfermería. Fundación Santafé de Bogotá*. 2006; 2: 14-19.
25. Willson ML, Weinstein MP. General principles in the laboratory detection of bacteremia and fungemia in pediatric patients. *Clinic Lab Med*. 1994; 14: 69-82.

26. Woo PC, Wong SS, Lum PN, Hui WT, Yuen KY. Cell-wall-deficient bacteria and culture-negative febrile episodes in bone-marrow-transplant recipients. *Lancet* 2001 3;357:675-9.
27. Ley BE, Linton CJ, Bennett DM, Jalal H, Foot AB, Millar MR. Detection of bacteraemia in patients with fever and neutropenia using 16S rRNA gene amplification by polymerase chain reaction. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1998; 17: 247-53.
28. Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Smigal C, Thun MJ. Cancer statistics, 2006. *CA Cancer J Clin* 2006;56:106-30.
29. Woodruff TJ, Axelrad DA, Kyle AD, Nweke O, Miller GG, Hurley BJ. Trends in environmentally related childhood illnesses. *Pediatrics* 2004;113:1133-40.
30. Mejia-Arangur  JM, Ortega Álvarez MC, Fajardo Gutiérrez A. Epidemiolog a de las leucemias agudas en México. *Rev Med Inst Mex Seguro* 2005; 43: 323-333.
31. Mejia-Arangure JM, Ortega-Alvarez MC, Fajardo-Gutierrez A. Epidemiology of leukemias in children. Part 2. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc* 2005; 43:401-9.
32. Arbo MD, Snyderman DR. Influence of blood culture results on antibiotic choice in the treatment of bacteremia. *Arch Intern Med* 1994 12-26; 154:2641-5.
33. Trenholme GM, Kaplan RL, Karakusis PH, Stine T, Fuhrer J, Landau W, Levin S. Clinical impact of rapid identification and susceptibility testing of bacterial blood culture isolates. *J Clin Microbiol* 1989; 27: 1342-5.
34. Boschman CR, Tucker LJ, Dressel DC, Novak CC, Hayden RT, Peterson LR. Optimizing detection of microbial sepsis: a comparison of culture systems using packaged sets with directions for blood collection. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1995; 23:1-9.