



**DETECCIÓN ETIOLÓGICA TEMPRANA DE BACTERIEMIA Y
SEPSIS EN PACIENTES PEDIÁTRICOS A TRAVÉS DE
ESPECTROMETRÍA DE MASA MALDI-TOF**

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
ESPECIALISTA EN INFECTOLOGÍA

PRESENTA:
DRA. KELLY CHRISTINA MÁRQUEZ HERRERA

TUTOR DE TESIS:
DR. AGUSTÍN RAFAEL DE COLSA RANERO

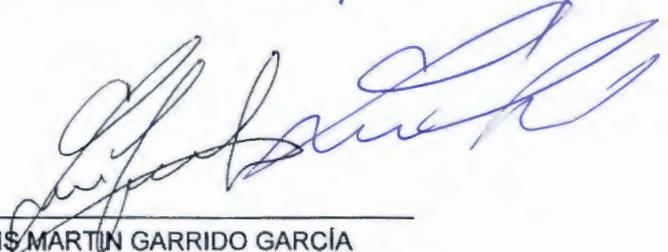
MÉXICO

MMXIII

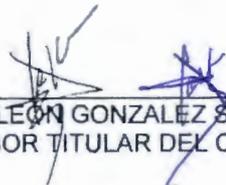
**DETECCIÓN ETIOLÓGICA TEMPRANA DE
BACTERIEMIA Y
SEPSIS EN PACIENTES PEDIÁTRICOS A TRAVÉS DE
ESPECTROMETRÍA DE MASA MALDI-TOF**



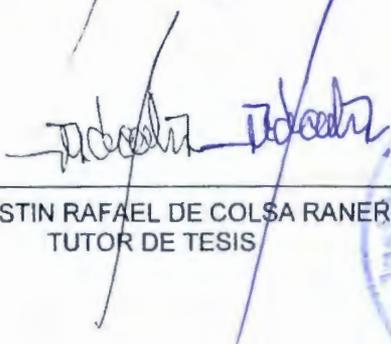
DR. ROSAURA ROSAS VARGAS
DIRECTORA GENERAL DE ENSEÑANZA



DR. LUIS MARTÍN GARRIDO GARCÍA
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE PRE Y POSGRADO



DR. NAPOLEÓN GONZÁLEZ SALDAÑA
PROFESOR TITULAR DEL CURSO



DR. AGUSTÍN RAFAEL DE COLSA RANERO
TUTOR DE TESIS



DETECCIÓN ETIOLÓGICA TEMPRANA DE BACTERIEMIA Y SEPSIS EN PACIENTES PEDIÁTRICOS A TRAVÉS DE ESPECTROMETRÍA DE MASA MALDI-TOF

INDICE

I. ANTECEDENTES	1
Introducción	1
Definición	1
1. Bacteriemias Primarias	1
2. Bacteriemias Secundarias	1
Epidemiología	4
Manifestaciones Clínicas	5
Microbiología	6
Diagnóstico Microbiológico Convencional	8
Nuevas Metodologías para la Detección de Agentes Etiológicos en Sepsis	10
Espectrometría de Masas	11
Bases del EM-MALDI-TOF	11
II. JUSTIFICACIÓN	17
III. OBJETIVOS	17
a. Objetivos Específicos	17
IV. HIPOTESIS	17
V. CLASIFICACION DE LA INVESTIGACIÓN	17
VI. MATERIAL Y MÉTODOS	18
a. Población Objetivo	18
b. Población Elegible	18
c. Criterios de Inclusión	18
d. Criterios de Exclusión	18
e. Ubicación del Estudio	18
f. Logística General	18
g. Definiciones Operacionales	19
h. Variables del Estudio	21
VII. ESTADISTICA Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO	22
1. Cálculo del Tamaño de la Muestra	22
2. Análisis Estadístico	22
VIII. CONSIDERACIONES ÉTICAS	22
IX. FINANCIAMIENTO Y CONVENIO	23
X. CONFIDENCIALIDAD	23
XI. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES	24
XII. REFERENCIAS BIBILOGRÁFICAS	25
ANEXO 1. CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO	28
ANEXO 2. HOJA DE RECOLECCION DE DATOS	33
ANEXO 3. REGISTRO DE RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS	34

DETECCIÓN ETIOLÓGICA TEMPRANA DE BACTERIEMIA Y SEPSIS EN PACIENTES PEDIÁTRICOS A TRAVÉS DE ESPECTROMETRÍA DE MASA MALDI-TOF

I. ANTECEDENTES

Las bacteriemias representan un grupo de infecciones de gran importancia en la edad pediátrica, ya que pueden desencadenar una sepsis y las consecuencias de la misma, como son: el choque séptico, la disfunción orgánica múltiple y la muerte. La rápida identificación del foco infeccioso de la bacteriemia, así como del agente microbiológico que la condiciona son aspectos fundamentales para la sobrevida de los pacientes. Está bien documentado que entre más tiempo el paciente persiste con la infección sin ser oportuna y adecuadamente tratado, las tasas de complicaciones y de mortalidad se elevan considerablemente. Si bien, las bacteriemias y sepsis pueden ser adquiridas en la comunidad, aquéllas que son adquiridas dentro del ámbito hospitalario, cada vez son más frecuentes y en la mayoría de las series se encuentran dentro de las primeras tres causas de infecciones nosocomiales, tanto en pacientes pediátricos como en adultos; además éstas impactan directamente sobre la morbimortalidad de los pacientes [1]. Para que una bacteriemia se considere como nosocomial deberá de adquirirse intrahospitalariamente después de las primeras 48 horas de su ingreso hospitalario [2].

Definición

Bacteriemia se define como la presencia de bacterias en sangre, confirmada por hemocultivo, que puede o no acompañarse de manifestaciones clínicas, ya que en ocasiones puede ser transitoria (ej. cepillado dental, procedimiento invasivo, etc.), intermitente (ej. osteomielitis, neumonía, etc.), o bien sostenida (ej. endocarditis bacteriana, etc.) [3]. Hay que diferenciar entre bacteriemia primaria y secundaria:

1. Bacteriemias primarias

Son aquéllas en las que no se documenta ni clínica ni paraclínicamente su origen, es decir, no hay evidencia de un foco infeccioso primario que origine la bacteriemia. Se define como la identificación en hemocultivo de un microorganismo en pacientes hospitalizados o dentro de los primeros tres días posteriores al egreso con manifestaciones clínicas de infección y en quienes no es posible identificar un foco infeccioso como fuente de bacterias al torrente vascular [4].

2. Bacteriemias secundarias

Son aquéllas en las que sí existe la evidencia clínica y paraclínica de un foco infeccioso primario que origine la bacteriemia; como pueden ser la infección pleuropulmonar, la urinaria, la intraabdominal, la pélvica, la de piel y tejidos blandos, la osteoarticular, o la relacionada a catéteres intravasculares, entre otras. A nivel hospitalario, el origen más frecuente de estas bacteriemias son sin duda los catéteres intravasculares. En esta bacteriemia se presentan síntomas de infección localizados a cualquier nivel conjuntamente con hemocultivo positivo. Se incluyen aquí las candidemias y las bacteriemias secundarias a procedimientos invasivos tales como colecistectomías,

hemodiálisis, cistoscopias y colangiografías. En caso de contar con la identificación del microorganismo del sitio primario, debe ser el mismo que el encontrado en sangre. En pacientes que egresan con síntomas de infección hospitalaria y desarrollan bacteriemia secundaria, esta deberá considerarse nosocomial independientemente del tiempo del egreso [4].

Es importante diferenciar los términos de bacteriemia, de síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS), sepsis, sepsis grave y choque séptico, ya que en ocasiones, el clínico utiliza erróneamente dichos términos e incluso intercambia las definiciones. En la **tabla 1** se describe la terminología internacionalmente aceptada [4].

**Tabla 1.
Terminología**

Bacteriemia	Es la presencia de bacterias en sangre documentadas por hemocultivo, puede o no cursar con manifestaciones clínicas y puede o no tener foco infeccioso evidente. Primaria. En la que se desconoce el origen de la bacteriemia. Secundaria. En la que existe un foco evidente de infección, que es el origen de la bacteriemia
Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica (SRIS)	Es la respuesta inflamatoria del organismo ante una agresión de origen infeccioso, inmunológico, traumático, quirúrgico etc.
Sepsis	Es cuando el SRIS es desencadenado por un proceso infeccioso que puede o no evidenciarse tanto clínica como microbiológicamente. Para considerar sepsis se requiere la evidencia o la sospecha de infección, además de cumplir con al menos 2 de los siguientes criterios de SRIS*: 1. Fiebre o hipotermia 2. Taquicardia persistente 3. Polipnea persistente 4. Alteración en la cuenta leucocitaria: leucocitosis, leucopenia o bandemia. *Valores ajustados de acuerdo a la edad del paciente.
Sepsis grave o severa	Cuando la sepsis se acompaña de datos de hipoperfusión tisular y/o hipotensión, pero que son reversibles al administrar cristaloides (1 a 2 cargas) en el lapso de 1 hora.
Choque séptico	Cuando la sepsis grave no corrige con cristaloides y se requiere de mayor soporte hemodinámico (aminas vasoactivas, coloides).
Disfunción o Falla orgánica múltiple (FOM)	Cuando hay progresión de la hipoperfusión tisular, hipoxia tisular, con daño endotelial secundario, empezando a manifestarse con el daño en diversos órganos afectados. 1. Insuficiencia renal aguda (IRA) 2. Síndrome de insuficiencia respiratoria progresiva del adulto (SIRPA) 3. Coagulación intravascular diseminada (CID) 4. Insuficiencia hepática 5. Disfunción aguda del sistema nervioso central (SNC) 6. Otros sistemas

La *sepsis* es la respuesta sistémica a la infección, que tiene como objetivo proteger al individuo contra la invasión por microorganismos, pudiendo ser nocivo para el mismo cuando se produce una reacción inflamatoria exagerada. La infección de un tejido, fluido o cavidad puede consistir simplemente en la sospecha clínica: no es necesario el aislamiento microbiológico del microorganismo, pero cuando podemos aislarlo en sangre hablamos de bacteriemia, lo cual es equivalente a tener un hemocultivo positivo[5]

El *síndrome de respuesta inflamatoria sistémica* (SRIS) consiste en la presencia de dos de cuatro signos: fiebre/hipotermia, taquipnea, taquicardia/bradicardia, leucocitosis/leucopenia, variables que en pediatría se definen según el rango de edad. La sepsis consiste en la presencia de SRIS más un foco infeccioso. Se habla de sepsis grave cuando además de lo anterior existe alteración en la función de algún órgano más acidosis láctica, oliguria o alteraciones mentales agudas: de choque séptico cuando existe fallo circulatorio agudo con hipotensión arterial persistente a pesar de una adecuada reposición de volumen. Y se define el síndrome de disfunción multiorgánica o llamado también falla orgánica múltiple (SDM o FOM) si existe disfunción de dos o más órganos [5].

Cuando se menciona el término de bacteriemia se refiere a la confirmación de la presencia de bacterias en el torrente sanguíneo a través del laboratorio (hemocultivo). A continuación se describen los criterios más recientes utilizados por el CDC para definir infección del torrente sanguíneo. Los criterios 1 y 2 pueden ser utilizados para pacientes de cualquier edad, incluyendo los pacientes menores de 1 año de edad [6].

Una infección primaria del torrente sanguíneo confirmada por laboratorio presenta al menos uno de los siguientes criterios:

1. Aislamiento de un germen patógeno reconocido en uno o más hemocultivos y que el organismo no esté relacionado con infección en otro sitio. Cuando se menciona el término patógeno reconocido no se incluyen organismos considerados contaminantes comunes de la piel. Algunos ejemplos de patógenos reconocidos son: *S. aureus*, *Enterococcus* spp., *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella* spp. y *Candida* spp.
2. Paciente con al menos uno de los siguientes signos y síntomas: Fiebre ($\geq 38^{\circ}\text{C}$), escalofríos o hipotensión, signos y síntomas de infección, así como dos hemocultivos positivos tomados en sitios diferentes, de donde se aísla el mismo germen considerado comensal de piel que no está relacionado con una infección en otro sitio. Los gérmenes considerados comensales de piel que pueden ocasionar bacteriemias son *Corynebacterium* spp. (no diphtheriae), *Bacillus* spp. (no *B. anthracis*), *Propionibacterium* spp., *Staphylococcus* coagulasa negativos (incluyendo a *S. epidermidis*), *Streptococcus viridans*, *Aerococcus* spp., *Micrococcus* spp.
3. Paciente menor de un año de edad y al menos uno de los siguientes signos y síntomas: Fiebre central ($\geq 38^{\circ}\text{C}$), hipotermia central ($< 36^{\circ}\text{C}$), apnea o bradicardia y signos y síntomas y dos hemocultivos positivos tomados en sitios diferentes, de donde se aísla el mismo germen considerado contaminante de piel.

En el año 2011, los CDC modificaron el criterio para considerar que el germen debe ser el mismo. En las recomendaciones de 2008, se consideraba como criterio el antibiograma, de manera que se requería que los dos aislamientos tuvieran el mismo antibiograma, si no, se consideraban gérmenes diferentes. Actualmente se recomienda que solo se utilice la

identificación del género y especie para determinar si es el mismo organismo. No se recomiendan métodos comparativos adicionales como el antibiograma o la morfología de la colonia para definir si es el mismo organismo, esto se debe a la diferencia entre capacidades y protocolos de los diferentes laboratorios. Esta nueva recomendación reducirá la variabilidad en los reportes establecidos en los criterios dos y tres. Si se aísla el mismo germen en dos ocasiones con un antibiograma diferente se debe asumir el más resistente para definir la conducta terapéutica[6].

Epidemiología

La sepsis continúa siendo una causa principal de morbilidad y mortalidad entre los niños, con cerca de 4,300 muertes anuales en Estados Unidos (7% de todas las muertes infantiles) y un costo estimado anual de 1.7 billones de dólares [7]. En el Reino Unido, se reporta una mortalidad del 17% en las unidades de cuidados intensivos por sepsis severa [8]. La incidencia es mayor en lactantes (5.16 por 1000) la cual disminuye significativamente en niños grandes (0.2 por 1000 en niños de 10-14 años) y es más común en niños que en niñas (0.6 vs 0.52 por 1000) [9].

Se estiman cada año cerca de 20,000 a 42,000 casos de sepsis severa en Estados Unidos, la mitad de estos casos ocurren en niños con patologías subyacentes como cáncer o cardiopatía congénita: se espera que la incidencia de sepsis en niños críticamente enfermos se incremente debido al aumento en la supervivencia a enfermedades que previamente se consideraban fatales, con el correspondiente aumento en las infecciones por *Candida* spp. y otros gérmenes oportunistas [10].

En los Estados Unidos, se estima que anualmente ocurren entre 300,000 y 500,000 episodios de bacteriemia, de los cuales hasta una tercera parte evolucionarán a choque séptico, y alrededor de 20% a 40% de dichos pacientes fallecerán. En países latinoamericanos se estima que entre 4% a 20% de los pacientes pediátricos hospitalizados cursarán con alguna infección nosocomial, y de estas, entre 10% a 30% corresponden a bacteriemias. Estas bacteriemias son más frecuentes en las salas de cuidados intensivos pediátricos y neonatales, así como también en pacientes de mayor riesgo como los pacientes hemato-oncológicos, los trasplantados, los quemados, etc. Se sabe que tanto las bacteriemias como fungemias son al menos ocho veces más frecuentes en las terapias intensivas que en otras áreas del hospital [9,10].

En Holanda, es la cuarta infección nosocomial más frecuente luego de las infecciones de sitio operatorio, la neumonía nosocomial y la neumonía asociada a ventilación mecánica [11]. En los países en vías de desarrollo las bacteriemias pueden estar relacionadas con la contaminación de las soluciones intravenosas. La magnitud del problema está subestimada. En un estudio realizado en México se encontró que el 2% de las soluciones se encontraban contaminadas y estas ocasionaban el 7% de todas bacteriemias y el 11% de las bacteriemias no asociadas a catéter [12]. Es importante comentar que de todos los pacientes pediátricos que cursan con bacteriemia, alrededor de 20-30% desarrollarán sepsis: y por el contrario, de todos aquellos pacientes que tienen sepsis, tendrán hemocultivo positivo menos del 30% [13]. Un estudio prospectivo en India que incluyó 1,058 pacientes pediátricos ingresados a una unidad de terapia intensiva pediátrica (UTIP), demostró que 82% desarrollaron SRIS,

23% sepsis, 4% sepsis grave y 2% choque séptico, y que la mortalidad relacionada fue del 6% [14].

En el Instituto Nacional de Pediatría las bacteriemias representan la primera causa de infección nosocomial, principalmente relacionada a catéteres intravasculares. Los microorganismos que se aíslan con mayor frecuencia son: los *Staphylococcus* coagulasa negativos, seguidos de bacilos Gram negativos como, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* y *E. cloacae*. A diferencia de la mayoría de las series, tanto *S. aureus* como *Enterococcus* spp., representan menos del 10%, incluso son superados por *Candida albicans* y no albicans. En una serie de pacientes hemato-oncológicos ingresados en el INP durante el periodo del 2004-2012 se documentaron 371 bacteriemias, de las cuales el 56.4% (213) fueron causadas por bacilos Gram negativos, y 35.5% (128) por cocos Gram positivos; el 8.1% fue por agentes micóticos, predominantemente *Candida* spp., documentándose 4% de infecciones polimicrobianas.

Manifestaciones Clínicas

Como se comentó con anterioridad, las bacteriemias pueden o no cursar con síntomas asociados, y dependerá de la intensidad y origen de la bacteriemia (transitoria, intermitente, continua), así como el microorganismo en cuestión (especie, virulencia, etc.), huésped (edad, estado nutricional, inmunosupresión, etc.) Un aspecto importante es que incluso antes de desarrollar fiebre o escalofríos, el paciente bacteriémico suele presentar polipnea e incluso llegar a la alcalosis respiratoria, y muchas veces este cuadro se confunde con problema respiratorio, cuando en realidad se trata en parte de la respuesta sistémica.

El paciente con bacteriemia primaria puede presentar únicamente fiebre y ningún otro dato de infección. En el caso de bacteriemia secundaria, deberá intentarse identificar el foco bacteriémico tanto con bases clínicas como paraclínicas, por lo que deberán tomarse los cultivos que se consideren importantes para conocer la etiología específica del proceso infeccioso (por ejemplo orina, LCR, etc.); además es indispensable identificar si existen datos de SRIS, sepsis, choque, o alguna complicación asociada al proceso infeccioso [4]. Los síntomas más comúnmente asociados a la bacteriemia se describen en la **tabla 2**.

Tabla 2.
Signos y Síntomas que Sugieren Bacteriemia

Datos primarios de bacteriemia	Datos que sugieren complicaciones
Cambios de temperatura: Fiebre o hipotermia	Hipotensión
Escalofríos	Datos de falla orgánica
Piloerección	Hematológico: Plaquetopenia,
Hiperventilación, polipnea	prolongación de tiempos de coagulación,
Cambios cutáneos: Coloración “terrosa” o	sangrado, CID
marmórea”, embolias sépticas, ectima	Metabólico: Acidosis, hiperlactatemia
gangrenoso etc.	Renal: Oliguria, anuria
Cambios en el estado de alerta	Pulmonar: Cianosis, Hipoxemia
	Hepático: Ictericia, hipoalbuminemia
	Cardíaco: Insuficiencia cardíaca

La evaluación clínica del paciente con sospecha de bacteriemia debe ser integral, siempre se deberán de evaluar los factores de riesgo para el desarrollo de la misma, como son el inmunocompromiso, los procedimientos invasivos (principalmente catéteres intravasculares), y la alimentación parenteral, entre otros [3]. En la **tabla 3** se describen algunos de los factores de riesgo y su riesgo relativo para desarrollar bacteriemia primaria, de acuerdo a cada grupo de gérmenes, encontrados en un estudio realizado en una unidad de cuidados intensivos pediátrica.

Tabla 3.
Factores de riesgo y riesgo relativo (RR) para desarrollar Bacteriemia primaria, en una Unidad de Cuidados Intensivos Pediátricos en India [14]

Variable	SCoN	Bacilos Gram Negativos	Otros Cocos Gram Positivos
Sexo masculino	NS	NS	2.7 (1.1-6.8)
Transferencia desde otro hospital	4.2(2.0-8.8)	2.9(1.3-6.8)	3.8(1.6-8.8)
Cardiopatía congénita	2.4(1.1-4.9)	4.7(2.0-11.2)	NS
Uso de catéter arterial	1.8(0.9-3.9)	2.1(0.9-5)	1.1 (0.5-2.6)
Uso de catéter venoso Central	1.7(0.8-3.5)	0.8(0.7-2.1)	2.8(1.2-6.5)
Quemados	21.3(5.7-80)	NS	NS
Falla de medro	2.9(1.0-8.4)	3.8(1.3-11.2)	NS
Neonato	3.2(1.4-7.7)	2.8(1.0-7.7)	3.0(1.1-8.2)
Uso de prednisona	4.6(2.5-8.5)	3.9(2.1-7.0)	3.8(2.1-6.8)
Uso de nutrición parenteral	212 (59-757)	154(38-622)	88(18-419)
Transfusión de glóbulos rojos	11.5(5.4-24.3)	7.4(3.2-17)	NS
Transfusión de plaquetas	11.9(5.4-26.4)	12.1 (5.0-29.3)	NS
Transfusión de plasma fresco congelado	9.4(4.0-21.8)	10.8(4.3-26.8)	NS
Transfusión de crioprecipitados	NS	25.2(9.8-65)	5.8(1.3-25-5)

Microbiología

La frecuencia de aislamiento de los microorganismos comúnmente involucrados varía de centro a centro y depende particularmente de si la infección es adquirida en la comunidad o a nivel hospitalario. En el caso de bacteriemias y sepsis adquiridas en la comunidad, el microorganismo involucrado se asocia principalmente al grupo etario: en recién nacidos y neonatos las enterobacterias, *Streptococcus agalactiae* y *Listeria monocytogenes*, son las principales. En el lactante pueden presentarse eventualmente las enterobacterias, principalmente *Salmonella* spp., así como *Streptococcus pneumoniae* y ocasionalmente *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*; en regiones donde la cobertura vacunal contra *Haemophilus influenzae* tipo b no es adecuada, este agente aún puede encontrarse. De la etapa del lactante en adelante, *Streptococcus pneumoniae* es el agente más frecuentemente encontrado cuando es adquirido en la comunidad, principalmente asociado a bacteriemia primaria, meningitis o neumonía. Otro agente importante a considerar desde la edad de lactante en adelante es *Neisseria meningitidis*, que se presenta como cuadro de

meningococcemia, con choque séptico de rápida evolución, con cuadro de síndrome de coagulación intravascular diseminada, pudiendo cursar con meningitis o no [15,16].

Cuando la infección es adquirida a nivel nosocomial, las posibilidades etiológicas se amplían considerablemente, en la mayoría de las series de bacteriemias son ocasionadas por *Staphylococcus coagulasa*-negativos (SCoN), particularmente *S. epidermidis*, debido a que son los principales agentes que se asocian al uso de catéteres intravasculares. Otros de los agentes Gram positivos son el *S. aureus*, *Enterococcus* spp. y *S. viridans*. Entre los agentes Gram negativos, predominan las enterobacterias, particularmente *K. pneumoniae*, *E. coli* y *E. cloacae*. Entre los bacilos Gram negativos no-fermentadores predomina *Pseudomonas aeruginosa*, y en las últimas dos décadas ha sido creciente la identificación de otros agentes no fermentadores como *Acinetobacter* spp., *Burkholderia cepacia* y *Stenotrophomonas maltophilia*. Dada la población creciente de pacientes inmunocomprometidos (cáncer, trasplantes, SIDA, terapia esteroidea, etc.), las fungemias son cada día más frecuentes, particularmente con *C. albicans* y no albicans.

En las diversas series se ha demostrado, que entre un 30 y un 50% de todas las candidemias a nivel hospitalario son por especies de candidas no albicans. La bacteriemia polimicrobiana es infrecuente, se suele presentar en menos del 10% de los casos; la interpretación se hará siempre en relación al estado clínico del paciente y sus factores de riesgo, ya que aislar más de un microorganismo en sangre puede representar una contaminación; sin embargo, hay infecciones primarias con agentes mixtos, como son las infecciones intra-abdominales o abdomino-pélvicas y los abscesos, de las que pueden derivar auténticas bacteriemias polimicrobianas [15,16].

En la **tabla 4**, se describen los agentes que más frecuentemente se identifican en bacteriemias y fungemias tanto comunitarias como nosocomiales.

Tabla 4.
Microorganismos Aislados en
Bacteriemias y Fungemias

Agentes Gram Positivos	Agentes Gram Negativos
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>
<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Haemophilus influenzae</i> tipo b
<i>Staphylococcus aureus</i>	Enterobacterias
<i>Streptococcus agalactiae</i> (recién nacidos/neonatos)	<i>Klebsiella</i> spp. (<i>K. pneumoniae</i> , <i>K. oxytoca</i>)
<i>Staphylococcus coagulasa negativa</i> (<i>S. epidermidis</i> , <i>S. hominis</i> , etc.)	<i>Escherichia coli</i>
<i>Enterococcus</i> (<i>E. faecalis</i> , <i>E. faecium</i>)	<i>Enterobacter</i> spp. (<i>E. cloacae</i>)
<i>Streptococcus viridans</i>	<i>Proteus</i> spp. (<i>P. vulgaris</i> , <i>P. mirabilis</i>)
<i>Bacillus</i> spp.	<i>Pantoea agglomerans</i>
	<i>Serratia marcescens</i>
	No fermentadoras
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	<i>Acinetobacter</i> spp.
	<i>Burkholderia cepacia</i>

<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
Agentes Micóticos
<i>Candida albicans</i> <i>Candida no albicans</i> <ul style="list-style-type: none"> • <i>C. tropicalis</i> • <i>C. parapsilosis</i> • <i>C. glabrata</i> • <i>C. krusei</i> • <i>C. dublinensis</i> • <i>C. guilliermondi</i> • <i>C. lusitanae</i> <i>Malassezia furfur</i>

Como se comentó anteriormente, en recién nacidos, las bacterias más comunes son el estreptococo del grupo B y las enterobacterias; otros patógenos menos comunes incluyen enterococos, *Listeria monocytogenes*, *S. aureus* y *S. pneumoniae*. El uso de catéteres venosos centrales y otros dispositivos predispone a los neonatos a la infección por gérmenes nosocomiales como estafilococos coagulasa negativos y *Candida* spp. Después del periodo neonatal, el *Streptococcus pneumoniae* y *N. meningitidis* son causas comunes de sepsis; en la era prevacunal el *H. influenzae* tipo b también era una causa importante; otros patógenos que deben incluirse son *S. aureus* y *S. pyogenes*. En niños hospitalizados deben tenerse en cuenta gérmenes nosocomiales como *S. aureus*, estafilococos coagulasa negativos, bacilos Gram negativos y *Candida* spp; los pacientes inmunocomprometidos tienen predisposición a infectarse por patógenos oportunistas como *P. aeruginosa*, *S. viridans* y *Candida* spp. y los pacientes con asplenia anatómica o funcional a infectarse por gérmenes encapsulados como *Salmonella*, neumococo o meningococo.

Diagnóstico Microbiológico Convencional

El hemocultivo es la prueba confirmatoria, por lo que es necesario contar con al menos dos hemocultivos iniciales (tomados en sitios distintos e intervalos distintos), y en caso de contar con un catéter intravascular, deberá tomarse cultivo tanto central como periférico (como indica el siguiente capítulo en relación a infecciones asociadas a catéteres). Se requieren de 20 mL de sangre para los hemocultivos tomados en pacientes adultos, 10 mL en pacientes adolescentes, 3-5 ml en pacientes menores y entre 1 y 3 mL en neonatos, esta cantidad debe respetarse con la finalidad de conservar una relación de 1:5 a 1:10 entre los volúmenes de sangre y medio de cultivo líquido comercial en el que se inocula (hay hemocultivos comerciales especiales para pacientes pediátricos) [17]. Los hemocultivos para agentes anaerobios no se toman de rutina, a menos que la patología infecciosa del paciente involucre a dichos agentes (abscesos intraabdominales, intrapélvicos, fascitis, etc.)

Actualmente, en la mayoría de los centros hospitalarios se cuenta con sistemas automatizados como son: BACTEC, BactAlert, DIFCO, entre otros, que permiten en forma computarizada la detección de hemocultivos positivos. Es de fundamental importancia resaltar que la interpretación óptima de los hemocultivos requiere del pleno conocimiento de la situación clínica del paciente. La interpretación exclusiva por el microbiólogo estará

siempre sujeta a errores, por lo que deberá de existir una adecuada comunicación entre el microbiólogo y el clínico [18].

Una vez que se cuenta con un hemocultivo positivo, es muy importante la interpretación cuidadosa de los agentes aislados, ya que en ocasiones, el agente aislado puede representar una contaminación, como sucede con *S. epidermidis*, *S. viridans*, *Corynebacterium* spp., *Bacillus* spp., entre otros. Por otra parte, existen microorganismos que excepcionalmente son contaminantes, por lo que al identificarse en hemocultivo, deberán considerarse como auténticos patógenos, esto sucede con *S. pneumoniae*, *S. aureus*, las enterobacterias, *P. aeruginosa* y cualquier especie de candida. En la práctica clínica habitual alrededor de un 5% (rango 3% a 7%) de los hemocultivos pueden representar una contaminación con algún microorganismo, por lo que en ocasiones es difícil distinguir entre un verdadero positivo con valor clínico y un microorganismo contaminante[19].

En la **tabla 5** se expone la posibilidad que existe de que los microorganismos aislados en sangre sean auténticos patógenos; cada interpretación siempre deberá de realizarse en relación a las bases clínicas, presencia de foco infeccioso y sobre todo, los factores de riesgo que cada paciente tenga en particular [20].

Tabla 5.
Porcentaje de Hemocultivos Positivos que Representan ser Auténticos Patógenos

Agentes Gram Positivos	%	Agentes Gram Negativos	%	Agentes Micóticos	%
<i>S. pneumoniae</i>	100	<i>Klebsiella</i> spp.	100	<i>C. albicans</i>	90-100
<i>S. aureus</i>	87	<i>Enterobacter</i> spp.	40	<i>Candida</i> spp.	90-100
<i>Staphylococcus</i> coagulasa negativo	12-35	<i>E. coli</i>	99		
<i>Enterococcus</i> spp.	70	<i>P. aeruginosa</i>	96		
<i>S. viridans</i>	40				

Algunos de los puntos sugeridos a analizar para determinar si el hemocultivo es contaminante o no son [4,18]:

1) Hay agentes que en la mayoría de las veces son auténticos patógenos (*S. aureus*, enterobacterias, *Candida* spp.), mientras que otros más fácilmente pueden ser contaminantes, principalmente cuando colonizan la piel (*S. epidermidis*, otros SCoN, *Acinetobacter* spp., *P. acnes*, corinebacterias); sin embargo, estos últimos también pueden representar auténticos patógenos.

2) Cuando se trata de auténticos patógenos, los hemocultivos suelen ser positivos en forma temprana, mientras que los agentes contaminantes (por su baja carga bacteriana), suelen demorarse en crecer, por lo que requieren incubaciones más prolongadas de lo habitual.

- 3) Cuando se trata de auténticos patógenos, estos pueden encontrarse tanto en hemocultivos centrales como periféricos, e incluso en otros cultivos obtenidos de otros focos infecciosos, corroborando así la etiología de la infección y bacteriemia (ej. aislamiento de *E. coli* en orina y sangre en caso de arosepsis).
- 4) Se tiene que evaluar si clínicamente el paciente presenta datos compatibles con bacteriemia, sepsis o SRIS, así como los factores de riesgo como inmunosupresión, dispositivos intravasculares, etc.

Nuevas Metodologías para la Detección de Agentes Etiológicos en Sepsis

Para entender la importancia del reconocimiento temprano de la sepsis en pediatría y las implicaciones que tiene el inicio oportuno del tratamiento antibiótico con el descenso en la morbimortalidad, es necesario aclarar primero algunas definiciones a este respecto, así como entender algunos puntos en cuanto a la epidemiología y el diagnóstico de esta entidad [21].

El manejo de pacientes sospechosos de infecciones bacterianas recae en dos aspectos principales: identificar al patógeno y encontrar la mejor opción terapéutica. La estrategia clásica de la identificación bacteriana está basada inicialmente en pruebas rápidas como: tinción de Gram, oxidasa y catalasa. Los marcadores fenotípicos de la identificación bacteriana muestran variabilidad debido a cambios ambientales tales como las condiciones de cultivo.

Aunque algunas de estas pruebas se realizan en pocos minutos, la identificación completa necesita aproximadamente 18 horas incluso más tiempo para organismos fastidiosos [22]. La biología molecular permite la identificación rápida usando técnicas de amplificación como: PCR o RT-PCR, las cuales utilizan blancos genéticos conservados para realizar la identificación del RNA ribosomal, la RNA polimerasa (*rpoB*) o factores de alargamiento. Esta disciplina presenta numerosas ventajas, pues teóricamente permite la identificación de organismos de crecimiento lento y de patógenos no cultivables. Los resultados son obtenidos en corto tiempo especialmente si se usa RT-PCR [23]. Desafortunadamente, la información obtenida no siempre es suficiente para discriminar a nivel de especie, por lo que deben incluirse blancos adicionales.

En el caso de la determinación del agente etiológico de sepsis/bacteriemia la rapidez es el factor más importante. Las pruebas moleculares se dividen esencialmente en pruebas cuyo principio es la hibridización y aquellas que utilizan métodos de amplificación. Aquellas que utilizan hibridización son el PNA-FISH (*peptide-nucleic acid-fluorescent in situ hybridization*) y la tecnología AccuProbe, que utiliza sondas de DNA quimioluminescentes: el número de patógenos que detectan ambas pruebas es limitado y son aplicadas cuando los hemocultivos son positivos o sobre colonias puras. Por otra parte, las técnicas de amplificación basadas en un blanco esencialmente utilizan PCR, aunque pueden utilizar LCR (*ligase chain reaction*), NASBA (*nucleic acid sequence-based amplification*) o TMA (*transcription-mediated amplification*). Aquéllas que basan su amplificación de señal son el bDNA (*branched DNA*) y otras similares [24].

En la actualidad existen pruebas de detección de amplia variedad de patógenos como es el Prove-it Sepsis, basado en PCR y detección por microarreglos: el Hyplex BloodScreen, también basado en PCR multiplex, detectado por hibridación-ELISA. Estas tecnologías están básicamente diseñadas para el diagnóstico de hemocultivos positivos. Existen otras plataformas y sistemas diseñados para la detección de muestra directa, como es el SepsiTest, basado en PCR múltiple de amplio rango (rRNA 16S y 18S) y posterior detección por secuenciación. Aunque la posible detección de patógenos es muy amplia, el tiempo requerido es de 8-12 horas para contar con un resultado [25].

La prueba SeptiFast también se basa en PCR multiplex, pero la detección se hace por análisis de curvas de disociación (*MCA-melting curve analysis*), esta prueba permite la detección de sólo 25 patógenos y los resultados se obtienen alrededor de seis horas. Por último, la prueba VYOO/LOOKSTER basada en PCR multiplex con detección en gel de electroforesis, permite la detección de múltiples patógenos en ocho horas. Estas técnicas de biología molecular aún requieren experiencia técnica en alto nivel, además de ser costosas, la mayoría de ellas no están establecidas para la identificación de rutina [25].

Espectrometría de Masas

Derivado de la tecnología reciente que utiliza espectrometría de masa (EM) para la identificación bacteriana en los laboratorios de microbiología clínica, han aparecido plataformas que utilizan la PCR de amplio rango, combinada con EM, como es la plataforma PLEX-ID BAC Spectrum, que permite la identificación tanto de agentes bacterianos como micóticos; esta tecnología permite detectar los amplicones generados por medio de la EM, siendo el clásico ejemplo de una PCR/ESI-MS. Por otra parte, existen plataformas que también utilizan la EM pero cuya detección está basada en los perfiles de proteínas, como es la EM-MALDI-TOF (*Matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry*) a partir de hemocultivos positivos y colonias bacterianas es una propuesta exitosa. Una de las grandes ventajas de esta tecnología es que los resultados se obtienen después de un proceso mínimo, que habitualmente lleva menos de 30 minutos a diferencia de las otras tecnologías mencionadas. Seng *et al.*, reportaron 95.4% de éxito en la identificación poscultivo bacteriano con EM-MALDI-TOF, siendo el 84.1% de los patógenos identificados a nivel de especie y 11.3% a nivel de género. Otras de las ventajas ofrecidas por EM-MALDI-TOF son:

- Detectar también agentes micóticos (*Candida* spp., *Aspergillus* spp., otros).
- Detección de patrones de resistencia (ej. genes de beta-lactamasas como BLEEs en enterobacterias, gen *mecA* en MRSA, entre otros).
- Detección polimicrobiana
- La posibilidad de la tipificación molecular.

Bases del EM-MALDI-TOF

La propiedad intrínseca de la espectrometría de masas es detectar el radio masa-carga (m/z) de un bioanalito, proporcionando el espectro en pocos minutos. Este método se ha utilizado para perfiles proteicos bacterianos de extractos celulares y se ha aplicado recientemente a la identificación de microorganismos de diferentes géneros y especies. El procedimiento proporciona un espectro de masas único de los microorganismos. Este método requiere que

las moléculas del polímero estén en fase condensada para ser convertidas en moléculas ionizadas, aisladas e intactas en fase gaseosa. Los iones son separados de acuerdo a su peso molecular después de la migración en un campo eléctrico. Cada molécula detectada es caracterizada por: la masa molecular (m), la carga (z), el radio de masa/carga (m/z) y la intensidad relativa de la señal [26].

El sistema de EM-MALDI-TOF posee un sistema de introducción de la muestra por sonda directa lo que permite trabajar con pequeñas cantidades. El sistema de ionización de un analito dependerá del tipo de muestra que se desee analizar y del tipo de información a obtener. En el sistema de ionización por desorción que es utilizado por la EM-MALDI-TOF, la muestra es transformada en iones gaseosos y se prefieren para el análisis de moléculas de pesos moleculares mayores a 105 daltones, no volátiles y térmicamente inestables. La desorción se realiza mediante la radiación de la muestra con un láser de potencia elevada aproximadamente 10^6 W cm^{-2} y de pulsos cortos. La muestra se encuentra en disolución con una matriz en una proporción 10,000:1. La matriz debe adsorber gran cantidad de energía a la longitud de onda del láser, posteriormente sufre una relajación, cediendo la energía emitida a las moléculas de la muestra de una forma controlada de manera que permite la desorción de las moléculas quedando como iones intactos en fase gaseosa.

En el sistema de EM-MALDI-TOF, la matriz tiene dos funciones: adsorber el fotón de energía procedente del haz láser y aislar las moléculas del biopolímero. Los iones generados son principalmente moléculas protonadas con una sola carga. La matriz requiere de propiedades físicas y químicas como: una absorbancia eficiente de la longitud de onda del láser, una ionización eficiente y una estabilidad para no interferir con el espectro de masa de la muestra. La elección de las matrices depende de la naturaleza de la muestra estudiada, Las matrices comúnmente usadas son ácido 2,5-dihidroxibenzoico (ácido gentísico), ácido 3,5-dimetoxi-4-hidroxinámico (ácido sinapínico) y ácido α -ciano-4-hidroxinámico (α -CHCA). El ácido gentísico (DHB) permite el estudio de oligosacáridos, glicopéptidos y glicoproteínas. Generalmente, el DHB es más eficiente para componentes de peso molecular bajo y el ácido sinapínico y CHCA especialmente permiten el estudio de proteínas [27]. Al analizar la muestra se deben separar los iones en función de su relación m/z y enfocar los iones separados hacia determinado punto. El movimiento de las partículas cargadas permite distinguir unas de otras en función de la energía cinética de cada ion, de la velocidad o del momento de fuerzas (**Diagrama 1**).

Los analizadores de tiempo de vuelo se basan en la relación entre la masa y la velocidad de los iones. Se mide el tiempo que necesitan los iones acelerados para recorrer una distancia, el cual dependerá de las características del instrumento, sin que los iones estén sometidos a un campo eléctrico o magnético[28].

El primer paso es la formación de un cristal entre la muestra y una matriz orgánica (co-cristalización). La muestra es colocada en la EM-MALDI-TOF con una matriz apropiada, secada con aire seco a temperatura ambiente. La placa es insertada en el MS, la mezcla de la matriz-mezcla es bombardeada con un láser para crear iones en fase gaseosa que son pulsados en un tubo, generalmente una especie ionizada produce una carga. Las especies de

interés son identificadas por su radio masa/carga, el valor m/z es obtenido de centro del pico.

Las bacterias son identificadas en base del radio masa/carga (m/z), lo que permite un espectro reproducible en pocos minutos que consiste de una serie de picos de 500 a 11,000 m/z . cada pico corresponde a un fragmento molecular liberado de la superficie celular durante la desorción laser. La identificación del EM-MALDI-TOF está basada en los siguientes hallazgos: la huella espectral varía entre los microorganismos: entre los compuestos detectados en el espectro, algunos picos (masa molecular) son específicos de géneros, especies y algunas veces de subespecies; los espectros obtenidos son reproducibles si las bacterias son cultivadas en las mismas condiciones [29].

Actualmente los diferentes sistemas EM-MALDI-TOF y las bases de datos permiten la identificación de los principales organismos (bacterias, levaduras y hongos) aislados de muestras clínicas. La mayoría de los estudios de EM-MALDI-TOF reportados en la literatura, establecen la identificación microbiana a partir de hemocultivos positivos (Tabla 6), así como de subcultivos bacterianos (Tabla 7).

Analizando la literatura publicada en relación a la discrepancia entre la identificación a través de EM-MALDI-TOF y los métodos bacteriológicos convencionales, se reporta un rango de discrepancia del 1.8 a 25.24%, con un promedio de 14.5%. Las principales dificultades de identificación sucede entre *S. pneumoniae* y *S. viridans*, y entre *E. coli* y *Shigella* spp., esto de cierta manera clínicamente es factible de diferenciar, ya que los cuadros que ocasionan *S. pneumoniae* y *S. viridans* son en general, muy diferentes, mientras que la bacteriemia por *Shigella* spp., es excepcional. En la tabla 8 se resumen los principales resultados de las principales discrepancias reportadas en la literatura.

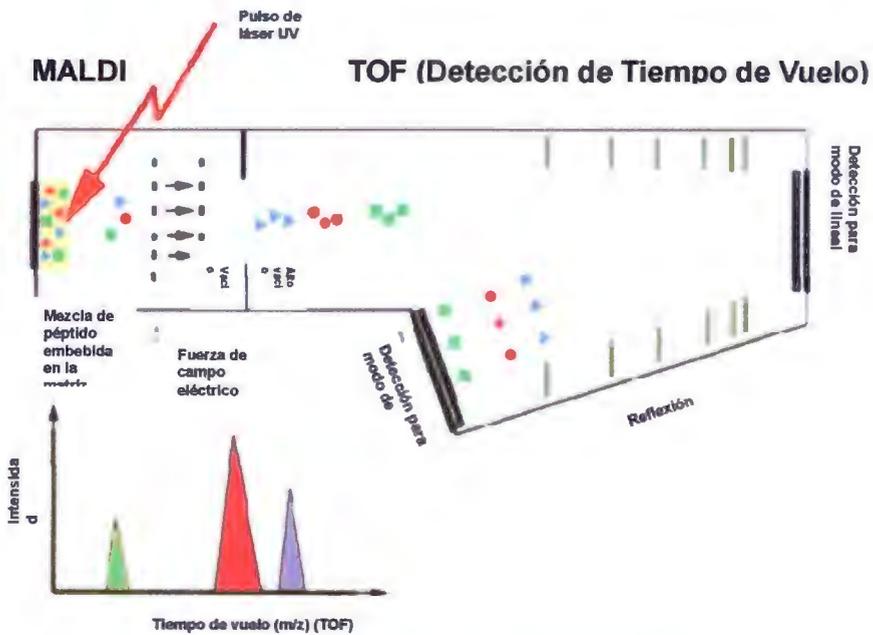
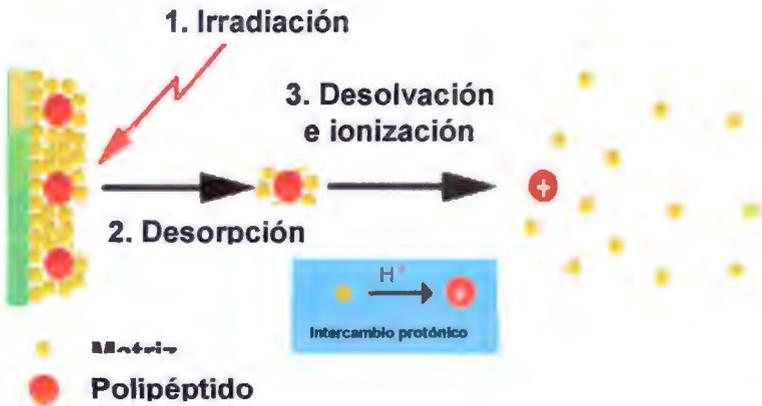


Diagrama 1. Principios del EM-MALDI-TOF

Tabla 6.
Estudios de identificación microbiana a partir de hemocultivos
positivos utilizando EM-MALDI-TOF

Referencia	Número	Tiempo	Población	%ID* especie	%ID género	Difícil ID
[30]	120	2 meses	Monomicrobiano	77.8% GN:89.1%, GP:71.6%	78.7% GN: 89.1%, GP: 72.9%	Grupo de <i>S. mitis</i> . <i>Staphylococcus sp.</i>
[31]	85	4 semanas	Monomicrobiano	70.58% GN:94% GP:100%	82.35% GN:94.7% GP:84.6%	<i>S. pneumoniae</i> <i>S. aureus</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>E. faecium</i>
[32]	212	NP	Monomicrobiano (202) Polimicrobiano (10)	80.2% GN: NP GP:NP	80.2% GN: NP GP:NP	Grupo del <i>S. mitis</i> . <i>P. acnés</i>
[33]	373	NP	Monomicrobiano	90.88% GN:34.58% GP:53.35%	2% GN:34.58% GP:53.35%	<i>S. pneumoniae</i> . Grupo de <i>S. mitis</i> .
[34]	500	3 meses	Monomicrobiano (483) Polimicrobiano (17)	86.5% GN:89.8%, GP:86.3%	86.5% GN:89.8%, GP:86.3%	<i>S. pneumoniae</i> , Grupo de <i>S. mitis</i> . <i>A. aphrophilus</i>
[35]	101	NP	Monomicrobiano (99) Polimicrobiano (2)	78% GN:46.53%, GP:51.48%	78% GN:46.53%, GP:51.48%	<i>S. pneumoniae</i>
[36]	507	1 mes	Monomicrobiano (476) Polimicrobiano (31)	59.4% GN:79.7%, GP:46.3%	74.8% GN:87.2%, GP:68.4%	Grupo de <i>S. mitis</i> .
[37]	532	3 meses	Monomicrobiano (482) Polimicrobiano (50)	95.2% GN:89.02% GP:91.08%	89.66% GN:89.02% GP:91.08%	<i>S. pneumoniae</i> , <i>Clostridium spp</i>
[38]	584	8 meses	Monomicrobiano (562) Polimicrobiano (22)	76% GN:40.03%, GP: 59.96%	76% GN:40.03 %, GP: 59.96%	<i>Streptococcus sp.</i> Muestras polimicrobianas

*ID: Identificación

Tabla 7.
Estudios de identificación microbiana a partir de subcultivos bacterianos utilizando EM-MALDI-TOF

Referencia	Número	Tiempo	Población	%ID especie	%ID género	Difícil ID
[39]	1278	4 semanas	Monomicrobiano (1254) Polimicrobiano (24)	95.1% GN:57.04% GP:41.07%	3 % GN:89.74% GP:10.25%	<i>S. pneumoniae</i> <i>P. acnes</i>
[40]	1660	4 meses	Monomicrobiano Polimicrobiano	84.1% GN: NP GP:NP	11.3% GN: NP GP:NP	<i>P. acnes</i> <i>S. pneumoniae</i> <i>S. maltophilia</i> , <i>Shigella</i> sp.
[41]	980	5 semanas	Monomicrobiano (919) Polimicrobiano(61)	92% GN:96.49% GP:90.61	98.8% GN:98.74% GP:99.53%	<i>S. pneumoniae</i> Bacterias anaerobias

*ID: Identificación

Tabla 8.
Discrepancias en Identificación Utilizando EM-MALDI-TOF

Referencia	Numero de muestras	% Identificación (No. muestras)	% Discrepancia (No. muestras)
[31]	85	87.05 (74)	12.94 (11)
[37]	532	89.66 (477)	10.34 (55)
[36]	507	74.75 (379)	25.24 (128)
[35]	101	78.21 (79)	21.78 (22)
[34]	500	86.8 (434)	13.2 (66)
[30]	122	78.68 (96)	21.31 (26)
[38]	240	75.41 (181)	24.58 (59)
[33]	388	87.37 (339)	12.62 (49)
[32]	212	76.41 (162) ^b	23.58 (50)
[39]	1278	98.12 (1254) ^a	1.8 (24)
[40]	1660	95.54 (1586) ^a	4.45 (74)
[41]	980	97.2 (953) ^a	2.8 (27)

a Resultado de subcultivo.

b Resultado de hemocultivo y botellas sembradas.

II. JUSTIFICACIÓN

Se alcanza una sobrevida de hasta 80% en la sepsis grave cuando se inicia un antibiótico adecuado durante la primera hora; sin embargo, la mortalidad alcanza un 90% si el antibiótico adecuado no se administra en las primeras 24 horas; de ahí la importancia de empezar un tratamiento antimicrobiano específico y dirigido, y para ello se requiere la documentación etiológica, lo cual se logra a través de hemocultivos. Desafortunadamente los hemocultivos resultan positivos en un 5% a 15% de los casos, y en muchas ocasiones estos presentan resultados falsos positivos (ej. *Staphylococcus* coagulasa negativos). Además, los hemocultivos pueden tardar mucho más (48-72 horas) en obtener un resultado de identificación definitivo, lo que hace imposible establecer un tratamiento específico en este periodo de tiempo. Por otro lado, iniciar una terapia antimicrobiana inadecuada conlleva a una elevada mortalidad. Adicional a ello, la mayoría de los pacientes con bacteriemia/sepsis tienen que iniciar un tratamiento antimicrobiano totalmente empírico. Por lo anterior hace falta documentar tempranamente la etiología de la bacteriemia/sepsis en pacientes pediátricos, y esto puede lograrse a través de la EM-MALDI-TOF, con la finalidad de empezar un tratamiento antimicrobiano oportuno y dirigido, disminuyendo de manera importante la mortalidad en los pacientes pediátricos y disminuyendo los elevados costos de atención. Además se pueden obtener resultados en 30 minutos a diferencia de las 48-72 horas que se obtienen con los hemocultivos tradicionales. También se detectan múltiples patógenos, no sólo bacterianos (incluyendo anaerobios), sino también agentes micóticos.

III. OBJETIVOS

a. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

En niños con sospecha de bacteriemia/sepsis:

1. Comparar la identificación del agente etiológico con la plataforma EM-MALDI-TOF contra el hemocultivo convencional.
2. Comparar el tiempo en que se logra la identificación del agente etiológico con la plataforma EM-MALDI-TOF contra el hemocultivo convencional.

IV. HIPÓTESIS

1. La identificación del agente etiológico con la plataforma EM-MALDI-TOF se logrará en el 40% de las muestras tomadas contra 15% con el hemocultivo convencional.
2. El tiempo en el cual se logrará la identificación del agente etiológico será en promedio 24 horas con la plataforma EM-MALDI-TOF contra 72 horas con el hemocultivo convencional.

V. CLASIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Es un estudio clínico, observacional, prospectivo, longitudinal y analítico.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

a. POBLACIÓN OBJETIVO

Pacientes pediátricos que cuenten con diagnóstico presuntivo de bacteriemia/sepsis.

b. POBLACIÓN ELEGIBLE

Pacientes pediátricos que ingresen al Instituto Nacional de Pediatría en el periodo del 1º de Agosto del 2013 al 31 de Enero del 2014.

c. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Pacientes pediátricos menores de 18 años hospitalizados en el INP.
- Ambos géneros.
- Pacientes a los que por indicación médica se requiera la toma de hemocultivo(s)

d. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Pacientes en los que no se haya procesado la muestra para EM-MALDI-TOF

e. UBICACIÓN DEL ESTUDIO

El Instituto Nacional de Pediatría es el sitio de estudio en el cuál se captaran a los sujetos participantes. En los diversos servicios clínicos se tomarán los hemocultivos a los pacientes que se consideren cuenten con bacteriemia/sepsis. En el laboratorio de bacteriología se procesaran los hemocultivos correspondientes y en el Laboratorio de Diagnóstico Molecular de Patógenos (Microbiología Molecular) se realizará todo el proceso correspondiente para la Espectrometría de Masa.

f. LOGISTICA GENERAL

1. Se realizará la captación de los pacientes con sospecha de bacteriemia/sepsis en los diferentes servicios y departamentos clínicos del INP.
2. Si el paciente cumple con los criterios de selección definidos en la sección correspondiente, se explicará el protocolo de estudio al padre, madre o tutor responsable del paciente invitándolo a participar en el estudio, autorizando y firmando la hoja de consentimiento/asentimiento informado (**Anexo 1**).
3. Se efectuará historia clínica, exploración física al paciente y se anotará la información en los formatos de captación de datos clínicos y epidemiológicos (**Anexo 2**), así como los hallazgos microbiológicos (**Anexo 3**).

g. DEFINICIONES OPERACIONALES

Término	Definición Operacional
Infección	Sospecha o comprobación clínica, paraclínica o microbiológicamente Examen clínico sugestivo Estudios paraclínicos sugestivos Cultivos positivos que lo sugieran
Bacteriemia clínica	Cambios de temperatura: Fiebre o hipotermia Escalofríos, piloerección Hiperventilación, polipnea Cambios cutáneos: Coloración “terrosa” o “marmórea”, embolias sépticas, ectima gangrenoso etc. Cambios en el estado de alerta
Síndrome de Respuesta inflamatoria Sistémica³	Fiebre (>38.5C) o Hipotermia (<36.0C) Taquicardia (> 2 DE para la edad) sin estímulos externos, fiebre, medicamentos o dolor. Taquicardia sin causa aparente por 30-40 minutos Para menores de 1 año: Bradicardia con FCM <10% para su edad. Bradicardia sin causa aparente >30 Polipnea (> 2 DE para la edad) Necesidad de VM (excluyendo problemas Neuromusculares, anestesia y medicamentos) Leucocitosis, Leucopenia (sin estar inducida por cirugía o trauma) o Bandemia >10%
Sepsis	SRIS en presencia de una infección clínica sospechada o comprobada Puede o no tener confirmación microbiológica
Sepsis Grave (Severa)	Sepsis más: Disfunción Cardiovascular SDRA (síndrome dificultad respiratoria aguda) 2 o más órganos con disfunción
Choque Séptico	Sepsis Asociada a disfunción orgánica cardiovascular que no responde únicamente al manejo con cristaloides

Falla Orgánica Múltiple*	<p>Cardiovascular: Disminución de la fracción de eyección, aumento de la permeabilidad capilar, arritmias, e hipotensión arterial.</p> <p>Respiratorio: Hipoxia que requiere VMA por al menos dos días, SDRA progresivo que requiere PEEP >10 o FiO₂>50% y disminución de la relación PaO₂/FiO₂.</p> <p>Hepático: Hiperbilirrubinemia, transaminasemia, ictericia, elevación de la FA, prolongación del tiempo de protrombina y disminución de la albumina sérica.</p> <p>Renal: Disminución en la diuresis, aumento en la creatinina sérica.</p> <p>Hematológico: Disminución en la cuenta plaquetaria, CID, elevación de la cuenta leucocitaria.</p> <p>Gastrointestinal: Íleo con intolerancia a la vía oral, úlcera por stress, colecistitis aguda alitiásica</p> <p>Neurológico: Alteración mental (disminución de Esc. Glasgow). Disminución en el estado de alerta hasta el coma.</p> <p>Metabólico: Hiperglucemia con requerimientos de insulina, alteración de hormonas tiroideas.</p> <p>* LOS DIFERENTES VALORES SE ADAPTARÁN DE ACUERDO A EDAD</p>
---------------------------------	---

§Parámetros y Constantes Vitales Utilizadas para el Diagnóstico Clínico de Sepsis

Grupo de edad	PA mmHg	Taquicardia lpm	Bradicardia lpm	Taquipnea rpm	Leucocitos X10 ³ /mm ³
Recién Nacido (0 días-1 sem)	<65	>180	<100	>50	>34
Neonato (1 sem-1 mes)	<75	>180	<100	>40	>19.5 / <5
actante (1 mes-1 año)	<100	>180	<90	>34	>17.5 / <5
Preescolar (2-5 años)	<94	>130	NA	>22	>15.5 / <6
Escolar (5-12 años)	<105	>180	NA	>18	>13.5/<4.5
Adolescente (13-18 años)	<117	>110	NA	>14	>11/<4.5
Joven >18 años	<120	>110	NA	>12	>10/<4.5

PA: Presión arterial, lpm (latidos por minuto), rpm (respiraciones por minuto)

h. VARIABLES DEL ESTUDIO

VARIABLE	TIPO	VALOR
1. Síndrome Clínico <ul style="list-style-type: none"> • Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica • Bacteriemia • Sepsis • Sepsis Grave • Choque Séptico • Falla orgánica múltiple 	Nominal	0 = SRIS 1 = Bnc. 2 = Sep 3 = SG 4 = CS 5 = FOM
2. Foco Infeccioso Clínicamente Evidente	Categórica	SI/NO
3. Sitio Infeccioso	Nominal	1. Neumonía (Neu) 2. Infección SNC (SNC) 3. Infección Intraabdominal (IIA) 4. Infección Urinaria (IVU) 5. Inf. Piel y Tej. Blandos (IPTB) 6. Inf. de Herida quirúrgica (HxQx) 7. Inf. Osteo-articular (IOA) 8. Infección Relacionada a Catéter (IRC) 9. Otras (O)
4. Edad	Ordinal	RN (<30 d) 1 a <3 meses ≥3 meses a <2 años ≥2 años a <5 años ≥5 años a <12 años ≥12 años a <18 años
5. Sexo	Categórica	Masculino (M)/Femenino (F)
6. Fiebre o Hipotermia	Categórica	SI/NO
7. Cuenta de Leucocitos	Numérica continua	cel/ (mm ³)
8. Polimorfonucleares (PMN)	Numérica continua	%
9. Bandas (Bd)	Numérica continua	%
10. Cuenta de Plaquetas (Pq)	Numérica continua	cel/ (mm ³)
11. Cultivo positivo para Microorganismo	Categórica	Positivo/Negativo
12. Identificación por EM-MALDI-TOF	Numérica discreta	Score Value
13. Tipo de Microorganismo	Nominal	Codificación especial de acuerdo al agente encontrado (género-especie)*

VII. ESTADISTICA Y ANALISIS ESTADISTICO

1. Cálculo del Tamaño de la Muestra.

Tomando en cuenta una proporción de aislamientos de .15 para el hemocultivo convencional y de S .4 con la plataforma EM-MALDI-TOF, un error α de .01 y un error β de .1

Utilizando la fórmula para proporciones, tenemos:

$$((2.57 + 1.28)^2 ((.15 * .85) + (.4 * .6))) / (.4 - .15)^2 = 87.156 \text{ (88 muestras)}$$

Debido a que los agentes patógenos varían de acuerdo al grupo de edad y para describir estos patógenos en 6 categorías, se necesitarían 528 muestras.

2. Análisis Estadístico.

Los datos demográficos y clínicos se resumirán con estadística descriptiva (mediana, mínimo y máximo para variables numéricas y frecuencias y porcentajes para las categóricas). Los aislamientos de patógenos con ambos métodos y para cada grupo de edad, se resumirán con frecuencias y porcentajes para cada microorganismo. Para comparar la frecuencia de aislamientos con ambos métodos se efectuará χ^2 de Pearson y para comparar el tiempo en que se logra la identificación del patógeno, mediante prueba de t de muestras independientes en caso de tener distribución normal o Wilcoxon de sumas y rangos en caso de no asumir la normalidad.

VIII. CONSIDERACIONES ÉTICAS

El estudio incluye la investigación en seres humanos por lo que las consideraciones éticas del estudio se encontrarán basadas por lo dispuesto en el Reglamento de la Ley General de Salud en materia de Investigación para la Salud y el Código Penal.

Ley General de Salud: Título V., artículo 100, fracciones I, II, III y IV, la investigación en seres humanos deberá adaptarse a los principios científicos y éticos que justifiquen la investigación, podrá efectuarse sólo cuando el conocimiento que se pretenda producir no pueda obtenerse por otro medio idóneo, podrá efectuarse sólo cuando exista una razonable seguridad de que no se expone a riesgos ni daños innecesarios al sujeto en experimentación y deberá contar con el consentimiento por escrito del sujeto en quien se realizará la investigación, o de su representante legal, una vez enterado de los objetivos de la experimentación y de las posibles consecuencias positivas o negativas para su salud (H. Congreso de la Unión 1984d). 30

Las consideraciones éticas del estudio en torno al Reglamento de la Ley General de Salud se encontrarán basadas por lo dispuesto en el Título Segundo del Capítulo I, artículo 13, del Reglamento de la Ley General de Salud en materia de Investigación para la Salud, en donde se establece que toda investigación en la que el ser humano sea sujeto de estudio, deberán prevalecer el criterio del respeto a su dignidad y la protección de sus derechos y bienestar (H. Congreso de la Unión 1984b). De acuerdo a lo establecido en el artículo 17 del Título Segundo del Capítulo I, el estudio se considera como una investigación con riesgo mínimo en donde se incluyen aquellos estudios prospectivos que emplean el riesgo de datos a través de procedimientos comunes en exámenes físicos o psicológicos de diagnósticos o

tratamiento rutinarios (H. Congreso de la Unión 1984a), entre los que se consideran la extracción de sangre por punción venosa en adultos en buen estado de salud.

Por otro lado, a todos los sujetos se les informará verbalmente de los procedimientos a realizar y se solicitará su consentimiento por escrito para su participación en el estudio guardando su confidencialidad y aprobación para reportar los resultados. El consentimiento informado estuvo basado por lo dispuesto en Título Segundo del Capítulo I, artículos 20, 21 y 22, del Reglamento de la Ley General de Salud en materia de Investigación para la Salud que estipulan el contenido del consentimiento informado así como las disposiciones relacionadas a los sujetos que lo deberán firmar (H. Congreso de la Unión 1984).

Las consideraciones éticas del estudio en torno al Código Penal estarán basadas por lo dispuesto en el Capítulo Único del Título Noveno del Código Penal, artículos 210, 211 y 211-bis, en donde se penalizará al que sin justa causa, con perjuicio de alguien y sin consentimiento del que pueda resultar perjudicado, revele algún secreto o comunicación reservada que conoce o ha recibido con motivo de su empleo, cargo o puesto; cuando la revelación punible sea hecha por personas que prestan servicios profesionales o técnicos; y cuando se revelen, divulguen o utilicen indebidamente o en perjuicio de otro, información o imágenes obtenidas en una intervención de comunicación privada (H. Congreso de la Unión 1931).

IX. FINANCIAMIENTO Y CONVENIO

La compañía Becton-Dickinson pagará en especie a través de la aportación en forma de comodato la plataforma EM-MALDI-TOF, así como la plataforma para la incubación y monitorización de los hemocultivos. Además aportará todos los reactivos necesarios para la toma de hemocultivos, frascos de hemocultivos y en su totalidad de los reactivos necesarios en el laboratorio. No hay ningún compromiso legal ni moral por parte del Instituto Nacional de Pediatría de adquirir estas plataformas al término del estudio. En caso de ser aceptado por los comités de investigación y de ética, se procederá a firmar un convenio entre ambas partes.

X. CONFIDENCIALIDAD

Debido a que el presente protocolo es idea original del investigador responsable, se considera propiedad intelectual del Dr. Agustín de Colsa Ranero, y no de la empresa que financia dicho proyecto. La información contenida en este documento es estrictamente confidencial y queda prohibida su reproducción total o parcial de lo aquí expuesto sin el conocimiento y consentimiento del autor. Dicho protocolo sólo podrá llevarse a cabo bajo la aceptación y consentimiento de los respectivos Comités de Investigación y Ética del Instituto Nacional de Pediatría.

XI. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

DETECCIÓN ETIOLÓGICA TEMPRANA DE BACTERIEMIA Y SEPSIS EN PACIENTES PEDIÁTRICOS A TRAVÉS DE ESPECTROFOTOMETRÍA DE MASA MALDI-TOF																								
Mes/actividad	2013												2014											
	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic
Elaboración de protocolo			■	■	■																			
Acuerdo de confidencialidad						■																		
Presentar protocolo						■																		
Revisión de protocolo con sponsor						■																		
Corrección de Protocolo						■																		
Versión final del Protocolo						■																		
Presupuesto del Investigación/Centro						■	■																	
Aceptación del presupuesto						■	■																	
Someter a Comité de Ética e Investigación						■	■																	
Aprobación del Comité						■	■																	
Impresión del material						■	■																	
Entrenamiento del equipo de trabajo						■	■																	
Preparación del sitio de investigación						■	■																	
Inicio del estudio								■																
Duración del estudio								■	■	■	■	■	■											
Final del estudio													■											
Análisis de muestras								■	■	■	■	■	■											
Análisis de resultados								■	■	■	■	■	■											
Resultados preliminares									■					■										
Documento final														■										
Someter a publicación															■	■	■	■						
Publicaciones																■	■	■	■					

XII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Ford-Jones EL, Mindorf CM, Langley JM, et al. Epidemiologic study of 4684 hospital-acquired infections in pediatric patients. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **1989**; 8:668–675.
2. Horan TC, Andrus M, Dudeck MA. CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *Am. J. Infect. Control* **2008**; 36:309–332.
3. Bryan CS, Reynolds KL, Derrick CW Jr. Patterns of bacteremia in pediatrics practice: factors affecting mortality rates. *Pediatr. Infect. Dis.* **1984**; 3:312–316.
4. De Colsa RA, Camacho MG. Bacteriemia Nosocomial. In: González Saldaña N, Castañeda NJL, Hernández OH, eds. Guía para el control de las infecciones nosocomiales en hospitales pediátricos. México D.F.: Editorial Prado, 2009.
5. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, et al. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock, 2012. *Intensive Care Med.* **2013**; 39:165–228.
6. CDC. Definition of HAI and criteria for specific types of infections. 2011;
7. Digiovine B, Chenoweth C, Watts C, Higgins M. The attributable mortality and costs of primary nosocomial bloodstream infections in the intensive care unit. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **1999**; 160:976–981.
8. Raymond J, Aujard Y. Nosocomial infections in pediatric patients: a European, multicenter prospective study. European Study Group. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* **2000**; 21:260–263.
9. Nadel S. Severe pediatric sepsis. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* **2012**; 10:111–114.
10. Riley C, Wheeler DS. Prevention of sepsis in children: a new paradigm for public policy. *Crit. Care Res. Pr.* **2012**; 2012:437139.
11. Van der Kooi TII, Manniën J, Wille JC, van Benthem BHB. Prevalence of nosocomial infections in The Netherlands, 2007-2008: results of the first four national studies. *J. Hosp. Infect.* **2010**; 75:168–172.
12. Macias AE, Huertas M, de Leon SP, et al. Contamination of intravenous fluids: a continuing cause of hospital bacteremia. *Am. J. Infect. Control* **2010**; 38:217–221.
13. Elward AM, Fraser VJ. Risk factors for nosocomial primary bloodstream infection in pediatric intensive care unit patients: a 2-year prospective cohort study. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* **2006**; 27:553–560.
14. Prabhu K, Bhat S, Rao S. Bacteriologic profile and antibiogram of blood culture isolates in a pediatric care unit. *J. Lab. Physicians* **2010**; 2:85–88.

15. Rosenthal VD, Bijie H, Maki DG, et al. International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC) report, data summary of 36 countries, for 2004-2009. *Am. J. Infect. Control* **2012**; 40:396-407.
16. Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin. Infect. Dis.* **2004**; 39:309-317.
17. Magadia RR, Weinstein MP. Laboratory diagnosis of bacteremia and fungemia. *Infect. Dis. Clin. North Am.* **2001**; 15:1009-1024.
18. Riedel S, Carroll KC. Blood cultures: key elements for best practices and future directions. *J. Infect. Chemother.* **2010**; 16:301-316.
19. Marra AR, Camargo LFA, Pignatari ACC, et al. Nosocomial bloodstream infections in Brazilian hospitals: analysis of 2,563 cases from a prospective nationwide surveillance study. *J. Clin. Microbiol.* **2011**; 49:1866-1871.
20. Marco F, Sancho S. El Hemocultivo. In: *Microbiología Aplicada al Paciente Crítico*. Madrid, España: Editorial Panamericana, 2007: 69-84.
21. Tenover FC. Potential impact of rapid diagnostic tests on improving antimicrobial use. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2010**; 1213:70-80.
22. Hansen WLJ, Beuving J, Verbon A, Wolffs PFG. One-day workflow scheme for bacterial pathogen detection and antimicrobial resistance testing from blood cultures. *J. Vis. Exp. Jove* **2012**; 42:234-239
23. Pletz MW, Wellinghausen N, Welte T. Will polymerase chain reaction (PCR)-based diagnostics improve outcome in septic patients? A clinical view. *Intensive Care Med.* **2011**; 37:1069-1076.
24. Klouche M, Schröder U. Rapid methods for diagnosis of bloodstream infections. *Clin. Chem. Lab. Med.* **2008**; 46:888-908.
25. Ecker DJ, Sampath R, Li H, et al. New technology for rapid molecular diagnosis of bloodstream infections. *Expert Rev. Mol. Diagn.* **2010**; 10:399-415.
26. Van Baar BL. Characterisation of bacteria by matrix-assisted laser desorption/ionisation and electrospray mass spectrometry. *Fems Microbiol. Rev.* **2000**; 24:193-219.
27. Carbonnelle E, Grohs P, Jacquier H, et al. Robustness of two MALDI-TOF mass spectrometry systems for bacterial identification. *J. Microbiol. Methods* **2012**; 89:133-136.
28. Suckau D, Resemann A, Schuereberg M, Hufnagel P, Franzen J, Holle A. A novel MALDI LIFT-TOF/TOF mass spectrometer for proteomics. *Anal. Bioanal. Chem.* **2003**; 376:952-965.
29. Nassif X. A revolution in the identification of pathogens in clinical laboratories. *Clin. Infect. Dis.* **2009**; 49:552-553.

30. Prod'hom G, Bizzini A, Durussel C, Bille J, Greub G. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for direct bacterial identification from positive blood culture pellets. *J. Clin. Microbiol.* **2010**; 48:1481–1483.
31. Juiz PM, Almela M, Melción C, et al. A comparative study of two different methods of sample preparation for positive blood cultures for the rapid identification of bacteria using MALDI-TOF MS. *J. Clin. Microbiol.* **2012**; 31:1353–1358.
32. Stevenson LG, Drake SK, Shea YR, Zelazny AM, Murray PR. Evaluation of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for identification of clinically important yeast species. *J. Clin. Microbiol.* **2010**; 48:3482–3486.
33. Ferroni A, Suarez S, Beretti J-L, et al. Real-time identification of bacteria and *Candida* species in positive blood culture broths by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J. Clin. Microbiol.* **2010**; 48:1542–1548.
34. Schubert S, Weinert K, Wagner C, et al. Novel, improved sample preparation for rapid, direct identification from positive blood cultures using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometry. *J. Mol. Diagn.* **2011**; 13:701–706.
35. Loonen AJM, Jansz AR, Stalpers J, Wolffs PFG, van den Brule AJC. An evaluation of three processing methods and the effect of reduced culture times for faster direct identification of pathogens from BacT/ALERT blood cultures by MALDI-TOF MS. *Clin. Microbiol.* **2012**; 31:1575–1583.
36. Kok J, Thomas LC, Olma T, Chen SCA, Iredell JR. Identification of bacteria in blood culture broths using matrix-assisted laser desorption-ionization Sepsityper™ and time of flight mass spectrometry. *Plos One* **2011**; 6:e23285.
37. Moussaoui W, Jaulhac B, Hoffmann A-M, et al. Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry identifies 90% of bacteria directly from blood culture vials. *J. Infect. Dis.* **2010**; 16:1631–1638.
38. La Scola B, Raoult D. Direct identification of bacteria in positive blood culture bottles by matrix-assisted laser desorption ionisation time-of-flight mass spectrometry. *Plos One* **2009**; 4:e8041.
39. Bizzini A, Durussel C, Bille J, Greub G, Prod'hom G. Performance of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for identification of bacterial strains routinely isolated in a clinical microbiology laboratory. *J. Clin. Microbiol.* **2010**; 48:1549–1554.
40. Seng P, Drancourt M, Gouriet F, et al. Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clin. Infect. Dis.* **2009**; 49:543–551.
41. Van Veen SQ, Claas ECJ, Kuijper EJ. High-throughput identification of bacteria and yeast by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry in conventional medical microbiology laboratories. *J. Clin. Microbiol.* **2010**; 48:900–907.

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

**Detección Etiológica Temprana de Bacteriemia y Sepsis en Pacientes
Pediátricos a través de Espectrometría de Masa MALDI-TOF.**

Se le invita a usted para que su hijo participe en un estudio de investigación. Es necesario que usted (y su hijo) decidan si participará o no en el estudio. Lea cuidadosamente este formato y pregunte al médico del estudio cualquier duda al respecto.

¿Para qué se efectúa este estudio?

En su hijo se ha sospechado que pudiera tener una infección en la sangre que se conoce como septicemia. Estas infecciones son muy graves por lo que se requiere encontrar el microbio causante de la misma en forma temprana y así dar el tratamiento apropiado. Para hacerlo su médico ha indicado tomarle a su hijo uno o más cultivos de la sangre que se llaman hemocultivos. El objetivo de ese estudio es tomar además una muestra de la sangre para analizarla con una técnica novedosa que se llama EM-MALDI-TOF y que se ha visto que permite encontrar el microbio más frecuentemente y más rápido que con el hemocultivo habitual.

¿Quiénes pueden participar en el estudio?

Todos los niños en quienes se le sospeche septicemia y que su médico indique tomar hemocultivo.

¿Quiénes no pueden participar en el estudio?

Los niños en los que no se tome la muestra adicional para analizarla.

¿Qué se me pedirá (se le pedirá a su hijo) que haga?

Cuando se le tome a su hijo la muestra de sangre, se tomará una cantidad adicional de sangre que equivale a media cucharadita en recién nacidos, una cucharadita en niños mayores y 2 cucharaditas en adolescentes.

¿Qué beneficio puedo (mi hijo puede) esperar?

Se puede lograr la identificación del microbio más frecuentemente y rápidamente que con el hemocultivo tradicional. Podría suceder que no se logre identificar el microbio.

¿Qué efectos indeseables pueden pasarme (pasarle a mi hijo) al participar en el estudio?

La toma de sangre puede causarle dolor y a veces un moretón. En caso de presentarlo, su médico indicará las medidas para disminuir la molestia.

¿A quién debo llamar en caso de tener preguntas?

Si tiene cualquier duda o inquietud puede comunicarse con la Dr. Agustín de Colsa al 04455-4356-0685. Si tiene alguna duda con respecto a los derechos del niño como paciente del Instituto, puede comunicarse con la Presidente del Comité de Ética del Instituto Nacional de Pediatría, Dra. Matilde Ruiz García al teléfono 10840900 extensión 1581.

¿Quién pagará el costo del tratamiento?

Este estudio no le generará ningún gasto extra. Los exámenes de laboratorio que le practica su médico para el control de su enfermedad y los gastos de la hospitalización, continuarán siendo pagados por el paciente.

¿Puedo negarme (mi hijo puede negarse) a participar en este estudio y se me puede pedir (pedirle a mi hijo) que abandone el estudio?

La participación es voluntaria. Usted y su hijo pueden negarse a participar y continuará recibiendo la atención de sus médicos. Usted podrá decidir en cualquier momento si quiere que su hijo permanezca el estudio o quiere abandonarlo.

¿Quiénes van tener información de mis datos (de mi hijo)?

Todos los datos recabados en éste estudio son confidenciales y por ningún motivo serán compartidos con otras personas a excepción de su médico tratante. Sólo los investigadores tendrán acceso a la información y los resultados serán publicados en revistas médicas sin que aparezca el nombre de su hijo.

¿Qué se va a hacer con las muestras biológicas?

Todos los resultados quedarán en el expediente clínico y serán utilizados de forma confidencial, no se compartirán con ninguna persona fuera del estudio y de su médico. Después de que se realicen los exámenes de laboratorio, las muestras de sangre serán destruidas.

¿Puedo conocer los resultados del estudio?

A su médico se le proporcionarán los resultados del estudio, quien le informará del estado de su hijo.

Al firmar a continuación, acepto que:

- He leído y entendido toda la información proporcionada en éste formato de consentimiento.
- He tenido la oportunidad de formular preguntas y éstas han sido contestadas.
- Entiendo que la participación de mi hijo(a) es voluntaria.
- Acepto que mi hijo(a) participe en el estudio
- Puedo elegir que mi hijo(a) no participe en el estudio o que lo abandone en cualquier momento, comunicándolo al Doctor del estudio.

_____	_____
Nombre del paciente	Fecha
_____	_____
Nombre y firma del padre o Tutor	Fecha
_____	_____
Nombre y firma de la madre o Tutor	Fecha
_____	_____
Nombre, firma y dirección de un Testigo	Fecha

Relación que tiene con el voluntario	
_____	_____
Nombre, firma y dirección de un Testigo	Fecha

Relación que tiene con el voluntario	
_____	_____
Nombre y firma de quien conduce la revisión del Consentimiento	Fecha

Recibí copia de este consentimiento	
_____	_____
Nombre y firma	Fecha

Hoja 1 de 2

CARTA DE ASENTIMIENTO INFORMADO

**Detección Etiológica Temprana de Bacteriemia y Sepsis en Pacientes
Pediátricos a través de Espectrometría de Masa MALDI-TOF.**

Se te invita a participar en un estudio de investigación. Es necesario decidas si participas o no en el estudio. Lee cuidadosamente este formato y pregunta al médico del estudio cualquier duda al respecto.

¿Para qué se efectúa este estudio?

Tu médico ha sospechado que pudieras tener una infección en la sangre que se conoce como septicemia. Estas infecciones son graves por lo que se requiere encontrar el microbio causante de la misma en forma temprana y así dar el tratamiento apropiado. Para hacerlo tu médico ha indicado tomarte uno o más cultivos de la sangre que se llaman hemocultivos. El objetivo de ese estudio es tomar además una muestra de la sangre para analizarla con una técnica novedosa que se llama EM-MALDI-TOF y que se ha visto que permite encontrar el microbio más frecuentemente y más rápido que con el hemocultivo habitual.

¿Qué se me pedirá que haga?

Cuando se te tome la muestra de sangre, se tomará una cantidad adicional de sangre que equivale a 1 a 2 cucharaditas de acuerdo a la edad que tengas.

¿Qué beneficio puedo esperar?

Se puede lograr la identificación del microbio más frecuentemente y rápidamente que con el hemocultivo tradicional. Podría suceder que no se logre identificar el microbio.

¿Qué molestias puedo tener al participar en el estudio?

La toma de sangre puede causarte dolor y a veces un moretón. En caso de que lo tengas, tu médico indicará las medidas para disminuir la molestia.

¿A quién debo llamar en caso de tener preguntas?

Si tienes cualquier duda o inquietud puedes comunicarte con la Dr. Agustín de Colso al 04455-4356-0685. Si tienes dudas con respecto a los derechos que tienes como paciente del Instituto Nacional de Pediatría, comunicarte con la Dra. Matilde Ruiz García al teléfono 10840900 extensión 1581.

¿Quién pagará el costo del tratamiento?

Este estudio no le generará ningún gasto extra a tu familia. Los exámenes de laboratorio que te practica tu médico para el control de su enfermedad y los gastos de la hospitalización, continuarán siendo pagados por la familia del paciente.

Hoja 2 de 2

¿Puedo negarme a participar en este estudio.

La participación es voluntaria. Puedes negarte a participar y continuará recibiendo la atención de sus médicos.

¿Qué se va a hacer con la sangre y los resultados?

Todos los resultados quedarán en el expediente clínico. Después de que se realicen los exámenes de laboratorio, las muestras de sangre serán destruidas.

Al firmar a continuación, acepto que:

- He leído y entendido toda la información proporcionada en éste formato de consentimiento.
- He tenido la oportunidad de formular preguntas y éstas han sido contestadas.
- Mi participación es voluntaria y acepto participar en el estudio

Nombre y firma del paciente

Fecha

Nombre, firma y dirección de un Testigo

Fecha

Relación que tiene con el voluntario _____

Nombre, firma y dirección de un Testigo

Fecha

Dirección

Relación que tiene con el voluntario _____

Nombre y firma de quien conduce la revisión del Consentimiento Fecha

Recibí copia de este consentimiento

Nombre y firma

Fecha

ANEXO 2

HOJA DE RECOLECCION DE DATOS

DETECCIÓN ETIOLÓGICA TEMPRANA DE BACTERIEMIA Y SEPSIS EN PACIENTES PEDIÁTRICOS A TRAVÉS DE EM- MALDI-TOF

Información Clínica			
Iniciales del paciente:	Exp:	Sexo:	No. Consecutivo
Fecha de nacimiento: dd/mm/aa	Edad:	Grupo de Edad:	
Fecha de Ingreso: dd/mm/aa	Servicio:		
Síndrome Clínico:	Fiebre () / Hipotermia ()	Sitio Infeccioso Evidente: () Especificar:	
Observaciones:			
Leucocitos:	PMN: Bandas:	Plaquetas:	
Información Microbiológica			
Microorganismo aislado:		No. Identificación HC:	
Fecha de Hemocultivo:		Sitio de HC:	

