

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE MEDICINA



PROYECTO DE TESIS

EVALUACIÓN DE LA EFICACIA EN LA IMPLEMENTACIÓN DE LA ESPECTROMETRÍA DE MASAS PARA EL DIAGNÓSTICO Y MANEJO DE LA SEPSIS


Por: Dr. Alfonso Ramos Coronado

Como requisito parcial para obtener el Grado de especialista en
Patología Clínica


DICIEMBRE/2021

EVALUACIÓN DE LA EFICACIA EN LA IMPLEMENTACIÓN DE LA ESPECTROMETRÍA DE MASAS PARA EL DIAGNÓSTICO Y MANEJO DE LA SEPSIS

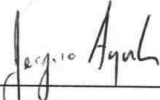
Aprobación de la tesis



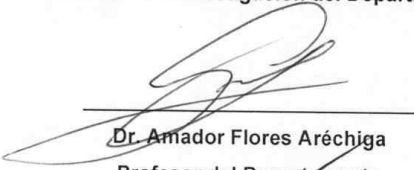
Dr. Erik Alejandro Díaz Chuc
Director de la tesis




Dr. Erik Alejandro Díaz Chuc
Coordinador de Enseñanza de Postgrado del Departamento



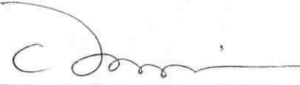
Dr. Sergio Ayala de la Cruz
Coordinador de Investigación del Departamento



Dr. Amador Flores Aréchiga
Profesor del Departamento



Dr. Jorge Martín Llaca Díaz
Jefe del Departamento



Dr. Med. Felipe Arturo Morales Martínez
Subdirector de Estudios de Posgrado

Adscripción de Investigadores

Departamento de Patología Clínica, Hospital Universitario “Dr. José E. González”,
Universidad Autónoma de Nuevo León. Av. Francisco I. Madero Pte. s/n y Av.
Gonzalitos, Col. Mitras Centro, C. P. 64460, Monterrey, N.L., México.

Agradecimientos:

El presente es todo lo que tenemos, por eso quiero hacer una manifestación de gratitud hacia Dios y al mismo tiempo a mi familia por el apoyo incondicional, como es adentro es afuera me han enseñado, que el esfuerzo interior se reflejará en el mundo exterior; Así mismo quiero agradecer a todos los maestros que me han guiado a través del camino del saber y del ser, porque de ningún provecho es el conocimiento si no se aplica para el progreso de la humanidad. Este trabajo está dedicado a todos aquellos que han contribuido al cúmulo de conocimientos que vienen desde los más altos menesteres del pensamiento, ha sido un honor colaborar con aquellos que con humildad y esfuerzo se han dedicado a adquirirlo y así mismo tienen la voluntad y convicción para compartirlo.

Dr. Alfonso Ramos Coronado

Experiencia del grupo de trabajo

Dr. Jorge Martín Llaca. Díaz

Maestría en Salud Pública por la Universidad Autónoma de Nuevo León. Jefe del Departamento de Patología Clínica del Hospital Universitario y Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

Dr. Fernando Pérez Chávez Médico Cirujano y Partero Universidad Autónoma de Nuevo León, Especialidad en Medicina Interna y Especialidad en Hematología Clínica.

Dr. Rogelio Cázares Tamez

Médico Cirujano y Partero, Facultad de Medicina, UANL; Especialidad en Patología Clínica, Facultad de Medicina y Hospital Universitario "Dr. José E. González"; Sub-especialidad en Inmunohematología y Banco de Sangre, C. M. N. IMSS. Profesor de la Facultad de Medicina de la UANL. Director Médico de Bioanálisis y Servicios Hematológicos S. A. de C. V. Personal profesional altamente capacitado en el diseño y desarrollo de proyectos de investigación. Líneas de investigación en Patología Clínica, Hematología, Inmunohematología y Medicina Transfusional.

Dr. Erik Alejandro Díaz Chuc

Médico Cirujano, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Campeche. Especialidad en Patología Clínica, Facultad de Medicina y Hospital Universitario "Dr. José E. González", UANL. Jefe del Banco de Sangre del Hospital Universitario "Dr. José E. González". Personal profesional altamente capacitado en el diseño y desarrollo de protocolos de investigación. Experto en evaluación e interpretación de pruebas inmunohematológicas. Líneas de investigación en Patología Clínica, con énfasis en Inmunohematología y Medicina Transfusional.

Dr. Sergio Ayala De La Cruz

Médico Cirujano y Partero, Facultad de Medicina y Ciencias Biomédicas, Universidad Autónoma de Chihuahua. Especialidad en Patología Clínica, Facultad de Medicina y Hospital Universitario "Dr. José E. González", UANL. Personal profesional con experiencia en evaluación e interpretación de pruebas de laboratorio clínico.

Q.C.B. Lorena Salazar Cavazos

Químico Clínico Biólogo, Universidad Autónoma de Nuevo León 1994, responsable del Área de Bacteriología del Departamento de Patología Clínica, Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González, Junio 2017 a la fecha con funciones docentes, de asistencia e investigación. Amplia experiencia y extensa capacitación en el uso del sistema MALDI Biotyper, Manejo de guías internacionales para el reporte de Antibiogramas y Métodos para la identificación de la resistencia Bacteriana con base a los criterios del CLSI.

Q.C.B. Eduardo Cienfuegos Pecina

Químico Clínico Biólogo, Facultad de Medicina, UANL. Personal profesional altamente capacitado en el diseño y desarrollo de proyectos de investigación, evaluación e interpretación de biomarcadores y análisis estadístico. Líneas de investigación en Hepatología y Nefrología Básica y Clínica.

M.C Hugo Sánchez Alanís

Químico Clínico Biólogo, Universidad Autónoma de Nuevo León 2013. Maestría en Ciencias con orientación en Microbiología, UANL 2018. Experiencia profesional como profesor de prácticas de la asignatura de Microbiología Médica Diagnóstica en el departamento de Patología Clínica UANL 2018. Químico Analista en el laboratorio de bacteriología del departamento de Patología Clínica del Hospital Universitario José Eleuterio González, 2013 a la fecha.

T.L.C. Marco Antonio Solís Martínez

Técnico en Laboratorio clínico egresado de la Escuela y Preparatoria Técnica Médica de la Universidad Autónoma de Nuevo León, con conocimiento en la realización de bases de datos y además apoyar en proyectos de investigación para maestría, también cuenta con 5 años de experiencia en el área de Banco de sangre en área técnica, administrativa y de procesos.

Dr. Alfonso Ramos Coronado

Médico Cirujano, Facultad de Medicina Universidad Autónoma de Guadalajara, Residente de tercer año de la especialidad de Patología Clínica, Hospital Universitario “Dr. José E. González”, Universidad Autónoma de Nuevo León.

TABLA DE CONTENIDOS

INTRODUCCION	7
JUSTIFICACIÓN	8
Objetivo Primario.....	9
Objetivos Secundarios.....	9
HIPÓTESIS DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN.....	9

MARCO TEÓRICO	9
Definiciones y Antecedentes	9
Retos en el abordaje del paciente séptico	10
Descripción técnica de la metodología de espectrometría de masas	11
Tiempo de respuesta intralaboratorio	12
Dimensionando la magnitud de la sepsis en el desarrollo social y económico.....	12
Impacto generado en la mortalidad por una adecuada antibioticoterapia.	13
El Hemocultivo como método de detección.....	14
Utilidades y Limitaciones de MALDI-TOF	14
MATERIAL Y MÉTODOS	15
Población y diseño del estudio.....	15
Descripción de protocolos de Identificación.....	16
Cálculo de la muestra.....	16
Criterios de inclusión	17
Criterios de exclusión	17
Análisis Estadístico:	18
RESULTADOS	18
DISCUSIÓN	28
Limitaciones del estudio	30
CONCLUSIONES.....	30
Consideraciones éticas	31
Protección de la confidencialidad	31
Bioseguridad	32
Infraestructura y recursos	32
Financiamiento y factibilidad	32
CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES REALIZADAS.....	32
BIBLIOGRAFIA.....	33

INTRODUCCION

La globalización y la economía de escala influenciadas por las políticas macroeconómicas internacionales, el crecimiento demográfico en constante aumento y el aumento en la demanda de servicios de salud que satisfaga las necesidades globales, ha llevado hacia una tendencia de las grandes compañías farmacéuticas e

industriales de salud, a invertir enormes cantidades de recursos para crear y desarrollar nuevas tecnologías que hagan estos servicios más eficientes por medio de la automatización de sus procesos, la exclusión de la intervención humana por medio de la robotización, el desarrollo de innovadores sistemas de inteligencia artificial y el análisis de datos.

La rama diagnóstica en salud, con el uso de estas tecnologías ha sufrido una aceleración que viene gestándose desde el inicio del nuevo milenio y que va de la mano con la capacidad de cómputo la cual tiene una tendencia a la duplicación anual de la capacidad de los procesadores para gestionar la información y a la vez estos procesadores disminuyen en tamaño, pero aumentan en capacidad de procesamiento de datos. Resulta relevante mencionar que la tendencia del laboratorio clínico hacia la miniaturización, la automatización y la exclusión del operador en algunos de los procesos que en el pasado se realizaban manualmente, lo dejan con un área de oportunidad para desarrollar tareas que conlleven una más especializada preparación académica y de esta manera el desarrollo de habilidades en directa correlación con el razonamiento científico y el análisis de datos.

Resulta evidente que estas tecnologías están cambiando el mundo para adaptarlo a la nueva demanda demográfica, especialmente posterior a una crisis global catalogada como pandemia que inició en febrero del año 2020 donde el nuevo Coronavirus SARS-CoV2 llegó para quedarse. Existen nuevas mega tendencias relacionadas con los diversos sectores de la actividad económica mundial donde las tres fuerzas que promueven estos cambios son la globalización, los cambios demográficos y la tecnología. La mega tendencia de la biotecnología donde se ven implicados específicamente la bioquímica clínica y la medicina proteómica resulta de vital importancia en el análisis estructural de la composición proteica de una sustancia para el diagnóstico, el tratamiento, la investigación y la industria.

Evidentemente la metodología para la identificación de microorganismos ha sufrido grandes cambios en el último siglo, tal es el caso de la técnica de espectrometría de masas por MALDI-TOF por sus siglas en inglés (Matrix Assisted Laser De-ionization Time Of Flight) es una metodología vanguardista que ha causado una revolución en el diagnóstico microbiológico, sin embargo existe un desafío que enfrentan los clínicos en relación al manejo del paciente con signos de infección del torrente sanguíneo y este radica en la velocidad de detección que se requiere para instaurar un tratamiento oportuno o retirarlo. Por esta razón es de suma importancia tanto para el laboratorio como para el paciente, tener un corto tiempo de respuesta intralaboratorio, con una metodología eficiente y a un costo accesible.

JUSTIFICACIÓN

Existe evidencia que respalda el costo beneficio que existe en la implementación de MALDI-TOF en comparación con los métodos tradicionales de detección microbiológica y los métodos automatizados utilizados individualmente, sin embargo en el Hospital

Universitario no existen registros de que estos datos respaldan la información consultada, por ende el presente proyecto pretende dar respuesta a la siguiente pregunta ¿La implementación de un espectrómetro de masas para la identificación microbiológica realmente reduce el tiempo de respuesta intralaboratorio del laboratorio en el Hospital Universitario?

Objetivo Primario

1. Comparar tiempos de respuesta intra-laboratorio previo y posterior a la implementación del espectrómetro de masas MALDI-TOF.

Objetivos Secundarios

1. Determinar tiempos de detección y crecimiento de los diferentes microorganismos implicados en la sepsis.

HIPÓTESIS DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

Añadir la identificación microbiana por medio del uso de un espectrómetro de masas comparado con los métodos de detección microbiana tradicionales y automatizados utilizados individualmente, reduce el tiempo de respuesta intralaboratorio, el tiempo de detección y costo de operación del laboratorio en relación con el paciente internado en el hospital Universitario.

Lugar de desarrollo del proyecto: El proyecto se ha llevado a cabo en el Departamento de bacteriología del Laboratorio Central del Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González, UANL.

Tiempo de desarrollo del proyecto: 8 meses

MARCO TEÓRICO

Definiciones y Antecedentes

La identificación bacteriana ha sido rutinaria e históricamente basada en pruebas fenotípicas que incluyen la tinción de Gram, las características de crecimiento y el patrón bioquímico. Sin embargo, algunas de estas pruebas requieren de horas o días para la completa identificación de los microorganismos. Esos métodos convencionales que consumen tiempo pudieran perjudicar en lo que respecta al inicio del tratamiento antibiótico o de soporte. La rápida y precisa identificación, por ende, es primordial en el compromiso del clínico respecto al cuidado de los pacientes con enfermedades infecciosas.¹²

La definición de Sepsis actualmente se orienta hacia un trastorno orgánico de alta mortalidad causado por una desregulación de la respuesta sistémica del huésped con una infección, teniendo una progresividad hasta llegar al choque séptico que es una entidad conjunta a la sepsis la cual incluye trastornos circulatorios, celulares y metabólicos los cuales se asocian con una mortalidad del 40-70%. El shock séptico es la causa número uno que encabeza la lista de las enfermedades mortales en la unidad de cuidados intensivos moderna.¹

La sepsis hoy en día es reconocida por involucrar la temprana activación de factores pro y antiinflamatorios habiendo alteraciones significativas en las vías señaladoras no inmunológicas tales como la cardiovascular, neuronal, vía autonómica, vía hormonal, bioenergética, de coagulación y metabólica. Se reconoce a la sepsis como un síndrome moldeado por factores patógenos, así como factores propios del huésped, estos factores como lo son sexo, raza, edad, comorbilidades sumadas a los que provee el medio ambiente, comparten características que van evolucionando a través del tiempo. El distintivo de la sepsis con una infección común es la forma en que reaccionan estos sistemas orgánicos y el desencadenamiento de una disfunción generalizada, sin embargo, esta disfunción orgánica del huésped puede permanecer oculta por lo que su presencia debe ser considerada en los pacientes que se presentan con una infección. Así mismo, una enfermedad aguda preexistente puede llegar a modificar este fenotipo clínico, así mismo las comorbilidades de larga evolución, medicaciones o intervenciones juegan un papel importante. También existen infecciones específicas localizadas que pueden causar disfunción orgánica localizada, no necesariamente induciendo una respuesta desregulada sistémica del huésped.¹⁸

Retos en el abordaje del paciente séptico

La detección del agente patógeno causante de esta condición progresivamente mortal para el huésped resulta primordial ya que la introducción de metodologías como la espectrometría de masas en conjunto con las técnicas tradicionales de detección microbiológica y las plataformas automatizadas proporcionan ventaja respecto al mejoramiento en el tiempo de optimización del tratamiento cuando el objetivo es el inicio de una terapia antimicrobiana óptima.⁵

Resaltando la importancia de la existencia de un balance entre los beneficios clínicos de esta nueva tecnología, uno de los principales desafíos en la actualidad es medir los costes y ahorros que ésta pueda generar para el sistema de salud ya sea público o privado, toma una vital importancia analizar la eficacia de la implementación de nuevas metodologías de detección microbiana.¹

Tal es el caso de la técnica de Espectrometría de masas MALDI-TOF para identificación microbiana, la identificación basada en espectro peptídico que fue propuesta hace más de treinta años y ha venido evolucionando y haciendo sinergia con nuevas tecnologías a través del tiempo.¹²

Descripción técnica de la metodología de espectrometría de masas

Espectrometría de masas es una técnica que sirve para determinar la estructura de las moléculas en una sustancia orgánica o inorgánica, así mismo permite estudiar la distribución de estas en relación con la masa. La relación de las especies de iones de la muestra representadas combinando el análisis de su masa y carga se puede definir como espectro de masas, de manera que estas tienen diferentes rangos de intensidad y abundancia en el contenido dentro de una muestra ¹². Las siglas MALDI-TOF, han sido determinadas como Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight o desorción ionización laser asistida por matriz en tiempo de vuelo. Tradicionalmente ha sido utilizada como una técnica de análisis en Bioquímica Clínica, pero solo hasta hace aproximadamente tres décadas que se facilitó el proceso cuando aparecieron nuevas técnicas denominadas “ionización suave” que consistían en analizar biomoléculas grandes utilizando el láser como agente que provocara ionización en la muestra y adicionando una matriz orgánica.³

Esta nueva diferencia en la metodología permite que en la muestra se produzcan muchas menos fragmentaciones, también la interpretación del espectro que se genera sea más sencilla y de esta manera se distingue la nueva técnica de otros espectrómetros. Entre más grande sea la molécula objetivo de análisis, la complejidad del proceso radica en la fragmentación de la muestra en múltiples iones. Sin embargo, al conseguir que la molécula permanezca prácticamente intacta se consigue una facilidad del análisis y esto se logra por medio de la generación de un espectro con un contenido reducido de especies iónicas. De este principio se desprende el gran éxito de MALDI-TOF en la Microbiología Clínica.³

Las tres partes que componen un espectrómetro de masas son en primer lugar una fuente que provoca ionización, en segundo lugar, un analizador y en tercer lugar un detector, a continuación, para la identificación se utiliza un software denominado MALDI Biotyper (Bruker Daltonik) el cual hace un análisis mediante la comparación de los espectros generados en los cuales se toma más relevancia al espectro completo en lugar de a la presencia de ciertas proteínas individuales. El software consta de principio conocido como algoritmo estadístico de múltiples variantes y en él se identifican la masa representada por picos en una gráfica, la intensidad que estos producen y en tercer lugar la frecuencia con la que inciden, posteriormente el software arroja un reporte de resultados de las identificaciones el cual es reportado como un valor cuantitativo (score). La comparación entre scores que produce el sistema es producto de una comparación con bases de datos almacenadas en la nube o en un servidor, la similitud de estos espectros generados será comparado con los espectros de todos los microorganismos capturados por los usuarios de la plataforma. Para la interpretación de los resultados, existe una alta probabilidad de identificación con valores mayores de 2,3, el fabricante establece los criterios mediante estos valores que oscilan entre 1,7 y 2,3, se considera un valor de 2 - 2,2 como probable identificación a diferentes niveles como género y especie, los valores que oscilan entre 1,7 - 1,9 se distinguen como probable identificación a nivel de género y los valores menores a 1,7 arrojan poca fiabilidad.³

La aplicación más utilizada de la espectrometría de masas MALDI-TOF es la identificación de microorganismos. En el caso de la aplicación para microbiología, el rango de masas oscila entre los 2.000 Da y los 20.000 Da ya que las proteínas ribosómicas son las estructuras que arrojan la mayoría de los picos de masas que se obtienen en este rango. Estos picos de masas en conjunto constituyen el espectro del microorganismo al que se le considera como huella peptídica. Cada espectro generado tiene la singularidad de cada especie microbiana ².

Tiempo de respuesta intralaboratorio

El tiempo reportado que reduce en el diagnóstico el uso de protocolos de MALDI-TOF o tiempo de respuesta intralaboratorio reportado en la literatura es un promedio de 1.45 días y el ahorro de recursos anualmente es de \$102,424 dólares o 56.9% en un periodo de 12 meses. ²⁰

Actualmente no existe una estandarización completa para la metodología de identificación directa de los viales de hemocultivo por esta razón hay variabilidad considerable respecto al volumen de hemocultivo que se utiliza, los métodos de extracción de los microorganismos ya sea por medio de métodos comerciales, tubos de separación en gel, centrifugación, micro colonias etc. representan una limitante. Por esta razón se supone que una identificación directa de hemocultivos positivos mediante MALDI generaría una aportación considerable en términos de tiempo de identificación.³

La instauración de una terapia antimicrobiana en 20-30 horas es el objetivo que la literatura propone sobre las ventajas del uso de MALDI, esto aunado a una política de monitorización activa, siendo uno de los principales objetivos así mismo el desescalamiento de la terapia antimicrobiana, en conjunto estas prácticas consiguen mejorar el tiempo de optimización del tratamiento en los pacientes que se presenten con hemocultivos clínicamente significativos.³

Para conseguir un acortamiento de la estancia global en torno al 40% (alrededor de una semana), con la implementación de los sistemas antes mencionados, se puede considerar que también se consigue un acortamiento de la estancia en UCI del 76% (1,2 en lugar de 4,3 días) y un acortamiento del 14% en la duración de los tratamientos antimicrobianos (15,9 en lugar de 18,6 días) lo que evidencia el valor de una política de monitorización activa más la identificación temprana y el inicio de una antibióticoterapia oportuna. ¹⁰

Dimensionando la magnitud de la sepsis en el desarrollo social y económico

Con el objetivo de dimensionar los costos reales para el sistema sanitario generados por un día de estancia en una unidad de cuidados intensivos, en un estudio intrahospitalario realizado en la ciudad de México se estima un costo de 34,231 pesos por día en el seguro social y en un lapso de 5 años asciende a un total de 36 millones de pesos por una unidad que cuenta con 9 camas promediando 9.2 días de estancia hospitalaria y un fallecimiento de un 32% de los pacientes, estos datos revelan un panorama donde el costo de hospitalización de los pacientes que requieren un tercer nivel de atención representa una carga y elevado costo al sector salud.⁴

Se estima que de los 27 millones de pacientes a nivel mundial con diagnóstico de sepsis en nuestro país existe un sub-reporte ya que en las actas de defunción no aparece este diagnóstico con frecuencia por lo que la sepsis pasa a veces desapercibida. Se calcula que la mortalidad puede alcanzar hasta un 60% cada año consecutivo, con más de 70 mil muertes maternas y los países con sistemas de salud menos desarrollados son los más afectados ya que en ellos la cifra de muertes maternas puede ascender a una por cada seis en 100 mil embarazos. El fondo internacional de las naciones unidas para las emergencias de los niños informa que la mortalidad en la población infantil asciende a 13.2 en 100,000 niños, lo que constituye una aproximación de 2000 muertes anuales.⁵

Impacto generado en la mortalidad por una adecuada antibioticoterapia.

Considerando aspectos fundamentales de una adecuada terapia antimicrobiana se hace referencia a un análisis de un estudio multicéntrico retrospectivo en EU, Canadá en la Universidad de Manitoba y un hospital de Arabia Saudita donde los datos de un análisis retrospectivo de una muestra de 5175 pacientes de 3 países para determinar el impacto de una equivocada terapia antimicrobiana en la sobrevivencia de los pacientes fue: cuando una adecuada terapia antimicrobiana fue instaurada en 80% de los casos, el porcentaje general de supervivencia fue de 43%. La supervivencia después de una adecuada terapia antimicrobiana fue: 52.0% y por el contrario la supervivencia después de una inadecuada terapia antimicrobiana fue: 10.3% para concluir con que el inicio de una inadecuada terapia antimicrobiana ocurrió en un 20% de los pacientes con choque séptico y se vio relacionado a un incremento en la mortalidad equivalente por 5 (5-fold).

Después de dejar en evidencia la relación de supervivencia y tratamiento podemos mencionar un estudio mexicano realizado en múltiples centros por Carrillo et al donde se estudiaron 24 estados del país en 135 Unidades de cuidados intensivos demostrando el impacto de la sepsis sin distinción de medio público o privado. Se hizo revisión de registros anuales donde de los 40,957 internamientos 11,183 tuvieron diagnóstico de sepsis y se calculó una mortalidad del 30.4% Si bien la sepsis se instaura por causas multifactoriales, implementar un manejo orientado al alcance de metas es asociado a una disminución de la mortalidad en 15% lo que evidencia que una antibioticoterapia de amplio espectro retrasada puede llegar a aumentar en un 7% la mortalidad por cada hora que se retrasa el tratamiento. ⁶

En respuesta al planteamiento de las situaciones antes mencionadas, los equipos de respuesta rápida (ERR) y su correcta implementación abren camino a una oportunidad para una identificación correcta y un tratamiento oportuno y eficaz. Dentro de las herramientas disponibles actualmente para la implementación de un ERR y un código sepsis, CARS, SIRS, quick SOFA, MEWS y NEWS son las más destacadas ya que estas utilizan criterios que constituyen escalas de gravedad; siendo la escala NEWS la que ha mostrado superioridad, así mismo la implementación del código sepsis ha dado resultados que muestran un impacto positivo en el inicio oportuno de la antibioticoterapia y el cumplimiento de metas no obstante la mortalidad. Un área de oportunidad para mejorar la eficacia del ERR está en la activación mediante dispositivos automatizados o

en su defecto una manera de reducir el tiempo en la toma de decisiones respecto al estatus del paciente.⁶

El Hemocultivo como método de detección

Los viales de hemocultivo contienen un componente esencial llamado resina de intercambio iónico que inhibe la acción del antibiótico en caso de que el paciente se encuentre bajo un régimen de antibioticoterapia, esto con el fin de permitir el crecimiento bacteriano, el componente de las botellas ejerce una acción inhibitoria de los antibióticos para posteriormente agregar un sistema de detección de señal que detecta los gases producidos durante el metabolismo de los microorganismos lo que causa un incremento de presión en la botella sellada forzando parte de la sangre contenida dentro del detector de señal para reflejarse en el indicador de la cámara de detección del dispositivo, esto se obtiene con el sistema automatizado de detección microbiana Thermo Scientific™ Versatrek™, modelo 240.

Tomando en cuenta que el método Gold standard es el hemocultivo, hacemos referencia a un estudio con 97 muestras, en el cual los pacientes estaban bajo tratamiento al momento en que los hemocultivos resultaron positivos. 41 pacientes (39%) estaban siendo tratados con Vancomicina y 15(15.6%) con polimixina y las intervenciones antibióticas fueron posibles en 27 (26.7) de los pacientes en este estudio. La mayoría de las intervenciones ocurrieron en pacientes con infección por Gram Negativos (70.3%) versus 33.3% gram positivos y el desescalamiento antibiótico fue posible en 12 pacientes incluyendo la suspensión de polimixina B(n=3) Carbapenem (n=2) y vancomicina (n=7). La escalada ocurrió en 15 pacientes más frecuentemente en los que tenían Carbapenem. La terapia antibiótica fue inadecuada en 12% (3/25) de las intervenciones modificadas. El tiempo promedio para informar la identificación de bacterias y los resultados de resistencia a los antibióticos al equipo clínico fue de 35 horas menos con el protocolo desarrollado en comparación con las técnicas convencionales. La identificación a nivel de género utilizando el protocolo rápido fue del 93,5% de acuerdo con los resultados de los métodos de identificación convencionales. Estos recursos en conjunto y haciendo sinergia tienen potencial de acortar el tiempo de instauración efectiva del tratamiento. Respecto al desescalamiento o escalamiento, este es un estudio útil para entender que no es necesario agregar PCR al protocolo. La importancia radica en la rápida identificación de resistencia antibiótica y el género para orientar la terapia antibiótica oportunamente y no usar amplios esquemas antibióticos, no generar resistencia y desescalar rápidamente el antibiótico ⁷.

Utilidades y Limitaciones de MALDI-TOF

MALDI TOF es más útil en bacteriemias por Gram- (conocimiento del patógeno puede tener impacto más significativo en la elección de antibiótico por los mecanismos de resistencia por ende al Evaluar la precisión y exactitud del uso combinado de MALDI-TOF MS y la identificación clásica por medio de VITEK2 para identificar infección monomicrobiana en botellas de hemocultivo, MALDI-TOF tiene limitaciones reportadas por el fabricante como baja sensibilidad para detectar estreptococos y estafilococos, por la dificultad para distinguir entre miembros relacionados en el grupo *mitis*, *pneumoniae*,

sanguis, oralis. También por la composición de la pared celular de los gram-positivos que les confiere mayor resistencia a la lisis y a la presencia de posibles residuos de proteínas de la sangre que pueden ser consideradas una limitante para la correcta identificación por MALDI. ⁵

Así mismo, estudios de precisión comúnmente revelan limitaciones del sistema MALDI-TOF MS para discernir entre organismos genéticamente similares como lo es *Streptococcus pneumoniae* de otras cepas del grupo de *Streptococcus mitis* o *Shigella* de *E.coli*.²⁰

En relación con los procedimientos invasivos, datos provenientes de un hospital Universitario Regiomontano reportan sobre los catéteres venosos centrales y la proporción de los que se infectan e indican aproximadamente un 60% en una muestra de 125 catéteres venosos centrales, lo que representa una correlación importante con el tema de la identificación microbiana porque que las tasas de incidencia que se manejan lo dejan con una importante área de oportunidad ya que los patógenos encontrados concuerdan con los de la literatura siendo estos un grupo de reconocidos microorganismos intrahospitalarios, *Staphylococcus Aureus*, *Pseudomona Aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae*. ⁹

La iniciación inapropiada de terapia antimicrobiana impacta indudablemente en la supervivencia del paciente con choque séptico y esto correlaciona directamente con el diagnóstico microbiológico ya que refuerza la hipótesis de que una adecuada terapia dirigida repercute en una pronta identificación de manera que se requiere instaurar una antibioticoterapia que sea optimizada y personalizada para evitar la progresión y la falla multiorgánica. ¹⁰

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente proyecto es un estudio **observacional, retrospectivo, transversal descriptivo y comparativo**.

Población y diseño del estudio

Para la realización del presente estudio no experimental se llevó a cabo una depuración de los registros de hemocultivos que resultaron positivos y fueron solicitados por medio de los siguientes servicios: Cirugía General, Cirugía General AC, Cirugía plástica, Cirugía Plástica Consulta, Ginecología, HU Área A, Infectología, Medicina Interna 1, Medicina Interna 2, Medicina Interna 3, Nefrología, Neumología, Neurocirugía, Neuro Médica/Neurología, Obstetricia, Quirófano, Tococirugía, Traumatología, Unidad de Cuidados Intensivos Adultos, Urgencias Adultos, Urología, Urología Consulta. Las fechas de inicio de captura de los datos fueron los meses de febrero 2021 a abril 2021 se hizo una depuración de diarios donde se incluían reportes de hemocultivos obteniendo los resultados de hemocultivos positivos y excluyendo los que no reunieron los criterios de inclusión iniciales para posteriormente hacer una revisión de la primera depuración obtenida de las bitácoras de valores críticos. Posteriormente se inició con un análisis

retrospectivo de la base de datos en la que se dio seguimiento capturando las fechas de identificación inicial y reporte final en los diarios de valores críticos. La revisión semanal del registro de hemocultivos se llevó a cabo con el objetivo de obtener información registrada hasta enero de 2021.

Previo a la implementación del equipo MALDI-TOF en octubre 2019 y subsecuentemente posterior a la implementación del equipo MALDI-TOF, se analizaron los datos obtenidos de la totalidad de pacientes registrados cumpliendo con los criterios de inclusión y posteriormente se compararon tiempos de respuesta intralaboratorio.

Para identificar a los pacientes ingresados en la UCI se realizó un mapeo de los diarios de valores críticos. Una vez cumplidos los criterios de selección de hemocultivo y el registro de uno o más hemocultivos provenientes de los departamentos de Internamiento antes mencionados.

Para el protocolo de identificación se utiliza un dispositivo de la marca Bruker, MALDI-TOF MS, modelo Microflex Biotyper con el software versión. 3.0, y la base de datos versión 3.1.2 de acuerdo con las instrucciones del fabricante, propiedad del departamento.

Para la clasificación y análisis de los datos se seleccionó una muestra de 231 registros de hemocultivos que resultaron positivos que comprenden desde el día 01 de septiembre 2019 a 30 de enero de 2021.

Se hizo un análisis que comprende fecha y hora de recepción de las muestras de viales de hemocultivos y fecha y hora de tiempo de crecimiento de cada uno obteniendo un promedio, mediana y tiempo de respuesta intra-laboratorio.

Descripción de protocolos de Identificación

Descripción del Protocolo de identificación estándar: Captura de datos con orden de paciente proveniente de servicio de internamiento >> Recepción de viales de hemocultivo e incubación en dispositivo Versa Trek >> positividad de los viales >> incubación en Placa >> Pruebas Bioquímicas >> Incubación en dispositivo Microscan Walkaway Plus >> Reporte de Resultado final con CMI (concentración Mínima Inhibitoria).

Descripción del protocolo MALDI-TOF: Captura de datos con orden de paciente proveniente de servicio de internamiento >> Recepción de viales de hemocultivo e incubación en dispositivo Versa Trek >> Positividad de los viales >> Pre-cultivo en placa e incubación paralela en Microscan Walkaway Plus >> Identificación MALDI-TOF >> Reporte de resultados en diario de valores críticos >> reporte de resultado final (microscan).

Cálculo de la muestra

El cálculo de la muestra se realizó mediante un muestreo determinado por los tiempos de implementación, se seleccionaron 50 registros de hemocultivos previo a la implementación del equipo MALDI y 50 registros posterior a la implementación del mismo, periodo de tiempo que comprende los meses previos a octubre de 2018 y

posteriores a enero de 2019, de estos registros se seleccionaron los que cumplían con los criterios de inclusión posteriormente enlistados en la (tabla 1).

Fórmula 1.

$$n = K(s_1^2 + s_2^2) / (m_1 - m_2)^2$$

Siendo:

K = sustituyendo 10.8 s_1 = desviación estándar de grupo previo a implementación de MALDI-TOF, sustituyendo: 24 horas. s_2 = desviación estándar de grupo posterior a implementación de MALDI-TOF, sustituyendo: 10 horas. m_1 =media de grupo previo a implementación de MALDI-TOF, sustituyendo: 48 horas. m_2 = media de grupo posterior a implementación de MALDI-TOF, sustituyendo: 36 horas. Sustituyendo valores en fórmula 1: $n = 50.7 \sim 51$

Se utilizó una fórmula de estimación de media en dos poblaciones, con el objetivo principal de comparar los tiempos de respuesta intra-laboratorio previo y posterior a la implementación del sistema de espectrometría de masas MALDI-TOF.

Esperando una media de 48 horas de respuestas con el método de placas de cultivo simple/VERSA Trek y una media de 36 horas con el sistema de espectrometría de masas MALDI-TOF, se necesita un mínimo de 51 muestras de estudio por grupo, los parámetros fueron establecidos basándose en la literatura publicada por La Scola y colaboradores¹⁹.

Criterios de inclusión

Sujetos mayores de 18 años con hemocultivos positivos provenientes de las siguientes salas de hospitalización: ÁREA A, Medicina Interna I II o III, Cirugía, Trauma, Cx URO, Nefro, UCIA, UCI postquirúrgica y Urgencias.

La inclusión de un registro deberá cumplir con los requisitos antes mencionados para ser incluido en el estudio.

Fecha de ingreso al sistema	Fecha de cultivo Positivo	Número de hemocultivo	Registro	Sala	Bacteria Identificada	Fecha y Hora de reporte
-----------------------------	---------------------------	-----------------------	----------	------	-----------------------	-------------------------

Tabla 1 (criterios capturados en la base de datos).

Criterios de exclusión

Registros de expedientes repetidos o erróneos, registros con pérdida de información o reportes incompletos. Fechas de reporte de resultados que sobrepasaron el tiempo del estudio y registros de hemocultivos que resultaron negativos en un periodo posterior a 7 días.

Análisis Estadístico:

En la estadística descriptiva, las variables cualitativas se reportan en forma de frecuencias y porcentajes, en las variables cuantitativas se utilizaron medidas de tendencia central y dispersión. Para una distribución normal se utilizaron media y desviación estándar y por último los cuantiles 25%, 50% y 75% si la distribución normal fuera rechazada.

Se utilizó la prueba de Shapiro-Wilk para evaluar la distribución de las variables continuas en la estadística inferencial. La prueba de Chi-cuadrado o de Pearson se utilizó para analizar las variables categóricas. Las pruebas T-Student, de Welch y La prueba U de Mann Whitney se utilizaron para comparar los grupos independientes (dependiendo de la aceptación o rechazo de la hipótesis nula de normalidad. Valores de $p < 0.05$ se tomaron como significativos. El programa Microsoft Excel fue utilizado para capturar los datos y el programa R, Versión 4.0.5 y el programa R Studio versión 1.4.1106 para el análisis de los datos

Por medio de un análisis descriptivo y proporcional realizado con el Software estadístico R. Studio se correlacionaron los tiempos de respuesta intralaboratorio para la detección microbiológica. Así mismo se clasificaron los diversos tipos de microorganismos obtenidos con agrupación por frecuencia de distribución y por la sala de donde provienen los viales de hemocultivo. Se determinaron los tiempos totales de crecimiento y reporte por microorganismos agrupados ya sean gram (+), gram (-), enterobacterias, hongos.

RESULTADOS

Se realizó una prueba de Shapiro Wilk para distribución normal de tiempo de identificación, resultando de $W=0.41$, con $p < 0.001$, por lo que se rechaza hipótesis nula de distribución normal.

Se clasificaron un total de 231 registros de los cuales 34 corresponden a *Staphylococcus* coagulasa negativo, provenientes de los servicios de internamiento, se consideraron *Staphylococcus* coagulasa negativo las especies *S.epidermidis*, *S.Haemolyticus* *S.hominis* y *S.Capitis*. *Staphylococcus* coagulasa negativo = 34 registros *Staphylococcus* coagulasa negativo por sala= Cirugía Plástica=3 Cirugía AB=4 Cirugía AC=2 CRER=17 Ginecología=1 Área-A=2 Medicina Interna=6 Neuromédica=1 Pensionistas=5 Traumatología=1 UCIA=11 UCI-Post Quirúrgica=4 Urgencias Adultos=8

Se hizo una agrupación de los patógenos de relevancia clínica. El microorganismo más común proveniente del servicio de UCI fueron los del grupo de *Staphylococcus* (15), *Cándida* 6, *klebsiella* 4. En un 32% de los hemocultivos se identificaron *Staphylococcus* coagulasa negativo.

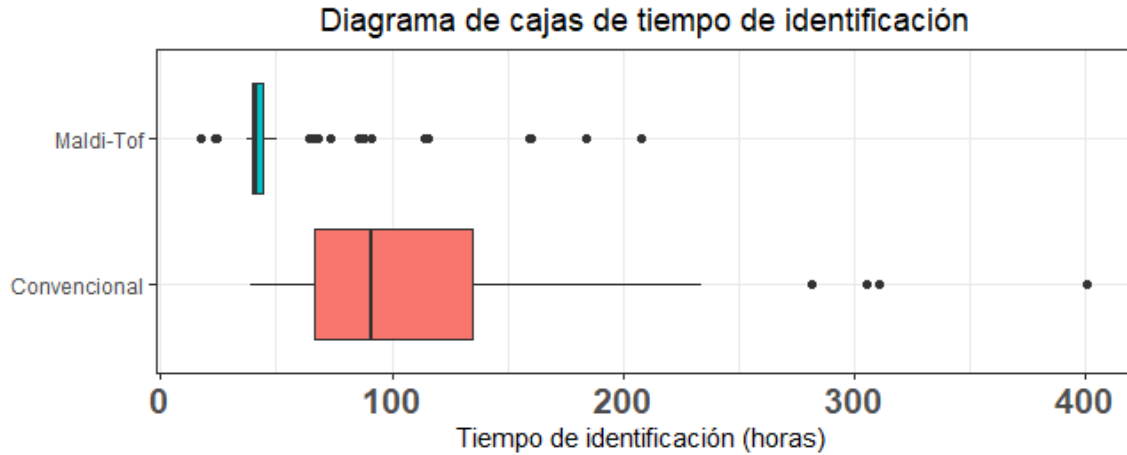


Figura 1.1 Tiempo para identificación según protocolo de identificación estándar versus MALDI-TOF expresado en horas.

Se realiza prueba U de Mann-Whitney para diferencia de distribución entre grupo de hemocultivos identificados por MALDI-ToF y método convencional. Se encuentra un valor de $p < 0.001$, con una diferencia de -46.7 horas (intervalo de confianza de 95% de -50.7 a -42.7 horas), por lo que se rechaza hipótesis nula de igualdad de distribución en tiempo de identificación entre ambos grupos.

Método de identificación	Mediana (hrs)	Percentiles (hrs)			
		2.5%	25%	75%	97.5%
MALDI-TOF	41.1	24.6	39.8	44.1	160
Estándar	91.0	41.7	66.7	136.1	311

Tabla 1. Distribución de tiempo de identificación entre ambos grupos, mediana y percentiles en horas.

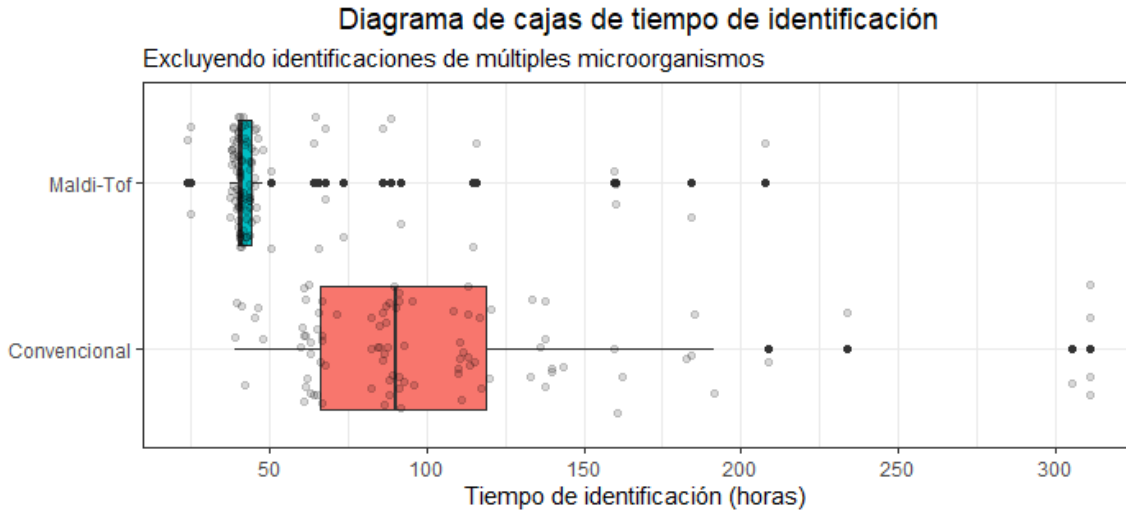


Fig (1.2) Diagrama de cajas comparativo ilustrando el tiempo de identificación en horas con los métodos tradicionales y automatizados desde que es recibida la muestra hasta que es identificado un microorganismo comparado con los tiempos de identificación con la introducción de Maldi-TOF añadiendo los outliers.

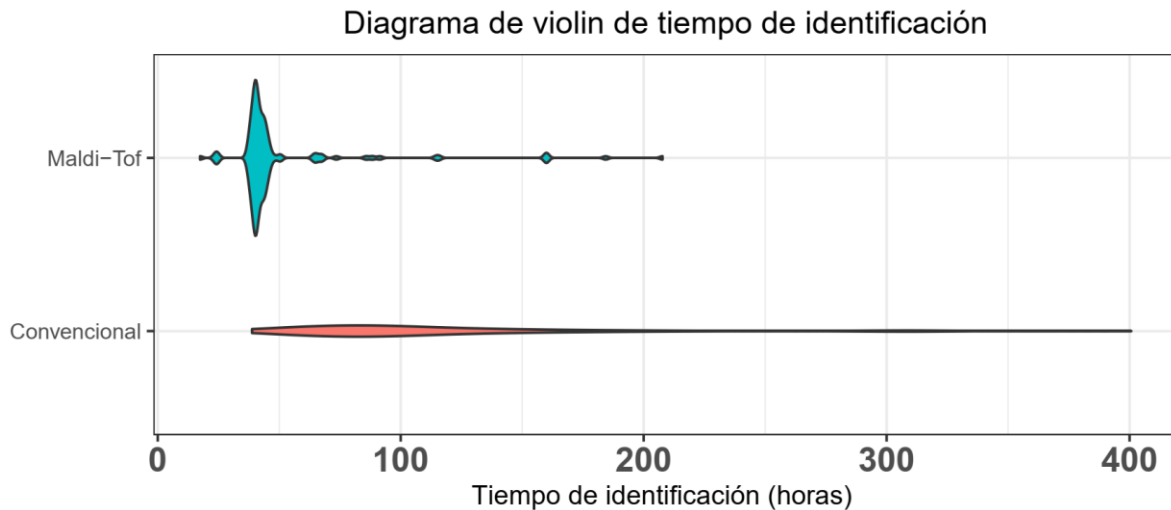


Fig (1.3) Diagrama de violín comparativo de densidad de probabilidades y la distribución de tiempos de identificación expresado en días con el uso de métodos tradicionales versus la introducción de MALDI-TOF

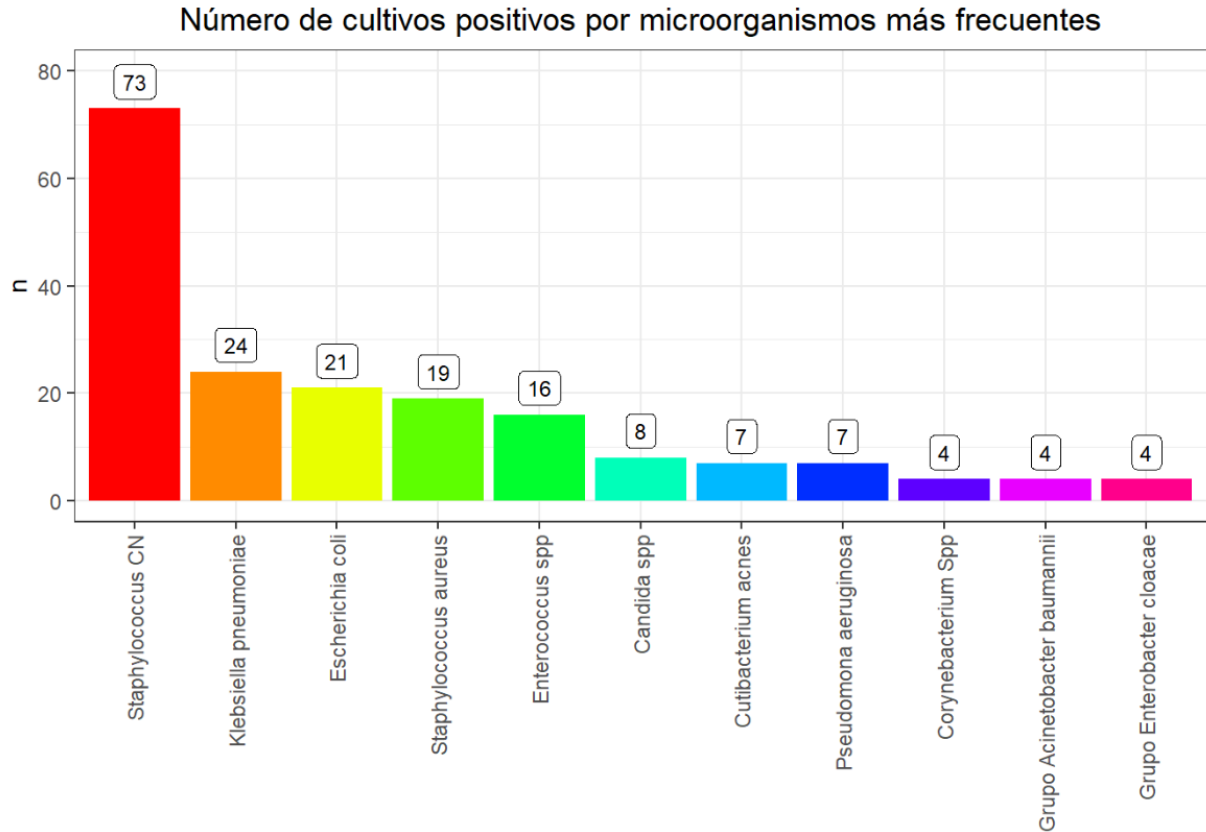


Tabla (B) Histograma representativo del número de hemocultivos positivos y microorganismo identificado agrupado por frecuencia. *Staphylococcus CN*: (Coagulasa **N**egativo). Las especies que se agruparon dentro del grupo Coagulasa **N**egativo son: *S. Epidermidis*, *S. Hominis*, *S. haemolyticus*, *S. Capitis*

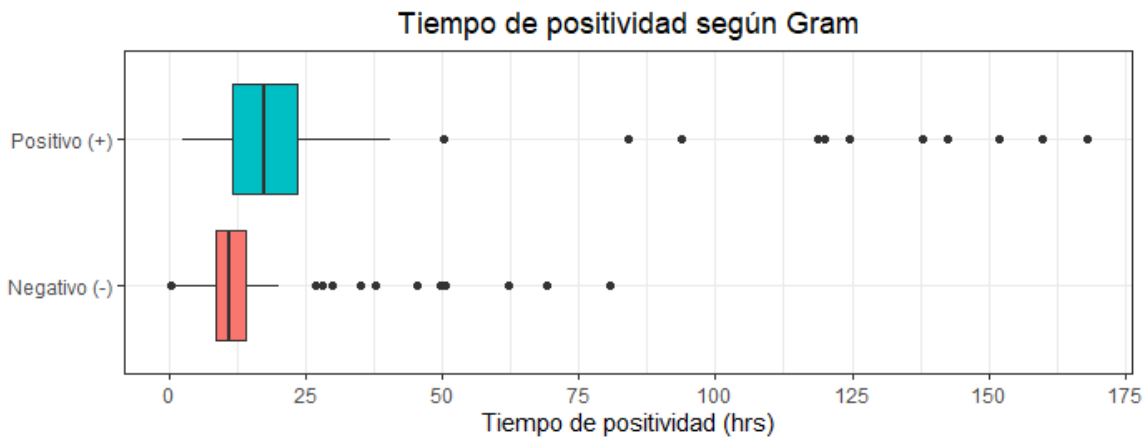


Fig 1.4

Diagrama de cajas comparativo de resultados de identificación por MALDI-TOF versus tiempos de positividad de los viales de hemocultivo representado en horas.

Figura 1. 5, Diagrama de Cajas con representación de Nube donde se expresa el tiempo de identificación en horas utilizando el protocolo convencional versus protocolo MALDI-TOF

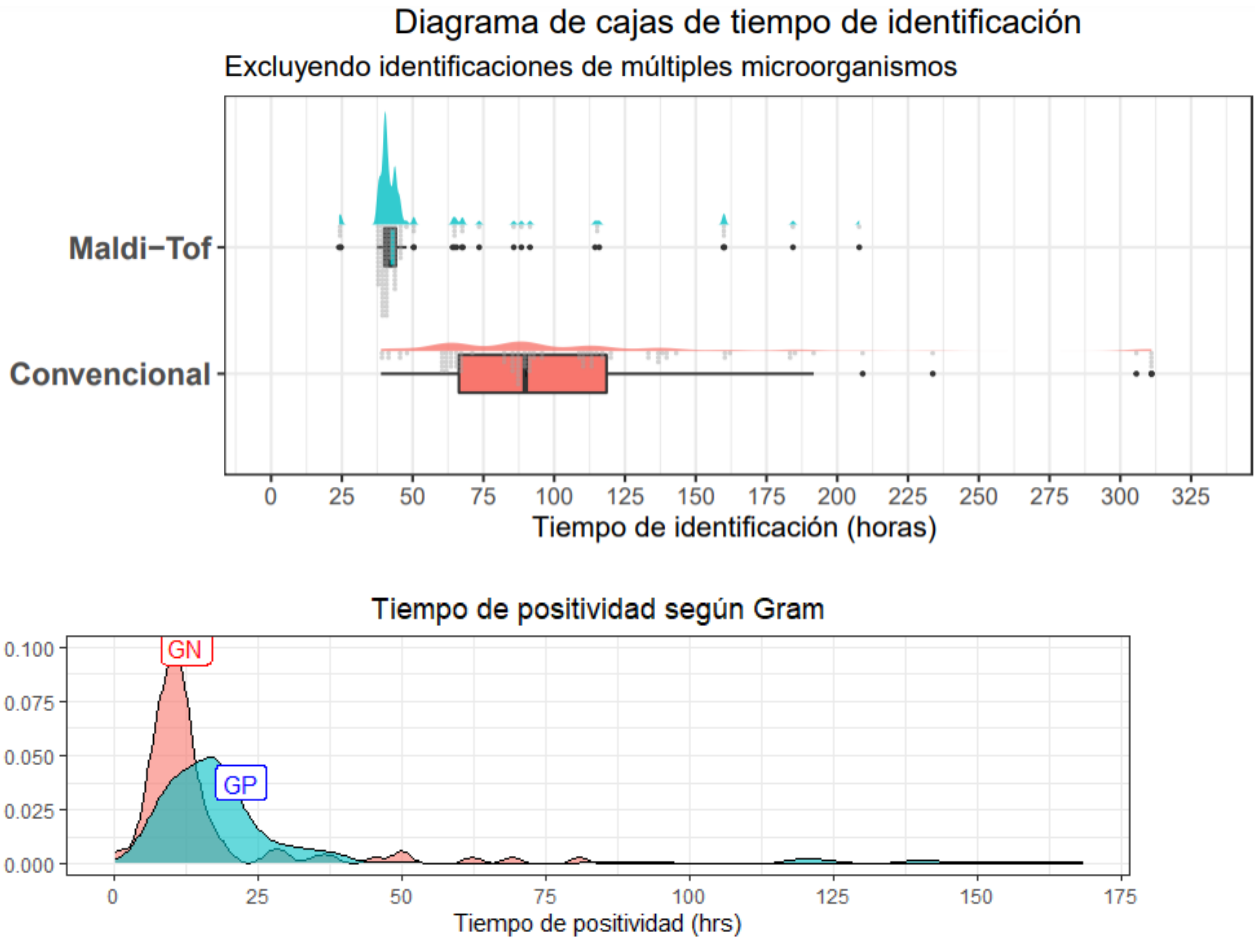


Fig 1.6

Diagrama de densidad representativo de los tiempos de positividad en horas de los viales de hemocultivo utilizando ambos protocolos. Se encuentran agrupados según su diferenciación por Gram.

Fig 1.7 Representación en diagrama de cajas utilizando el protocolo MALDI versus protocolo standard.

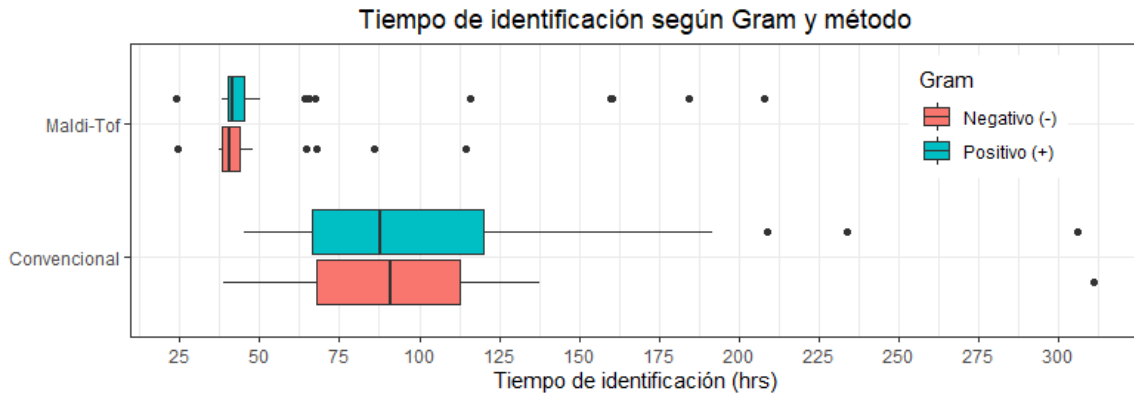
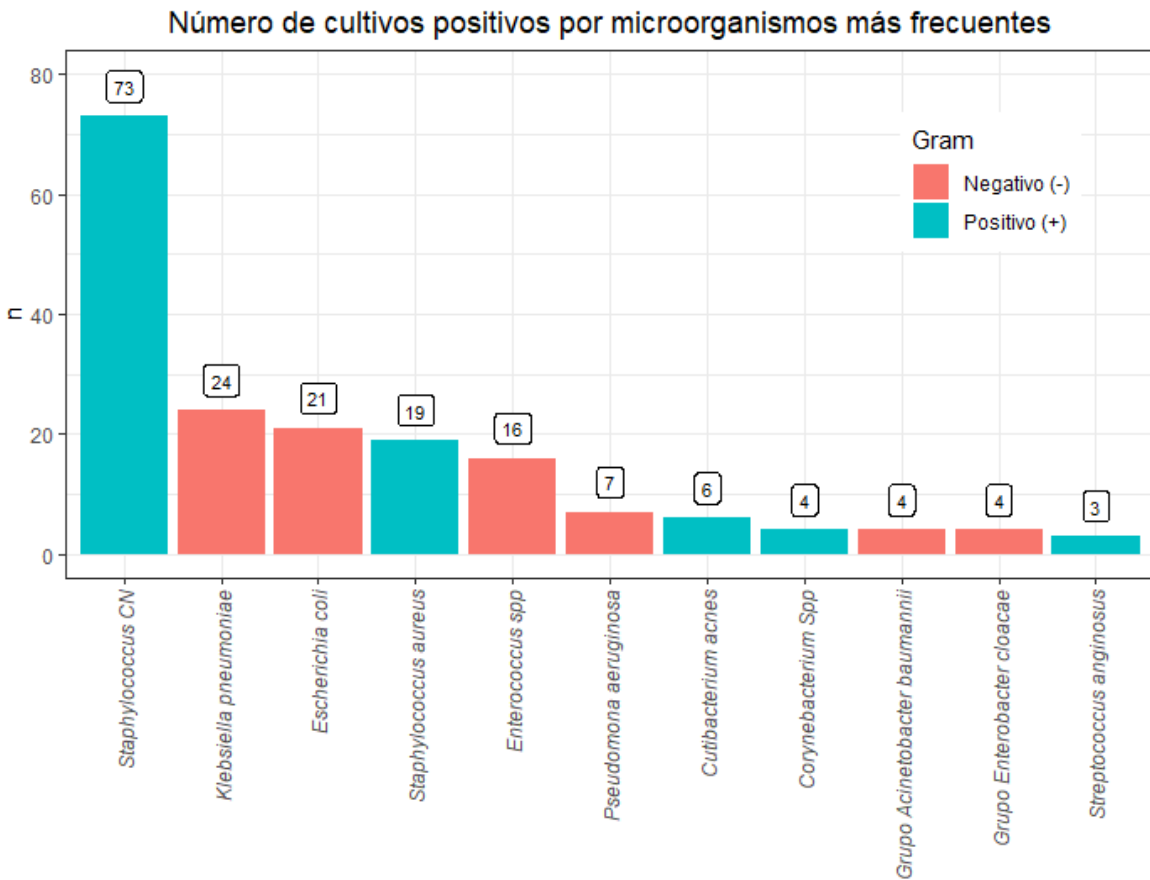


Fig 1.8 Gráfica de barras representativa del número de Hemocultivos positivos agrupados por frecuencia de microorganismos identificados por género utilizando ambos protocolos:



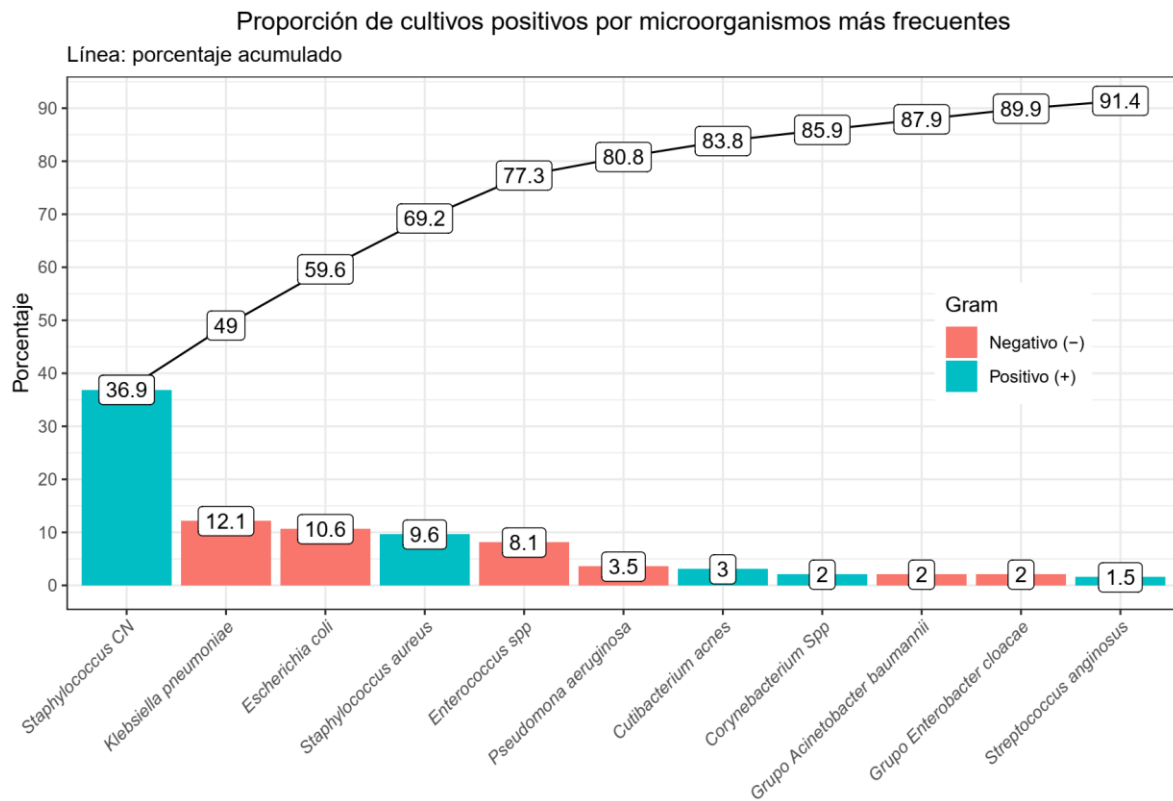


Fig 1.9 Diagrama de Pareto donde se ilustra la proporción de cultivos con resultado positivo expresado en porcentaje acumulado del total de muestras identificadas por protocolo MALDI desglosado por su clasificación de Gram.

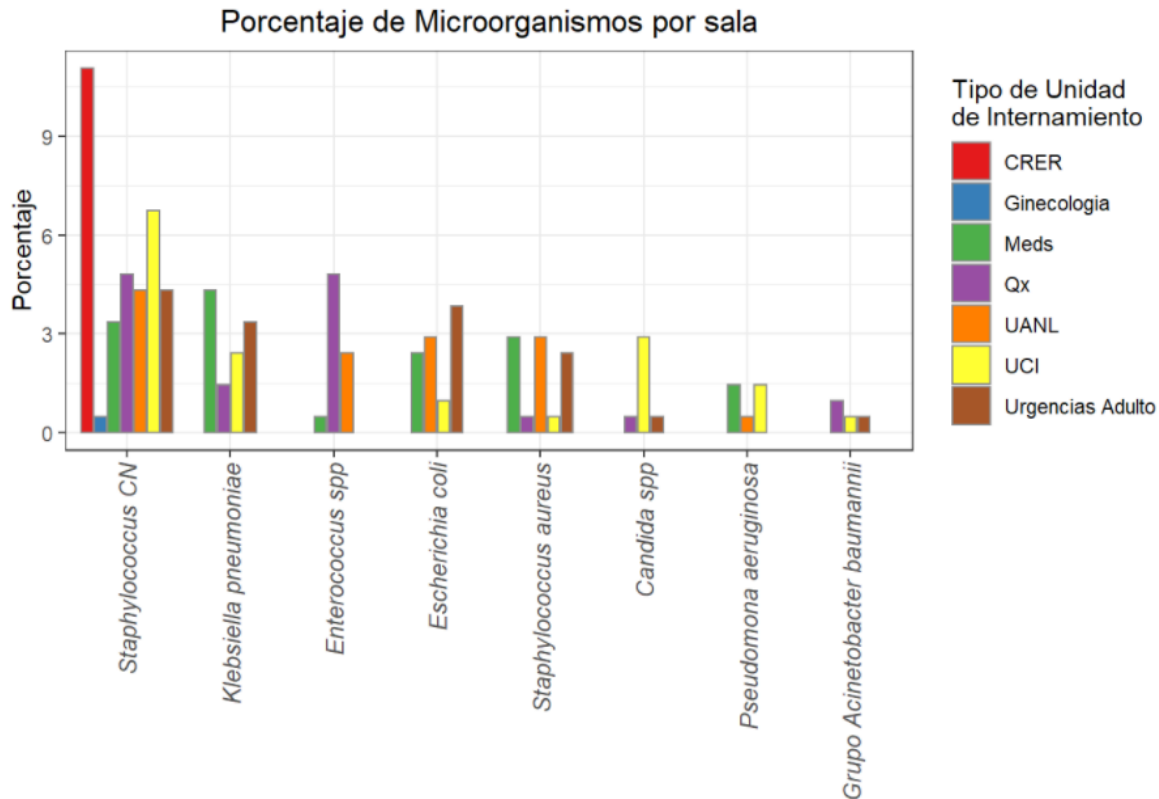


Fig. 2.0 Gráfica de barras representativa del porcentaje de microorganismos identificados por sala de donde provienen los viales de hemocultivo. Las Salas de internamiento que se clasificaron dentro de UCI son: UCIA y UCI postquirúrgica, así mismo, la proporción de microorganismos identificados que vienen de UCI fue mayormente *S. Coagulasa Negativo*. Las Salas de internamiento que se agruparon dentro de CX son: Quirófano, *Enterococcus Faecalis* y *Enterococcus Faecium* (7) fueron los microorganismos más frecuentemente identificados provenientes del servicio de Qx (Piso de Cirugía y Quirófano)

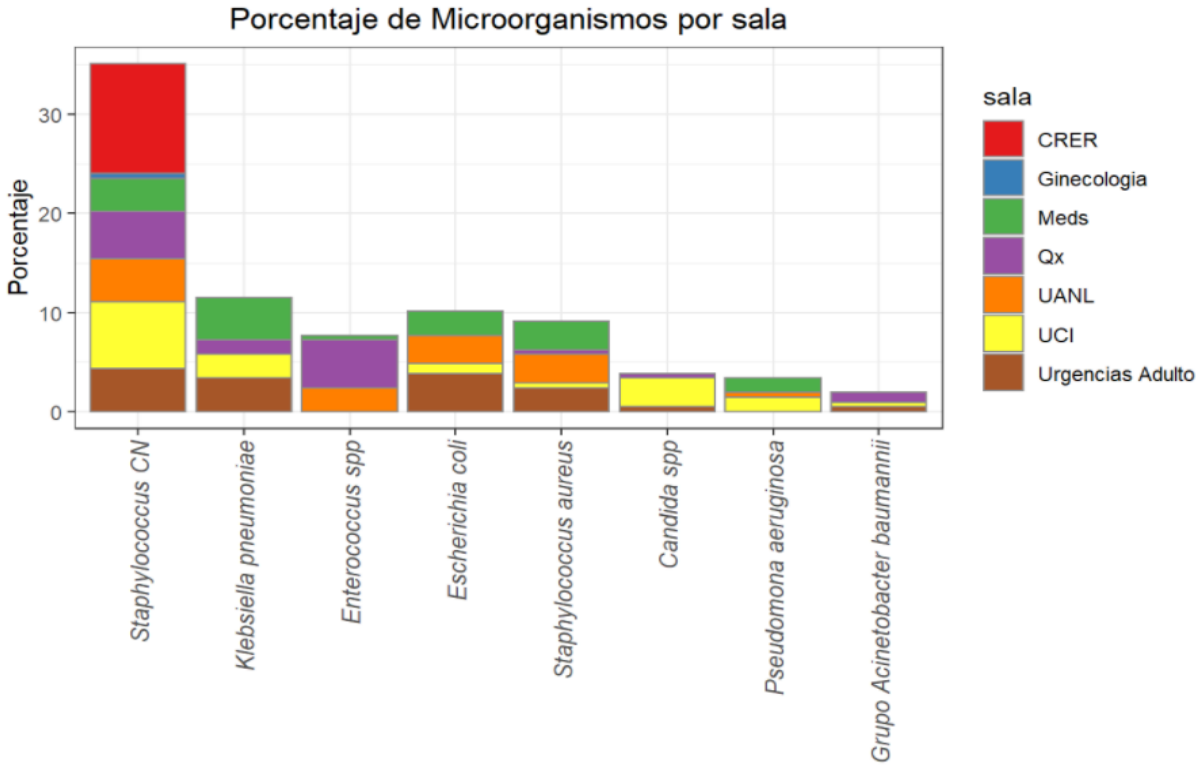


Fig 2.1 Gráfica de barras en porcentajes acumulativos de microorganismos identificados por sala de internamiento. Tomando en cuenta que cada sala tiene diferente demanda de estudios de hemocultivo, esta tabla expresa el porcentaje de microorganismos identificados del total de solicitados por sala de internamiento.

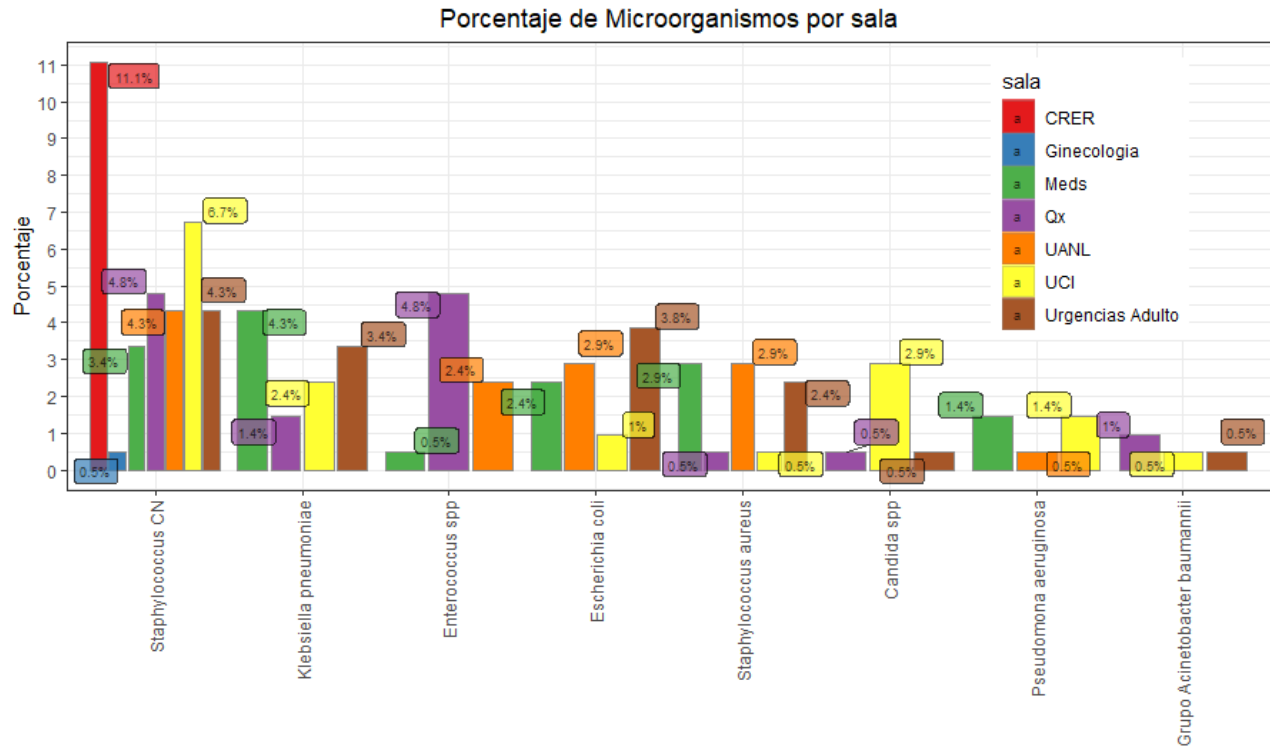


Fig 2.2 Gráfica de Barras representativa de porcentajes específicos de microorganismos identificados por sala de internamiento. (CRER, Centro Regional de Enfermedades Respiratorias) Meds (Medicina interna 1, 2, 3) UANL (servicios médicos de hospitalización pensionistas)

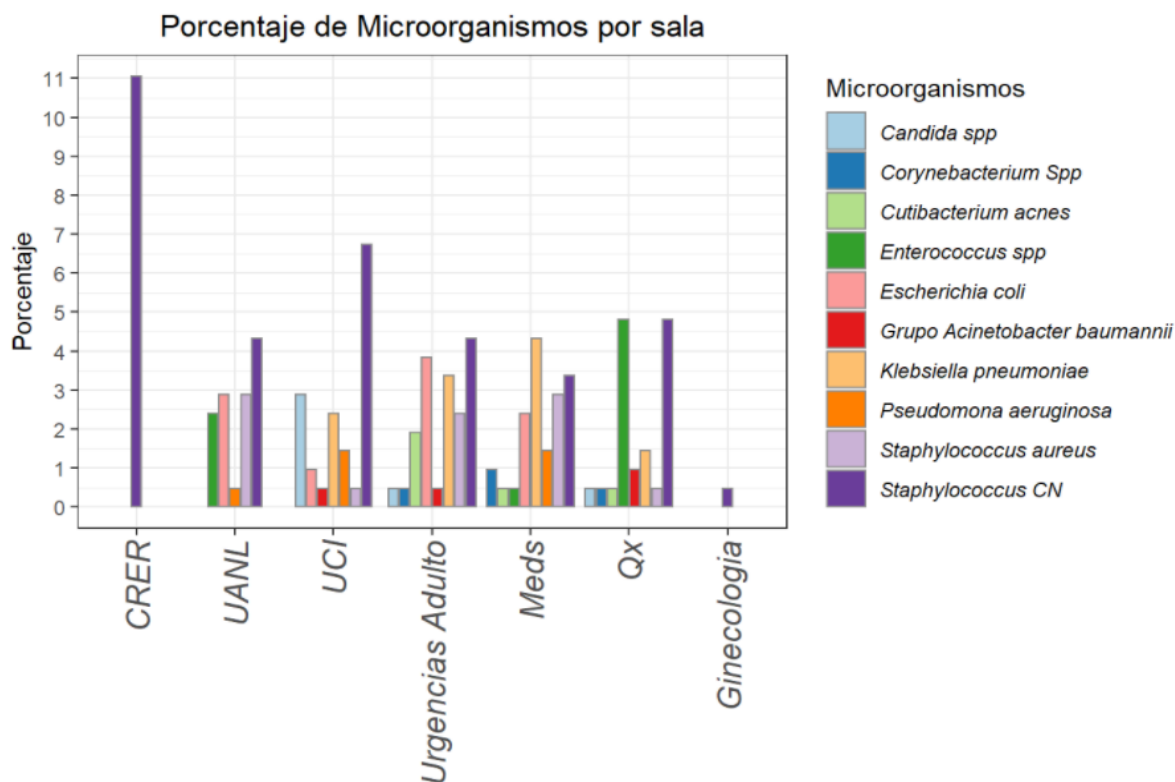


Fig 2.3 Gráfica de barras representativa de porcentajes de microorganismos identificados por sala de internamiento. *Staphylococcus CN* (Coagulasa Negativo)

DISCUSIÓN

El análisis de los datos respecto a la introducción e implementación de un dispositivo de Espectrometría de masas MALDI-TOF para identificación microbiana en muestras pre cultivadas de viales de hemocultivo resulta una metodología que acorta el tiempo de respuesta intralaboratorio en un total de (49.9horas/ 2.07días) mostrando una diferencia significativa en el tiempo $P < 0.05$) expresado en la figura (1.1)

Las importantes decisiones que día a día toma el equipo de control de infecciones están basadas en la información que recibe del equipo de Laboratorio, por esta razón, el identificar cepas multirresistentes es de vital importancia, como se muestra en la figura (1.4), existe una mayor proporción de microorganismos gram positivos y los estafilococos de relevancia clínica son *S.aureus* *S.saprothiticus* y *S.epidermidis* los cuales fueron categorizados en este estudio como *Staphylococcus CN* (Coagulasa Negativo). Como se muestra en la fig (1.9), el 36.9% de los registros de hemocultivos son *Estafilococos coagulasa negativos* siendo el centro regional de enfermedades respiratorias (CRER) de donde proviene una mayor proporción de los identificados, seguido del servicio de UCI y en tercer lugar Cirugía, expresado en la fig (2.0).

Respecto al tiempo según la identificación de los Gram(-) ésta es en promedio 10 horas más rápida, representado en la fig (1.6).

Por medio del protocolo convencional se obtiene el antibiograma y la CMI en el reporte final, así mismo, el reporte preliminar de la identificación microbiana por MALDI-TOF se hace por medio de Whatsapp al médico tratante al momento de la identificación para orientar la terapia antimicrobiana y así mismo se registra a mano en un diario de valores críticos, por lo que una interfaz entre los dos equipos Micro Scan, MALDI y el LIS (laboratory information System) en paralelo representaría un avance significativo en los tiempos de reporte de resultados y la eficacia en la implementación de estos sistemas.

La ventaja de la metodología MALDI-TOF radica en el ahorro de tiempo en la identificación de género y especie, no así la identificación de mecanismos de resistencia ya que esto conlleva un protocolo diferente al estándar que puede ser llevado a cabo por una variedad de metodologías que van desde la identificación por pruebas manuales de resistencia a antibióticos con discos en placa hasta los métodos más sofisticados como secuenciación de Genoma completo para screening.

Los microorganismos identificados en los distintos centros de internamiento concuerdan con los referidos en la literatura y los servicios de internamiento donde se presentó un mayor número de hemocultivos positivos fueron CRER, UCI y Quirófano, Medicina interna y Urgencias en orden decreciente como se expresa en la fig. (2.0)

La introducción de un reactivo Sepsityper para la plataforma MALDI_TOF (Bruker Daltoniks) para la totalidad de los hemocultivos analizados acortaría el tiempo de subcultivo en 6-8 horas ya que la identificación se llevaría a cabo directo de los viales de hemocultivo. Tomando en cuenta que el uso de un sistema integral es un factor importante en el acortamiento del tiempo de respuesta intralaboratorio, Esto puede ser logrado solamente con un sistema de software Middleware que conecta los múltiples dispositivos para extraer la información necesaria e integrar los datos de forma práctica en una plataforma para facilitar las decisiones médicas diagnósticas.

El microorganismo más comúnmente identificado fue Staphylococcus Coagulasa Negativo, proveniente de todas las salas de internamiento sin embargo con una mayor proporción proveniente del CRER, así mismo hay que considerar que este es un patógeno que coloniza la piel y al mismo tiempo un agente común de contaminación en superficies.

Klebsiella Pneumoniae fue el segundo microorganismo más comúnmente identificado con una mayor proporción proveniente del servicio de Medicina Interna.

Las salas donde se identificaron muestras positivas para microorganismos del grupo Acinetobacter fueron UCI, Medicina Interna y Urgencias como se muestra en la fig (2.1) lo que concuerda con la literatura consultada. Resulta evidente que un brote de Acinetobacter en una UCI requiere una atención inmediata y la activación de un protocolo de respuesta bien establecido, así como un análisis ambiental, por esta razón es importante identificar la frecuencia de estos hallazgos para definir si existe una

correlación entre salas de internamiento y la fuente del brote, pudiendo este ser intra o extrahospitalario. Así mismo aún mas importante para la toma de decisiones es identificar si la cepa de *Acinetobacter Baumannii* es resistente a carbapenemasas ya que estas infecciones se asocian a altas tasas de mortalidad por lo cual su correcta caracterización en el menor tiempo posible permite al hospital un gran ahorro de costos en lo que respecta a las medidas de sanitización y prevención como la remoción de camas, equipo, el screening de los colaboradores, la desinfección profunda de la sala y el uso ineficiente de staff y recursos, no sin antes mencionar el efecto en la sobrevida del paciente.

Limitaciones del estudio

Se decidió excluir el segundo objetivo secundario del protocolo el cual intentaba determinar los días de estancia intrahospitalaria por diagnóstico de sepsis, ya que el tiempo destinado para la realización del presente estudio en conjunto con su magnitud, superan el tiempo destinado para la finalización del proyecto.

Una consideración especial para el mejoramiento de los procesos dentro del laboratorio es que el reporte preliminar lleve un protocolo documentado ya que, al momento de detectarse crecimiento en los viales de hemocultivo, este hallazgo se reporta directamente por teléfono o mensaje de texto al médico tratante sin existir evidencia ni trazabilidad de dicho reporte.

Los tiempos de identificación pueden verse afectados cuando las muestras que se positivizan durante el turno nocturno son puestas en espera hasta el día siguiente para ser identificadas lo que representa un retraso de hasta 8 horas para la identificación.

CONCLUSIONES

La tecnología MALDI-TOF representa una solución al problema del tiempo en la identificación microbiana dentro del arsenal de diagnóstico microbiológico pero necesita trabajar en equipo que se interfase con otras plataformas como lo son el sistema Versa TREK y Microscan Walkaway por medio de un middleware es un sistema de gestión de datos que ofrece una solución para que los dispositivos se comuniquen entre sí y rastreen de manera eficiente toda la información que necesitan los profesionales involucrados en el control de infecciones y el tratamiento de pacientes. La implementación de un protocolo de identificación por MALDI directo de los viales de hemocultivo representaría a la vez otra ventaja en el ahorro de tiempo e instauración de una terapia antimicrobiana óptima.

La implementación de un protocolo de identificación por MALDI directo de los viales de hemocultivo representaría a la vez otra ventaja en el ahorro de tiempo e instauración de una terapia antimicrobiana óptima. El presente estudio es un vistazo en retrospectiva que manifiesta un panorama general del proceso de identificación microbiana en el hospital Universitario, de igual manera este estudio es un censo de los microorganismos que han sido identificados en pacientes a quienes se les ha solicitado un hemocultivo, se identifican ventajas competitivas, así como áreas de oportunidad que se han expuesto en la discusión. Por último, el análisis progresivo y la continuidad de la obtención de los

datos producidos mediante los procedimientos que se llevan a cabo en el laboratorio clínico nos ayudarán a tomar mejores decisiones en el futuro en lo que respecta la implementación costo/beneficio de una nueva tecnología, no sin antes mencionar que las tendencias de las nuevas casas comerciales a futuro son ofrecer soluciones de multiplataformas automatizadas y que ofrezcan una centralización y análisis predeterminado de cierta información para acelerar la toma de decisiones basadas en evidencia.

Consideraciones éticas

Se ha hecho una revisión cuidadosa de la literatura científica y así mismo en base a los criterios de la declaración de Helsinki, tratado de la Asociación Médica Mundial adoptada por la 52 Asamblea General de Edimburgo año 2000 considerando los artículos 11, 13 y 15 donde señala en sus enmiendas que la investigación debe ser sustentada por un conocimiento del campo clínico y en base a estos principios se han recabado los antecedentes y se ha desarrollado una metodología para la realización del proyecto.

La Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud establece un reglamento donde en su Fracción 1, Título 2º, Capítulo 1º, Artículo 17, se establecen los riesgos de la investigación por lo que el presente estudio se alinea con estos criterios clasificando el presente proyecto como estudio sin riesgo, dado que solo se ha analizado información obtenida a partir de registros de laboratorio.

El proyecto es congruente con la Ley General de Salud de los Estados Unidos Mexicanos en su título quinto sobre Investigación para la salud en el Artículo 100, donde establece que su realización no expondrá a ninguna persona a riesgos y daños innecesarios en su Fracción III y para su realización los autores se han apegado a principios éticos y científicos para justificar su realización. Se han tomado todas las consideraciones para que el proyecto se ajuste a las normas institucionales en materia de investigación y la información que ha sido extraída de los expedientes clínicos se ha manejado con medidas estrictas de confidencialidad.

Protección de la confidencialidad

El presente estudio implica la revisión de reportes electrónicos y resultados de los diarios de reporte de bacteriología. Los investigadores han registrado a los sujetos en las bases de datos empleando únicamente el número consecutivo de hemocultivo y número de registro del paciente, de tal forma que, en el análisis de datos, el analista sólo observará la nomenclatura empleada para identificar a los pacientes. Las bases de datos se encontrarán almacenadas en el servidor del laboratorio central del Hospital Universitario "Dr. José E. González".

Ningún dato confidencial de los pacientes será revelado en las publicaciones (artículos, carteles, conferencias) derivadas del desarrollo de este proyecto.

Bioseguridad

Para el desarrollo del presente proyecto, únicamente se emplearon los reportes electrónicos y diarios de reporte de los pacientes incluidos. No se trabajó con cepas de microorganismos patógenos, o muestras biológicas de cualquier tipo, así como con materiales radiactivos o sustancias químicas peligrosas. Tampoco se generaron residuos peligrosos biológico-infecciosos. Por lo anterior, no existe riesgo alguno de infección o contaminación debida al presente proyecto.

Infraestructura y recursos

Este proyecto se llevó a cabo en el área de bacteriología del Laboratorio Central Departamento de Patología Clínica del Hospital Universitario “Dr. José E. González”, con dirección en Av. Francisco I. Madero Pte. s/n y Av. Gonzalitos, C. P. 64460, Col. Mitras Centro, Monterrey, N.L. Para la realización de este proyecto solo se han empleado diarios en físico para reporte de bacteriología y reportes electrónicos de resultados de pacientes.

Financiamiento y factibilidad

El proyecto se ha financiado con recursos propios e institucionales. La experiencia, los antecedentes del grupo de investigadores, y la disponibilidad de los datos han hecho completamente factible el desarrollo del proyecto.

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES REALIZADAS

ACTIVIDADES	J U L - 2 0 2 0	A G O - 2 0 2 0	S E P T - 2 0 2 0	O C T - 2 0 2 0	N O V - 2 0 2 0	D I C - 2 0 2 0	E N E - 2 0 2 1	F E B - 2 0 2 1	M A R - 2 0 2 1	A B R - 2 0 2 1	PRODUCTOS ENTREGABLES
Documentación Bibliográfica	x	x									N/A
Redacción del protocolo	x	x	x	x	x	x					Protocolo en extenso
Registro						x	x				Número de registro

Recolección de datos									x	x	x	Base de datos
Análisis estadístico									x	X		Resultados del estudio
Redacción del artículo										x	x	Borrador de artículo

BIBLIOGRAFIA

1. Rhodes A, Evans L, Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: Critical Care Medicine: [March 2017 - Volume 45 - Issue 3 - p 486-552](#).
2. Anand K, Paul E. Initiation of inappropriate antimicrobial therapy results in a fivefold reduction of survival in human septic shock [Chest](#). 2009 Nov;136(5):1237-1248.
3. Marina O, García B. Aplicaciones de la espectrometría de masas MALDI-TOF en Microbiología Clínica. 2019 Procedimientos en Microbiología Clínica Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica 2nd Ed.vol. 65 p 5-10.
4. Curiel R. Instituto Mexicano del Seguro Social. ACUERDO ACDO.AS3.HCT.270116/8.P.DF relativo a la aprobación de los costos unitarios por Nivel de Atención Médica para el ejercicio fiscal 2016. México: Diario Oficial. Primera sección; 25 feb 2016. dof.gob.mx/nota_to_doc.php?codnota=5427054
5. Filomena F, Donatella M, Curr MALDI-TOF MS Versus VITEK2: Comparison of Systems for the Identification of Microorganisms Responsible for Bacteremia 2016 *Microbiol* 73:843–850, DOI 10.1007/s00284-016-1121-x
6. Elguea P, González K, Hernández Q Código sepsis: sistemas de respuesta rápida, 2019 *Med Crit* ;33(3):145-1497).
7. Alves Q, Bruno C, Boettgera B, Direct matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry and real-time PCR in a combined protocol for diagnosis of bloodstream infections: a turnaround time approach 2019, *J infect dis*;23(3):164–172.
8. Gorordo L, Sepsis: el enemigo oculto entre líneas Sepsis: the hidden enemy between the lines (2017) *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, Vol. 55, Núm. 4.
9. Oscar S. Sánchez Rivera I, Incidencia de infecciones relacionadas a catéteres venosos centrales (CVC) en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) de un hospital universitario 2010, *Medicina Universitaria*;12(47):91-95

10. Anand K, MD; Paul E, MD Initiation of Inappropriate Antimicrobial Therapy Results in a Fivefold Reduction of Survival in Human Septic Shock; NOVEMBER, 2009 CHEST / 136 / 5.
11. Francisco C, Marcio B. Sylvia B. 2018 Current aspects in sepsis approach. Turning things around Rev Esp Quimioter;31(4): 298-315
12. P.Seng, M.Drancourt Ongoing Revolution in Bacteriology : Routine Identification of Bacteria by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry. 2009 Clinical Infectious Diseases, vol, 49, pag; 543-551
13. Bizzini A, C.Drusel A. Bizzini, C. Durussel, J, Performance of Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry for Identification of Bacterial Strains Routinely Isolated in a Clinical Microbiology Laboratory, 2010. Clin. Microbiol, 48(5):1549.
14. Rizo J, Molina A, La sepsis como causas de egreso hospitalario en México; una revisión retrospectiva 2008-2015. 2018 comisión Nacional de Arbitraje Médico. México Volúmen 3 Número 17.
15. Angela M. Huang, Duane Newton, Anjly K, Tejal N. Impact of Rapid Organism Identification via Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Combined With Antimicrobial Stewardship Team Intervention in Adult Patients With Bacteremia and Candidemia, *Clinical Infectious Diseases*, Volume 57, Issue 9, 1 November 2013, Pages 1237–1245
16. Olivier Gaillot, Nicolas Blondiaux, Letters to the Editor Cost-Effectiveness of Switch to Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight Mass Spectrometry for Routine Bacterial Identification Dec. 2011 JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, , p. 4410095-1137/11/\$12.00 doi:10.1128/JCM.05429-11
17. Idelevich EA, Reischl U, Becker K: New microbiological techniques in the diagnosis of bloodstream infections. 2018 Dtsch Arztebl Int; 115: 822–32. DOI:10.3238/arztebl.2018.0822
18. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). 2016 JAMA.;315(8):801–810. doi:10.1001/jama.2016.0287
19. La Scola B, Raoult D (2009) Direct Identification of Bacteria in Positive Blood Culture Bottles by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionisation Time-of-Flight Mass Spectrometry. PLoS ONE 4(11): e8041. doi:10.1371/journal.pone.0008041
20. K. E. Tan,^a B. C. Ellis,^b 2012 Prospective Evaluation of a Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry System in a Hospital Clinical Microbiology Laboratory for Identification of Bacteria and Yeasts: a Bench-by-Bench Study for Assessing the Impact on Time to Identification and Cost-Effectiveness Journal of Clinical Microbiology p. 3301–3308