

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

Estudio del impacto de las nuevas tecnologías y técnicas rápidas en el diagnóstico de sepsis (Proyecto Síntesis)

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTORA

PRESENTADA POR

Ana María Álvarez-Uría Miyares

DIRIGIDA POR

Patricia Carmen Muñoz García

Emilio Bouza Santiago

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

**DOCTORADO INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS MÉDICO-
QUIRÚRGICAS**



TESIS DOCTORAL

**ESTUDIO DEL IMPACTO DE LAS NUEVAS TECNOLOGÍAS Y TÉCNICAS RÁPIDAS EN EL DIAGNÓSTICO DE
SEPSIS (PROYECTO SÍNTESIS)**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTORA

PRESENTADA POR

ANA MARÍA ÁLVAREZ-URÍA MIYARES

DIRECTORES

Patricia Carmen Muñoz García

Emilio Bouza Santiago

Madrid 2024

A mis padres, por confiar y creer en mí, entre otras miles de cosas que les debo.

"El conocimiento es un tesoro, pero la práctica es la llave para desbloquearlo."

Lao Tse

AGRADECIMIENTOS

Esta tesis se ha realizado gracias a la ayuda de muchas personas, a las que estoy muy agradecida:

A Emilio Bouza, por ser el impulsor de este trabajo, por saber sacar lo mejor de cada idea, y sobre todo por su infinita generosidad, con sus conocimientos y especialmente con su tiempo.

A Patricia Muñoz, por su confianza en mí y su convencimiento de que podría terminar este trabajo.

A Almudena Burillo, y Belén Rodríguez Márquez, por un trabajo bien hecho que ha ayudado a muchos pacientes y por estar siempre disponibles para todas las dudas que he tenido.

A Agus y Marina, por convencerme de que podía terminar el trabajo, animarme siempre y ser un apoyo indispensable en el día a día. Ahora les toca a ellos y espero ayudarles tanto como me han ayudado.

A Maricela Valerio, por intentar y facilitar siempre que hagamos equipo para que cada uno pueda desarrollar sus metas.

A mis compañeras del periférico, un ejemplo de excelencia para intentar hacer las cosas mejor cada día.

A mis compañeros de laboratorio, por enseñarme durante mi residencia de una forma insuperable y por estar siempre disponibles cuando los necesitas. En especial agradezco a Carlos Sánchez Carrillo, allá donde esté, por ser inspiración y porque en la sepsis no ha habido nadie tan rápido como él. También a Luis Alcalá, por crear la lista de sepsis que nos ha facilitado tanto el trabajo, y a Mercedes Marín, por aportar tanta experiencia cuando empezamos a utilizar los paneles moleculares.

A Iván Adán, por su eficacia y rapidez en cualquier cosa que le pidas, relacionadas con este trabajo y con muchos otros.

A Rocío y a Cristina Rincón, por ser tan buenas profesionales y personas, su ayuda es tan grande que sin ellas muchas cosas no saldrían adelante.

A mi familia, por los cimientos, por estar presentes y disponibles, por preocuparse y apoyarme siempre.

ÍNDICE

ÍNDICE

RESUMEN.....	1
1. RESUMEN EN ESPAÑOL.....	1
2. SUMMARY.....	5
INTRODUCCIÓN.....	11
1. PEQUEÑO RECUERDO HISTÓRICO.....	11
2. DEFINICIONES.....	14
2.1 Campaña para sobrevivir la sepsis (Surviving Sepsis Campaign).....	17
3. EPIDEMIOLOGÍA DE LA SEPSIS.....	17
4. ETIOLOGÍA Y MICROBIOLOGÍA DE LA SEPSIS.....	19
5. FACTORES PRONÓSTICOS.....	20
6. DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO CONVENCIONAL DE LA SEPSIS.....	22
6.1. Fase pre-analítica.....	23
6.2 Fase analítica.....	23
7. NUEVAS TECNOLOGÍAS PARA EL DIAGNÓSTICO DE SEPSIS EN SANGRE O HEMOCULTIVOS.....	25
7.1 Técnicas sobre muestra directa de sangre.....	26
7.2. Técnicas sobre hemocultivo positivo:.....	32
8. TÉCNICAS RÁPIDAS PARA EL DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE LA SEPSIS SOBRE MUESTRAS DIFERENTES DE SANGRE O HEMOCULTIVOS.....	40
8.1 Técnicas moleculares.....	41
8.2 Espectrometría de masas.....	46
9. SELECCIÓN DE PACIENTES CANDIDATOS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS POR LAS NUEVAS TECNOLOGÍAS.....	46
10. CÓDIGO SEPSIS.....	49
OBJETIVOS.....	53
PARTE 1 PROYECTO SINTESIS. IMPACTO EN VIDA REAL DE LA UTILIZACIÓN DE PANELES SINDRÓMICOS DE PCR MÚLTIPLE PARA INFECCIONES GRAVES.....	57
1. INTRODUCCIÓN.....	57
2. HIPÓTESIS:.....	57
3. OBJETIVOS.....	58
4. METODOLOGÍA.....	58
4.1. DISEÑO Y PERÍODO DEL ESTUDIO.....	58
4.2 ÁMBITO DEL ESTUDIO.....	58
4.3 PACIENTES y MÉTODOS.....	59
5. RESULTADOS.....	64
5.1 Características de los pacientes.....	66

5.2 Diagnóstico rápido mediante paneles Biofire® FilmArray® versus diagnóstico convencional.	68
5.3 Intervención y ajuste de tratamiento	72
5.4 Diferencias entre resultado negativo y positivo en los paneles de PCR múltiple.....	72
6. DISCUSIÓN.....	76
PARTE 2 PROYECTO SINTESIS: ESTUDIO DEL IMPACTO DE LAS NUEVAS TECNOLOGÍAS Y TÉCNICAS RÁPIDAS EN PACIENTES CON SOSPECHA DE SEPSIS DE ORIGEN URINARIO	85
1. INTRODUCCIÓN	85
2. HIPÓTESIS.....	86
3. OBJETIVOS.....	86
4. METODOLOGÍA.....	87
4.1. DISEÑO Y PERÍODO DEL ESTUDIO.....	87
4.2 ÁMBITO DEL ESTUDIO	87
4.3 PACIENTES y MÉTODOS.....	88
5. RESULTADOS.....	94
5.1 Características de las cohortes.....	95
5.2 Foco de infección	95
5.3 Resultados de la microbiología	97
5.4 Cultivo convencional versus algoritmo de diagnóstico rápido	99
5.5 Tratamiento antibiótico empírico	101
5.6 Comunicación de resultados y ajuste de tratamiento.....	101
5.7 Impacto clínico del algoritmo de diagnóstico rápido	102
6. DISCUSIÓN.....	104
PARTE 3 PROYECTO SÍNTESIS. CÓDIGO SEPSIS: IMPLICACIONES PARA UN SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA Y ENFERMEDADES INFECCIOSAS	111
1. INTRODUCCIÓN	111
2. OBJETIVOS.....	112
3. METODOLOGÍA.....	113
3.1 DISEÑO Y PERÍODO DEL ESTUDIO	113
3.2 ÁMBITO DEL ESTUDIO	113
3.3 PACIENTES Y MÉTODOS.....	114
4. RESULTADOS.....	119
4.1 Características clínicas.....	119
4.2 Muestras y diagnóstico microbiológico	121
4.3 Técnicas de diagnóstico rápido	124
4.4 Alerta al laboratorio de microbiología.....	125
4.5 Tiempos de respuesta laboratorio de microbiología y métodos de diagnóstico	125
4.6 Intervención por parte de especialista en enfermedades infecciosas.....	127

4.7 Control del foco	130
4.8 Evolución y resultados.....	130
5. DISCUSIÓN.....	132
DISCUSIÓN FINAL: RETOS FUTUROS DEL DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO EN LA SEPSIS y PAPEL DEL MICROBIÓLOGO Y DE LA ESPECIALIDAD DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS.....	139
CONCLUSIONES	151
BIBLIOGRAFÍA.....	155
ANEXOS.....	173
ANEXO I. TRABAJO ACEPTADO COMO SESIÓN ORAL EN EL CONGRESO ECCMID 2020	173
ANEXO II. TRABAJO ACEPTADO COMO PÓSTER EN EL CONGRESO ECCMID 2024.....	175
ANEXO III. TRABAJO ACEPTADO COMO PÓSTER EN EL CONGRESO ECCMID 2024.....	177
ANEXO IV. TRABAJO ACEPTADO COMO PÓSTER EN EL CONGRESO ECCMID 2024	179
ANEXO V. INFORMES DE LOS DIRECTORES DE LA TESIS DOCTORAL.....	183

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Cambios recientes en las definiciones de sepsis de acuerdo a los diferentes consensos.

Tabla 2. Tecnologías comercializadas basadas en amplificación de ácidos nucleicos sobre sangre total para el diagnóstico de bacteriemia

Tabla 3. Principales técnicas moleculares de PCR múltiple sobre hemocultivo positivo.

Tabla 4. Características del LCR normales y en función del tipo de infección

Tabla 5. Resultados de los 146 paneles de PCR múltiple realizados

Tabla 6. Características de los 142 pacientes incluidos en el estudio

Tabla 7. Diferencias entre los pacientes con diagnóstico rápido y aquellos en los que no se llegó a un diagnóstico por paneles de PCR múltiple.

Tabla 8. Diferencias entre los pacientes con diagnóstico rápido y aquellos en los que no se llegó a un diagnóstico por paneles de PCR múltiple.

Tabla 9. Características basales en la cohorte de intervención y la cohorte comparativa.

Tabla 10. Microorganismos aislados en orina y hemocultivos y comparación entre ambas cohortes.

Tabla 11. Comparación de la tinción de Gram con urocultivo convencional

Tabla 12. Comparación de la evolución y variables de resultado entre la cohorte de intervención y la cohorte comparativa según análisis univariable

Tabla 13. Modelos de regresión y resultados relativos para las variables estudiadas

Tabla 14. Características de los 327 pacientes con activación de código sepsis

Tabla 15. Etiología de la sepsis en 327 pacientes con activación de Código Sepsis.

Tabla 16. Técnicas de diagnóstico rápido realizadas en las muestras recibidas de los 327 pacientes con Código Sepsis

Tabla 17. Diferencias entre los pacientes en los que se alertó al laboratorio y aquellos en los que no se activó la alerta

Tabla 18. Diferencias entre los pacientes valorados y no valorados por un especialista en enfermedades infecciosas, excluyendo aquellos pacientes no valorados por muerte o alta precoz.

Tabla 19. Análisis univariable de factores asociados a mortalidad en 265 pacientes con criterios de sepsis e infección

Tabla 20. Análisis multivariable de mortalidad en 265 pacientes con criterios de sepsis e infección

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Efecto del momento de inicio de tratamiento antibiótico tras la presencia de hipotensión en la supervivencia de pacientes con shock séptico.

Figura 2. Diagnóstico microbiológico convencional de la bacteriemia

Figura 3. Técnicas independientes de cultivo para el diagnóstico de sepsis, número de patógenos detectados y comparación de TAT frente a técnicas convencionales.

Figura 4. Procesamiento de hemocultivos e identificación mediante MALDI-TOF

Figura 5. Diagnóstico convencional de bacteriemia sobre hemocultivo positivo frente a aproximación con identificación precoz con MALDI-TOF de pellet obtenido de hemocultivo inmediatamente tras la detección de crecimiento, incluyendo AST.

Figura 6. Relación ideal de los equipos PROA (“Antimicrobial Stewardship”) con los equipos de optimización del diagnóstico microbiológico PRODIM (“Diagnostic Stewardship”) para optimizar el manejo del paciente con infección.

Figura 7. Las 4 Ts en la optimización del diagnóstico microbiológico:¹ elegir el Test adecuado en el Tipo de muestra adecuado, recogida en el Tiempo adecuado y para guiar Tratamiento adecuado.

Figura 8. Procesamiento de la muestra para realización de PCR múltiple Biofire® FilmArray®

Figura 9. Resultados obtenidos por PCR múltiple y diagnóstico convencional en 27 pacientes con infección de SNC.

Figura 10. Resultados obtenidos por PCR múltiple y diagnóstico convencional en 47 pacientes con infección respiratoria.

Figura 11. Resultados obtenidos por PCR múltiple y diagnóstico convencional en 28 pacientes con infección gastrointestinal.

Figura 12. Principales antimicrobianos utilizados en los 142 pacientes y diferencias en función de haber tenido un resultado positivo o negativo en los paneles de PCR múltiple.

Figura 13. Algoritmo de diagnóstico rápido en muestras de orina

Figura 14. Muestras recibidas y positividad de los 327 pacientes con código sepsis

Figura 15. Diagnóstico etiológico global y en pacientes con diagnóstico final de sepsis.

ABREVIATURAS

AST: “antimicrobial susceptibility testing” o pruebas de sensibilidad a antimicrobianos.

BLEE: betalactamasa de espectro extendido.

CMV: citomegalovirus.

CS: Código Sepsis.

ECEA: *E. coli* enteroagregativo.

ECEP: *E. coli* enteropatógeno.

EI: Enfermedades Infecciosas.

EPOC: Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica.

ESKAPE: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*.

EUCAST: Comité Europeo de Evaluación de la Sensibilidad Antimicrobiana.

FA: Filmarray®.

FISH: hibridación fluorescente in situ.

HGUGM: Hospital General Universitario Gregorio Marañón.

ICD: Infección por *Clostridioides difficile*.

IQR: “interquartile range” o rango intercuartílico.

LCR: líquido cefalorraquídeo.

MALDI-TOF-MS: “Matrix-assisted Laser Desorption/Ionization- Time of Flight- Mass Spectrometry” o espectrometría de masas por ionización/desorción asistida por matriz con tiempo de vuelo.

PCR: “polymerase chain reaction” o reacción de la polimerasa en cadena.

qSOFA: quick “Sequential Organ Failure Assessment”.

RM: Resonancia magnética.

SASM o MSSA: *S. aureus* sensible a meticilina.

SARM o MRSA: *S. aureus* resistente a meticilina

SARS-CoV-2: “Severe Acute Respiratory Syndrome-CoronaVirus-2”.

SIRS: síndrome de respuesta inflamatoria sistémica.

SOFA: "Sequential Organ Failure Assessment".

TAC: Tomografía axial computarizada.

TAT: "turn around time", tiempo desde que se recibe la muestra hasta que se emite un informe de resultados.

UCI: unidad de cuidados intensivos.

VHS: Virus Herpes Simple.

VIH: Virus de la Inmunodeficiencia humana.

VRS: Virus Respiratorio Sincitial

VVZ: Virus Varicela Zoster

RESUMEN/SUMMARY

RESUMEN

1. RESUMEN EN ESPAÑOL

Título: eStudio del Impacto de las Nuevas TEcnologías y técnicas rápidas en la sepSIS (proyecto SINTESIS).

Introducción: las nuevas tecnologías han revolucionado el diagnóstico microbiológico de la sepsis. Sin embargo, tienen un coste elevado y hasta el momento los estudios sobre su impacto clínico arrojan resultados variables.

En el presente proyecto evaluamos el impacto clínico de algunas nuevas tecnologías aplicadas en muestras diferentes de hemocultivos procedentes de pacientes con sospecha de sepsis o infecciones graves, acompañadas del consejo por parte de un especialista en enfermedades infecciosas (EI). Además, evaluamos las implicaciones que la implementación del código sepsis tiene para un laboratorio de microbiología y un servicio de EI.

Material y métodos: proyecto realizado en el Hospital General Universitario Gregorio Marañón, hospital de 1.349 camas que atiende aproximadamente a 750.000 habitantes.

A continuación se describe la metodología de las tres partes del proyecto:

- **PARTE 1: Impacto en vida real de la utilización de paneles sindrómicos de PCR múltiple para infecciones graves.**

Estudio prospectivo realizado entre octubre de 2018 y septiembre de 2019 en pacientes adultos hospitalizados con sospecha de infección y muestra de tracto respiratorios superior, heces o líquido cefalorraquídeo (LCR) en las que se realizaron paneles de PCR múltiple. El resultado fue informado por un especialista en EI.

- **PARTE 2: Estudio del impacto de las nuevas tecnologías y técnicas rápidas en pacientes con sospecha de sepsis de origen urinario.**

Estudio prospectivo de cohortes emparejadas que compara el impacto de

un algoritmo de diagnóstico rápido (incubación y detección de crecimiento en Alfred 60/AST, identificación del pellet obtenido mediante MALDI-TOF, realización de antibiograma rápido mediante Alfred 60/AST y detección de mecanismos de resistencia en enterobacterias) en muestras de orina de una cohorte de pacientes adultos con sospecha de sepsis urinaria (abril 2023-octubre 2023), frente una cohorte de pacientes de similares características en los que se realiza únicamente diagnóstico convencional (septiembre 2022-marzo 2023).

- **PARTE 3: Código sepsis, implicaciones para un servicio de microbiología y enfermedades infecciosas.**

Estudio prospectivo observacional que evalúa los primeros pacientes con activación de código sepsis (CS) entre noviembre de 2022 y junio de 2023.

Objetivos:

- Evaluar el rendimiento de los paneles sindrómicos de PCR múltiple, el ajuste de tratamiento realizado tras sus resultados y comparar el impacto clínico de un resultado positivo frente a uno negativo.
- Evaluar el rendimiento de un algoritmo de diagnóstico rápido sobre muestras de orina de pacientes con sospecha de sepsis urinaria y medir su impacto clínico frente a no realizarlo.
- Evaluar las características de los primeros pacientes con activación de código sepsis (CS) de nuestro centro, el impacto del CS en el laboratorio de Microbiología y en las interconsultas de EI, si existe un impacto clínico de una alerta al laboratorio o de la valoración por EI en el pronóstico del paciente, y evaluar los factores relacionados con la mortalidad.

Resultados:

PARTE 1: se incluyeron 146 muestras de 142 pacientes (46 muestras de heces, 51 exudados nasofaríngeos y 49 líquidos cefalorraquídeos). Se llegó a un diagnóstico etiológico en 63 pacientes (44,5%): mediante técnicas rápidas en 41 (28,9%), mediante diagnóstico convencional en 8 (5,6%) y por ambas en 14 pacientes (9,9%). El tiempo hasta el resultado fue de 2,7 horas para los paneles múltiples versus 76 horas para el

diagnóstico convencional. La información rápida motivó ajuste de tratamiento antimicrobiano de forma precoz en el 45,1% de los pacientes. Los pacientes con resultado positivo del panel tuvieron mayor ajuste de tratamiento, menor consumo de antibióticos, menor realización de pruebas complementarias y menor estancia hospitalaria, comparados con los que tuvieron resultado negativo.

PARTE 2: El algoritmo de diagnóstico rápido identificó precozmente el 92,8% de los aislados en orina y Alfred 60/AST proporcionó la sensibilidad a antibióticos en el 93,2% de las enterobacterias en 7,2 horas frente a más de 72 horas mediante diagnóstico convencional, con una buena concordancia entre ambos. No se observaron diferencias significativas entre las características basales de las cohortes y se observó una reducción significativa del: 12% en consumo de antibióticos, 14% en días de antibiótico intravenoso, 58% en la necesidad de ingreso en UCI, 49% en la mortalidad global, además de una tendencia a reducir la estancia hospitalaria y la estancia en UCI.

PARTE 3: los primeros CS de nuestro centro tuvieron una mediana de 72 años de edad, múltiples comorbilidades e infecciones mayoritariamente comunitarias. La adecuación del tratamiento antibiótico fue mayor al 90% y la mortalidad 15,6%. Las muestras de CS constituyeron el 1% de todas las muestras recibidas para bacteriología. El CS constituyó el 8% de todas las interconsultas de EI. La llamada urgente al laboratorio se asoció con mayor realización de técnicas rápidas, mayor diagnóstico precoz y desescalada más rápida con una tendencia no significativa a una menor estancia hospitalaria y menor consumo de antibióticos. En el análisis multivariable se asociaron a mortalidad la edad, la gravedad y el control de foco inadecuado.

Conclusiones:

- Los paneles de PCR múltiple mostraron mayor rentabilidad diagnóstica que el diagnóstico convencional, más rápidamente y permiten un ajuste precoz de tratamiento en casi la mitad de los pacientes. Los resultados positivos tienen mayor impacto que los negativos.
- Nuestro algoritmo de diagnóstico rápido proporcionó identificación y sensibilidad precoz en más del 90% de los pacientes, con impacto en la

reducción de consumo y coste de antibióticos, necesidad de ingreso en UCI y mortalidad global.

- Los primeros CS de nuestro centro son pacientes añosos, con múltiples comorbilidades, infecciones mayoritariamente comunitarias, elevada adecuación del tratamiento empírico y baja mortalidad.
- El impacto del CS fue mayor en el área de interconsultas de EI que en el laboratorio de microbiología y nuestros datos sugieren una baja activación del CS. La alerta precoz al laboratorio se asoció a más realización de técnicas rápidas, a mayor diagnóstico microbiológico precoz y desescalada más rápida.
- Los factores asociados a mortalidad en el CS fueron la edad, la presencia de shock séptico, y falta de control de foco adecuada.

2. SUMMARY

Title: Study of the Impact of New TEchnologies and rapid techniques in sepSIS (SINTESIS project).

Introduction: new technologies have significantly improved the microbiological diagnosis of sepsis. However, they have a high cost and so far studies on their clinical impact show variable results.

In the present project we evaluate the clinical impact of some new technologies applied in samples other than blood cultures from patients with suspected sepsis or severe infections, accompanied by advice from an infectious disease (ID) specialist. In addition, we evaluated the implications that the implementation of the sepsis code has for a microbiology laboratory and an ID service.

Material and methods: this project was carried out at the Hospital General Universitario Gregorio Marañón, a 1,349-bed hospital serving approximately 750,000 inhabitants. The methodology of the three parts of the project is described below:

- **PART 1:** Real-life impact of using multiple PCR syndromic panels for severe infections.

Prospective study conducted between October 2018 and September 2019 in hospitalized adult patients with suspected infection and upper respiratory tract, stool or cerebrospinal fluid (CSF) specimen in which multiplex PCR panels were performed. The outcome was reported by an ID specialist.

- **PART 2:** Study of the impact of new technologies and rapid techniques in patients with suspected sepsis of urinary origin.

Prospective matched-cohort study comparing the impact of a rapid diagnostic algorithm (incubation and detection of growth in Alfred 60/AST, identification of the pellet obtained by MALDI-TOF, performance of rapid antibiogram by Alfred 60/AST and detection of resistance mechanisms in enterobacteria) in urine samples from a cohort of adult patients with suspected urinary sepsis (April 2023-October 2023), versus a cohort of patients with similar

characteristics in whom only conventional diagnosis is performed (September 2022-March 2023).

- **PART 3:** Sepsis alert, implications for a microbiology and ID department.
Prospective observational study evaluating the first patients with sepsis alert (SA) activation between November 2022 and June 2023.

Objectives:

- To evaluate the performance of multiplex PCR syndromic panels and the treatment adjustment made following their results. To compare the clinical impact of a positive versus a negative result.
- To evaluate the performance of a rapid diagnostic algorithm on urine samples from patients with suspected urinary sepsis and to measure its clinical impact versus not performing it.
- To evaluate the characteristics of the first patients with a sepsis alert (SA) in our center, the impact of SA in the microbiology laboratory and in ID consultations, whether there is a clinical impact of a laboratory alert or ID assessment on patient prognosis, and to evaluate factors related to mortality.

Results:

- **PART 1:** 146 samples from 142 patients were included (46 stool samples, 51 nasopharyngeal exudates and 49 cerebrospinal fluids). An etiological diagnosis was reached in 63 patients (44.5%): by rapid techniques in 41 (28.9%), by conventional diagnosis in 8 (5.6%) and by both in 14 patients (9.9%). Time to result was 2.7 hours for multiplex panels versus 76 hours for conventional diagnosis. Rapid reporting led to early adjustment of antimicrobial therapy in 45.1% of patients. Patients with a positive panel result had greater treatment adjustment, lower antibiotic consumption, fewer complementary tests and shorter hospital stay, compared to those with a negative result.
- **PART 2:** The rapid diagnostic algorithm early identified 92.8% of urine isolates and Alfred 60/AST provided antibiotic sensitivity in 93.2% of enterobacteria in 7.2 hours versus more than 72 hours by conventional diagnosis, with good

agreement between the two. No significant differences were observed between the baseline characteristics of the cohorts and a significant reduction of: 12% in antibiotic consumption, 14% in intravenous antibiotic days, 58% in the need for Intensive care unit (ICU) admission, 49% in overall mortality, in addition to a tendency to reduce hospital stay and ICU stay.

- **PART 3:** the first SA patients of our center had a median age of 72 years, multiple comorbidities and mostly community infections. Adequacy of antibiotic treatment was over 90% and mortality 15.6%. CS samples constituted 1% of all samples received for bacteriology. The SA constituted 8% of all IE interconsultations. Urgent call to the laboratory was associated with greater performance of rapid techniques, greater early diagnosis and faster de-escalation with a non-significant trend to shorter hospital stay and lower antibiotic consumption. In the multivariate analysis, age, severity (septic shock) and inadequate focus control were associated with mortality.

Conclusions:

- Multiple PCR panels showed higher and faster diagnostic yield than conventional, and allowed early treatment adjustment in almost half of the patients. Positive results have greater impact than negative results.
- Our rapid diagnostic algorithm provided early identification and sensitivity in more than 90% of patients, with impact on reducing antibiotic consumption and cost, need for ICU admission and overall mortality.
- The first SA patients in our center were elderly patients, with multiple comorbidities, mostly community-acquired infections, high adequacy of empirical treatment and low mortality.
- The impact of the SA was greater in the ID consultation area than in the microbiology laboratory and our data suggest a low activation of the SA.
- Early alert to the laboratory was associated with more rapid techniques, earlier microbiological diagnosis and faster de-escalation.
- The factors associated with mortality in the SA were age, the presence of septic shock, and lack of adequate focus control.

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades infecciosas han sido una de las primeras causas de mortalidad en el ser humano a lo largo de la historia. Hoy en día, a pesar de los antibióticos disponibles y de los grandes avances médicos, la sepsis continúa estando entre las primeras causas de mortalidad en todo el mundo. Para la Organización Mundial de la Salud constituye un auténtico problema de salud global, que afecta a más de 40 millones de personas cada año.² De ahí que exista un interés constante y creciente por investigar aspectos que puedan contribuir a mejorar su manejo y por tanto su pronóstico. Estos aspectos van desde el estudio de su etiopatogenia o la evaluación de factores que permitan una detección precoz hasta la búsqueda de tratamientos tanto de soporte como antimicrobiano que tengan impacto en su pronóstico.

Desde el punto de vista de las enfermedades infecciosas y la microbiología, y especialmente tras el inicio de la “crisis antibiótica”, los principales esfuerzos en la investigación de la sepsis van dirigidos hacia la obtención de un diagnóstico microbiológico rápido que permita un tratamiento antimicrobiano efectivo y dirigido lo antes posible.

1. PEQUEÑO RECUERDO HISTÓRICO

La palabra sepsis deriva del griego [σηψις], que significa “putrefacción” y fue introducido por Hipócrates en el siglo IV a.C. como un proceso por el cual la carne se descompone y las heridas se infectan.³ La interpretación de este fenómeno pasó de ser atribuida a conceptos mágico-religiosos al humoralismo clásico que dominó la medicina occidental durante miles de años. En la Edad Media, una de las principales citas bibliográficas referentes a la sepsis es del médico de la Escuela de Salerno Matthaeus Silvaticus (circa 1280- circa 1342), que escribió una de las más importantes enciclopedias médicas de la Edad Media (*Pandactae Medicinae*). En este texto aparecen los términos “Sepsis: Putredo” y “Séptica Virtus: Putredine inducens”, en referencia al concepto griego de la sepsis.⁴

En el siglo XVII, el holandés Anton van Leeuwenhoek descubre, tras su ensamblaje de lentes pulidas por él mismo, la presencia de “animáculos” no visibles al ojo desnudo.

Este descubrimiento, que le convierte en el padre de la microbiología, tardará en tener un sentido práctico hasta las consideraciones de los siglos posteriores que comentaremos aquí.

En detrimento del humoralismo galénico, hacia finales del siglo XVIII comienza a consolidar en la comunidad médica la aproximación anatomopatológica de la enfermedad iniciada por Morgagni. Rudolph Virchow (1821 – 1902) postuló la teoría celular (*Omnis cellula e cellula*), que invitaba a encontrar las causas de la enfermedad en los tejidos y en las estructuras celulares y uno de sus estudiantes, Julius Cohnheim (1839-1884), publicó en 1873 “Nuevos estudios sobre la inflamación”, que supuso un gran avance en el entendimiento de la quimiotaxis, la diapedesis y los factores que influyen en la inflamación.^{5 6}

Durante el siglo XIX se puede recopilar cantidad de evidencia de la responsabilidad de las bacterias en la sepsis. El estudiante alemán Edwin Klebs (1834-1913), ayudante de Virchow, revisó al microscopio múltiples muestras de autopsias que recogió como médico militar en la guerra Franco-Prusiana en 1879 y encontró bacterias en casi todos los casos. Supuso erróneamente que todas eran el mismo tipo de microorganismo, al que llamó *Microsporon septicum*. Fue uno de los primeros científicos en ver y relacionar lo que nadie había visto antes: los agentes causantes de la sepsis y su papel en el fenómeno.⁷ En Francia, Louis Pasteur publicó en 1865 los resultados en los que descarta la generación espontánea de vida. Sus estudios sobre la fermentación le permitieron conocer que las enfermedades contagiosas podrían estar causadas por organismos microscópicos y constituyeron las bases sobre las que otros pudieron desarrollar los conceptos de asepsia y antisepsia. En Alemania, Robert Koch consolidó la bacteriología como una disciplina y estudió la etiología bacteriana de varias enfermedades, especialmente infecciones de heridas e incisiones quirúrgicas. En 1885 publicó el libro “Untersuchungen über die Aetiologie der Wundinfektionskrankheiten” donde expone sus experimentos infectando heridas de animales con sustancias pútridas, trabajo que constituyó el borrador de lo que se denominaría los postulados de Koch.⁸ Gracias al médico escocés Alexander Ogston (1844-1929) esta relación de las bacterias con la sepsis pudo ser demostrada también en humanos. Ogston describió

dos tipos de cocos: *Staphylococcus* y *Streptococcus*, que estaban presentes en la sangre y el pus de muchos pacientes sépticos.⁷

El cirujano inglés Joseph Lister (1827-1912) observó que las fracturas con piel intacta se curaban sin infectarse mientras que en las fracturas abiertas la sepsis y las infecciones eran frecuentes. Cuando el trabajo de Pasteur llegó a sus manos pudo por fin ver la conexión entre sus observaciones en las heridas y las bacterias microscópicas responsables de la fermentación.^{4,9} En 1892 Richard Pfeiffer identificó la endotoxina que producía el shock séptico in vivo, distinguiéndola de las toxinas producidas en los cultivos bacterianos in vitro.¹⁰

A principios del siglo XX, Sir William Osler fue el primero en describir la sepsis como una reacción del propio cuerpo humano: “salvo en casos excepcionales, parece que el paciente muera por la respuesta de su cuerpo a la infección más que por la propia infección”.¹¹

A pesar del inicio de la era antibiótica, tras el descubrimiento de la penicilina por Fleming, Chain y Florey, la sepsis continúa siendo uno de los mayores retos en la medicina intensiva donde es una de las principales causas de mortalidad. Se calcula que, tras 40 años de investigación exhaustiva, la mortalidad de la sepsis se ha reducido solo un 10%.^{12,13}

Por otro lado, a día de hoy la sepsis carece de un patrón oro diagnóstico validado. Se debe pensar en ella en cualquier paciente con infección que tenga datos de disfunción orgánica pero no existe una definición uniforme. Es por ello que en diferentes conferencias de consenso se ha intentado llegar a unos criterios homogéneos que puedan ser aplicables en diferentes ámbitos.

2. DEFINICIONES

El término “sepsis” como un síndrome sistémico fue introducido por primera vez en 1876 (<https://www.merriam-webster.com/dictionary/sepsis>). Los primeros criterios para definirlo fueron enunciados por Bone *et al*¹⁴ en 1987 con el fin de definir criterios de inclusión de pacientes candidatos a ensayos clínicos sobre el uso de esteroides sistémicos en las primeras fases de la enfermedad.

En 1991, en la conferencia de consenso del American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine^{15,16} se establecieron los siguientes conceptos para definir la sepsis:

- SIRS (Systemic Inflammatory Response Syndrome): presencia de 2 o más de los siguientes:
 - Temperatura corporal mayor de 38°C o menor de 36°C.
 - Frecuencia cardiaca mayor a 90 latidos por minuto.
 - Frecuencia respiratoria mayor a 20 respiraciones por minuto o hiperventilación con PaCO₂ menor de 32 mmHg.
 - Recuento leucocitario mayor 12.000 células/mm³, menor de 4.000 células/mm³ o más de 10% de células inmaduras.
- Sepsis: SIRS causado por una infección.
- Sepsis grave: si además de lo anterior, se asocia disfunción orgánica.
- Shock séptico: hipotensión inducida por sepsis a pesar de resucitación adecuada con fluidos.

Debido a la inespecificidad de estos criterios evaluada en diversos estudios, estas definiciones fueron revisadas en 2001 (Sepsis-2)¹⁷ sin ofrecer realmente alternativas novedosas por la falta de evidencia. A pesar de las limitaciones de estos conceptos, estas definiciones permitieron estandarizar tratamientos y crear guías de práctica clínica.

En los últimos años se ha avanzado mucho en el conocimiento de la fisiopatología de la sepsis y se ha demostrado que las infecciones producen una respuesta muy compleja y variable del huésped. Las definiciones de sepsis basadas en SIRS han sido criticadas por su alta sensibilidad y baja especificidad. En un estudio que evaluó los criterios de SIRS para predecir una infección confirmada microbiológicamente ¹⁸, se obtuvo una sensibilidad de 70,6%, especificidad de 37,5%, valor predictivo positivo de 63,7% y valor predictivo negativo de 45,1%.

Por ello, estas definiciones se replantearon en febrero de 2016, publicándose el tercer consenso internacional de Sepsis-3.¹⁹ En este consenso, un grupo de trabajo formado por expertos en sepsis evaluó y actualizó las definiciones. La sepsis se define desde entonces como: “la disfunción orgánica potencialmente mortal causada por una respuesta disregulada del huésped a la infección”.

Resumidamente, lo que según criterios de 1991-2001 era “sepsis”, desde el consenso Sepsis 3 se considera “infección”, y lo que previamente era “sepsis grave” pasa a ser considerado “sepsis”. No se modifica el significado del concepto shock séptico que se mantiene, aunque con algún cambio en su definición (Tabla 1).

Para la identificación de la disfunción orgánica, el grupo propone utilizar dos escalas basadas en “Sequential Organ Failure Assessment” SOFA. Una de ellas, qSOFA (quick SOFA), que se pueda realizar a la cabecera del enfermo únicamente con criterios clínicos (nivel de conciencia, frecuencia respiratoria y tensión arterial) en la que 2 o más puntos serían criterio de disfunción orgánica. La otra escala principal, SOFA, será la preferible para pacientes que requieren ingreso en una Unidad de pacientes críticos, ya que, a pesar de requerir varios parámetros para su cálculo, es más completa y precisa. Una vez disponibles todos parámetros clínicos, de laboratorio, radiológicos, fisiológicos y microbiológicos se confirmará el diagnóstico de sospecha.

Tabla 1. Cambios recientes en las definiciones de sepsis de acuerdo a los diferentes consensos.

	Antiguas definiciones ^{16,17}	Nuevas definiciones ¹⁹
SEPSIS	Sospecha de infección + SIRS ^a	Sospecha de infección + qSOFA ^b ≥ 2 o incremento en escala SOFA ^c ≥ 2
SEPSIS GRAVE	Sepsis + Hipotensión, hipoxia, elevación de lactato u otros marcadores de disfunción orgánica específicos.	CATEGORÍA ELIMINADA
SHOCK SÉPTICO	Sepsis + Hipotensión mantenida a pesar de resucitación adecuada con fluidos.	Sepsis + Necesidad de vasopresores + Lactato > 2

ABREVIATURAS: ^aSIRS: síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, ^bSOFA: systemic organ failure assessment.

A pesar de que la presencia de definiciones ha permitido unificar criterios, debido a la ausencia de un marcador específico de sepsis, aún existe una gran variabilidad de datos epidemiológicos, clínicos, microbiológicos etc. debido a la utilización de diferentes definiciones en los numerosos estudios que existen en la investigación de la sepsis. Por este motivo, continúan los esfuerzos por encontrar la mejor definición, que sea precisa, aplicable universalmente, uniforme y sobre todo que permita su reconocimiento precoz para la instauración de un tratamiento temprano que tendrá como consecuencia un mejor pronóstico.

2.1 Campaña para sobrevivir la sepsis (Surviving Sepsis Campaign)

Acompañando a estos intentos de definir la sepsis de una forma fiable, en el año 2002 surgió una campaña para disminuir la mortalidad por medio de la elaboración de unas guías de práctica clínica,^{17,20} con el nombre de “Surviving Sepsis Campaign”, que han sido revisadas periódicamente^{21,22} en función de la evidencia disponible.

Diversos estudios han demostrado que el cumplimiento de las mismas ^{23,24}, y especialmente la precocidad en la administración del antibiótico, mejora la supervivencia y los costes asociados a la sepsis.^{25-29 30}

3. EPIDEMIOLOGÍA DE LA SEPSIS

Es difícil establecer la epidemiología global de la sepsis debido a la escasez de datos, especialmente de los países en vías de desarrollo. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), se estima que afecta a más de 40 millones de personas cada año, pudiendo causar hasta 6 millones de muertes con una mayor mortalidad en países en desarrollo.^{24,31} La mortalidad y la estancia hospitalaria son mayores en pacientes con sepsis según un estudio realizado a nivel mundial^{32,33} en el que se observó una mortalidad de 25,8% en los pacientes con sepsis *versus* 12,1% en los pacientes sin sepsis durante el ingreso en UCI, y de 35,3% vs 16,7% respectivamente, en el ingreso hospitalario. Estas tasas variaron en función de la región estudiada, desde 11,9% en Oceanía a 39,5% en África. La estancia hospitalaria es también mayor en los pacientes con sepsis que sin ella (6 días *versus* 2 días).

Se estima que la incidencia de la sepsis está aumentando debido al aumento de la esperanza de vida, el aumento de las medidas invasivas, la mayor supervivencia de los pacientes con cáncer y al mayor número de pacientes sometidos a tratamiento inmunosupresor.²

Existen pocos datos acerca de la sepsis en España. En un estudio observacional multicéntrico realizado en varias UCIs españolas ³⁴ durante 3 meses, calcularon una incidencia de 25 casos de sepsis grave que requiere ingreso en UCI por 100 000

habitantes por año, con una mortalidad de 14.8% en las primeras 48 horas y de 54.3% durante el ingreso hospitalario. Azkarate *et al*²² describen un ascenso en la incidencia de pacientes con sepsis grave o shock séptico del año 2008 al año 2013, con una tendencia al descenso en la mortalidad.

Esteban *et al*³⁵ estudiaron la mortalidad de los pacientes con sepsis en 3 hospitales de Madrid durante 4 meses en el año 2003, con atención a unos 600 000 habitantes en total. Se identificaron 702 pacientes, lo que supone una incidencia de 367 casos por 100 000 habitantes adultos al año y una incidencia acumulada en los pacientes ingresados en el hospital de 4,4%. De ellos, 199 tenían criterios de sepsis grave y 59 de shock séptico (31 casos por 100 000 habitantes al año). Sólo el 32% de los pacientes con sepsis grave fueron ingresados en la UCI. La mortalidad global fue de 12,8%; 20,7% en los pacientes con sepsis grave y 45,7% en los pacientes con shock séptico.

Iñigo *et al*³⁶ analizaron el Conjunto Mínimo de Datos Hospitalario concretamente en la Comunidad de Madrid en el año 2001 mediante la búsqueda de altas con diagnóstico de infección y fallo orgánico. Encontraron 6968 episodios, con una incidencia anual de 141/100 000 habitantes (2308/100 000 para los mayores de 84), en los que el 59,7% eran hombres, la media de edad 62,5. Encontraron una mortalidad de 33% y una media de estancia de 28,9 días. Los costes anuales calculados fueron 70 millones de euros. Como comparación, en el año 2001 hubo 5.306 altas por infarto agudo de miocardio, con una mortalidad intrahospitalaria de 10,8%.³⁷

4. ETIOLOGÍA Y MICROBIOLOGÍA DE LA SEPSIS

En 2012, la Federación Mundial de Sociedades de Medicina Crítica e Intensiva llevó a cabo una encuesta de datos de Unidades de Cuidados Intensivos (UCI) en todo el mundo, en la que participaron 730 UCIs de 84 países ^{38,39} incluyendo un total de 10.069 pacientes. De ellos, 2.973 (29,5%) tenían diagnóstico de sepsis. El foco de infección más común fue respiratorio (67,4%) seguido de abdominal (21,8%). Se reportaron resultados microbiológicos positivos en 69,6%, dos tercios de los pacientes tenían infección por Gram negativos y la mitad por Gram positivos (51,1% tenían más de un aislamiento). Se observaron diferencias microbiológicas a lo largo del globo con los Gram positivos mucho más infrecuentes en el Sudeste Asiático (21,4%) que el resto del mundo. *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) fue más frecuente en Oriente Medio (14,4%) y Norteamérica (12,8%) que en Europa occidental (6,1%). Aislados de *Klebsiella* spp se observaron con mayor frecuencia en África (31,3%), Europa del Este (28,5%) y Sudamérica (24,7%). *Pseudomonas* spp fue más frecuente en Europa del Este (21,1%) y Sudamérica (20,4%). Los hongos fueron la causa de infección en el 14,5% en Europa, pero solo en el 5,1% en Norteamérica.

En un estudio multicéntrico español ya mencionado previamente ³⁴ se observó que un 51.5% de las infecciones causantes de sepsis graves eran adquiridas en la comunidad y que el foco de infección más habitual era pulmonar (44,8%) seguido de abdominal (31.5%), urinario (6.2%), relacionado con catéter (4.6%), piel y partes blandas (3.1%) e infección de herida quirúrgica (3.1%). Se llegó a un diagnóstico microbiológico en 64.5% de los episodios de sepsis, aislándose bacilos Gram negativos en un 50% de ellos (siendo *Escherichia coli* el más frecuente seguido por *Pseudomonas aeruginosa*), cocos gram positivos en un 40,3% (*Staphylococcus aureus* el más frecuente seguido de *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus coagulasa* negativos y *Enterococcus faecalis*) y hongos en 5.8% (la mayoría *Candida albicans*). En cuanto a la adecuación del tratamiento antibiótico empírico, evaluado en función del antibiograma obtenido finalmente en aquellos en los que se llegó a un diagnóstico microbiológico, se consideró apropiado en 78.9% e inapropiado en 18.7%.

5. FACTORES PRONÓSTICOS

A pesar de que la incidencia de sepsis ha aumentado, diversos estudios muestran un descenso en la mortalidad ^{32,33} probablemente debida a la mejoría del diagnóstico precoz y a la implementación de un tratamiento rápido.

Es evidente que existen factores pronósticos no modificables tales como la edad, la comorbilidad, el consumo previo de tóxicos, la inmunosupresión previa etc. y factores relacionados con la gravedad de la infección tales como la puntuación en escalas de gravedad como el score SOFA.³³

Sin embargo, la elección del tratamiento antibiótico y su administración precoz han mostrado ser un factor clave en la supervivencia. En un conocido estudio publicado por Kumar *et al*²⁹ en 2006 se observó que la supervivencia en pacientes con shock séptico dependía directamente del tiempo de hipotensión previo al inicio de tratamiento antibiótico, de manera que si se instaura un tratamiento antibiótico en la primera hora, la supervivencia es del 80%, mientras que por cada hora de retraso existe un aumento proporcional de mortalidad, siendo menor del 50% si el retraso es de 4 horas y 15-20% a partir de las 12 horas. (Figura 1). Morrel *et al*⁴⁰ demostraron también el impacto negativo en la supervivencia en función del tiempo de retraso hasta la administración de antifúngico en pacientes con candidemia. Estos resultados se confirmaron en estudios posteriores,^{27,30,41-45} y en un espectro más amplio de pacientes con sepsis, principalmente en un estudio multicéntrico realizado en 165 UCIs de Europa, Estados Unidos y Sudamérica⁴² que incluyó a 17.990 pacientes encontrando nuevamente una relación directamente proporcional entre la mortalidad y el tiempo hasta la administración de antibiótico.

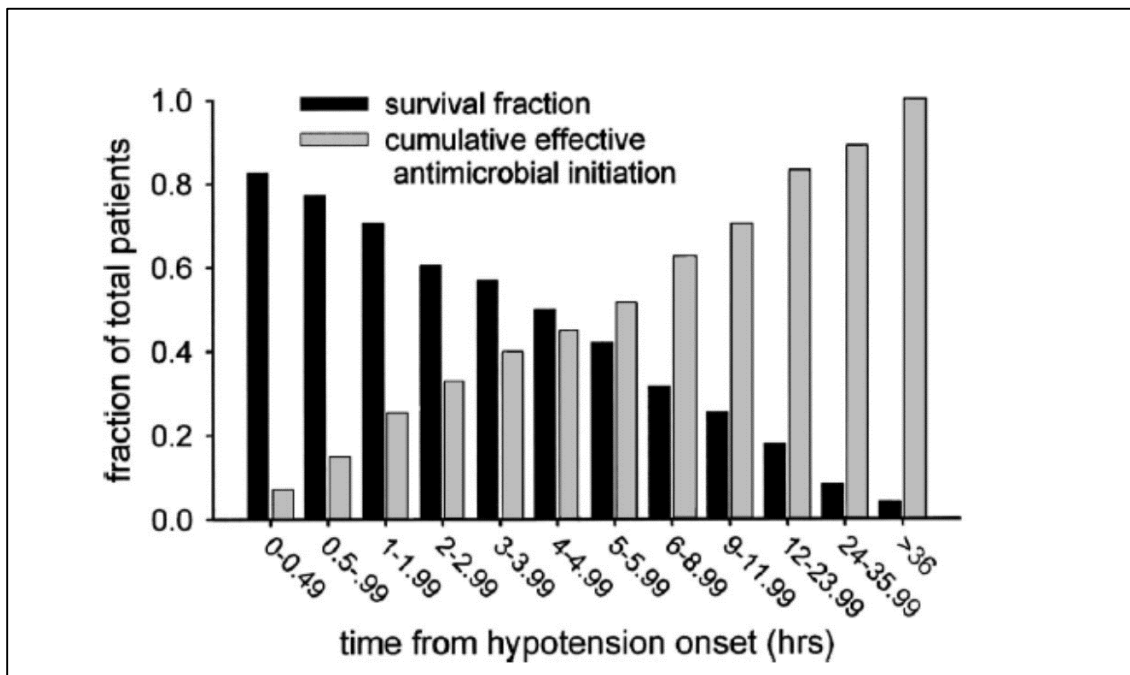


Figura 1. Efecto del momento de inicio de tratamiento antibiótico tras la presencia de hipotensión en la supervivencia de pacientes con shock séptico.²⁹

La principal limitación y crítica de estos trabajos, es que se centraron principalmente en el tiempo hasta la administración de antibiótico, obviando otros factores fundamentales como si la elección del antibiótico o su dosis era adecuada, si existía una resucitación óptima o si existía un correcto control del foco de infección. Efectivamente en otros trabajos se ha evidenciado que en pacientes con sepsis grave o shock séptico, una adecuada resucitación y sobre todo la adecuación del tratamiento antibiótico, además del momento de administración, son factores clave en la supervivencia.^{46,47}

Se estima que el tratamiento antibiótico empírico es inadecuado en entre el 20 y el 35% de los pacientes con sepsis³⁴, siendo mayor la inadecuación en pacientes con infecciones por Gram negativos⁴⁸, lo cual produce un aumento en la mortalidad y en la estancia hospitalaria.

El aumento creciente de bacterias con resistencia a antibióticos y la aparición de nuevos mecanismos de resistencia tiene como consecuencia un mayor número de

pacientes con tratamiento inadecuado y una necesidad de ampliar el espectro del antibiótico empírico. Algunos estudios sugieren un peor pronóstico de los pacientes con sepsis por enterobacterias productoras de carbapenemasas ^{49-52 53} y otros bacilos Gram negativos multi-resistentes^{54 55} aunque probablemente sea la inadecuación del tratamiento antibiótico la responsable.^{56,57}

Por otro lado, la necesidad de ampliar el espectro del tratamiento antibiótico empírico para asegurar su adecuación en pacientes con sepsis en la era de la multi-resistencia, tiene un impacto negativo en la ecología bacteriana de los centros hospitalarios así como en el paciente, con mayor estancia hospitalaria y posibilidad de desarrollar infecciones nosocomiales y diarrea por *Clostridioides difficile*.⁵⁸⁻⁶⁰

Por este motivo, los laboratorios de microbiología están especialmente implicados en la consecución de un diagnóstico microbiológico precoz en estos pacientes y se han desarrollado numerosas técnicas que utilizan la tecnología más avanzada disponible para realizarlo, especialmente indicada para diagnóstico de bacteriemia y utilizando la sangre como muestra principal. Algunos estudios sugieren que los pacientes con cultivos negativos tienen mayor mortalidad, lo cual depende de la capacidad diagnóstica del centro donde se encuentre el paciente.⁶¹

6. DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO CONVENCIONAL DE LA SEPSIS

Llegar a un diagnóstico etiológico es fundamental por los motivos anteriormente expuestos. En primer lugar, es importante tener en cuenta una adecuada extracción, transporte y procesamiento de las muestras.

6.1. Fase pre-analítica

Existen varios factores que pueden contribuir a acelerar el diagnóstico microbiológico de la sepsis en la fase pre-analítica.⁶²

En primer lugar, es primordial extraer y procesar precozmente muestras biológicas del foco sospechoso de la infección además de los hemocultivos, y si es posible, antes de iniciar el tratamiento antimicrobiano siempre que no retrase el mismo. La toma de estas muestras tras inicio de antibioterapia reduce considerablemente la rentabilidad del diagnóstico microbiológico, especialmente de los cultivos.⁶³

En segundo lugar, en el caso de la extracción de hemocultivos, son claves para la rentabilidad del diagnóstico microbiológico la antisepsia cutánea que evitará contaminaciones del hemocultivo, el volumen de sangre, relacionado con el peso del paciente, y el momento de extracción.^{64,65}

En tercer lugar, el transporte de las muestras rápidamente al laboratorio y el tiempo hasta la incubación de los hemocultivos también tendrá un impacto directo en la sensibilidad, interpretación y relevancia clínica de los mismos. La recepción de muestras en el laboratorio 24 horas al día 7 días a la semana puede acelerar el diagnóstico. Además, idealmente se debe notificar al laboratorio ante cualquier sospecha clínica de sepsis para acelerar y priorizar el procesamiento de las muestras del paciente, idealmente con el apoyo de sistemas informáticos que faciliten la generación de alertas y el control del tiempo de respuesta.⁶⁶

6.2 Fase analítica

Los hemocultivos son el pilar del diagnóstico microbiológico de la sepsis debido a que la cantidad de microorganismos presentes en sangre en una bacteriemia es escasa (generalmente <20 UFC/ml). Por ello no es posible obtener el diagnóstico mediante visualización directa de la sangre y las técnicas de detección de patógenos en sangre total deben ser muy sensibles. Además, la técnica es asequible para la mayoría de

laboratorios y la obtención de un cultivo permite determinar la sensibilidad a antibióticos.

Una vez extraídos y transportados al laboratorio, las botellas de hemocultivos deben introducirse lo antes posible en sistemas automáticos de incubación. Habitualmente los incubadores disponen de un sistema informático que registra la hora de entrada de la botella y tiempo hasta la positividad, conectado al sistema informático del laboratorio, de manera que una vez que detectan crecimiento se emite una alarma para que el personal del laboratorio pueda retirar la botella correspondiente y comenzar la cascada diagnóstica lo antes posible. Esta cascada es iniciada habitualmente por una tinción de Gram, la cual ya aporta una información muy importante ya que dependiendo del tipo de microorganismo puede variar el tratamiento antibiótico y la orientación diagnóstica hacia el foco de la sepsis o de la bacteriemia. A continuación, se realizan subcultivos en medio sólido que serán valorados habitualmente en la siguiente jornada laboral, cuando se procederá a su identificación y a la realización de test de sensibilidad antibiótica estandarizado.

Los tiempos de respuesta de un laboratorio de Microbiología varían entre 24 y 48 horas para la identificación del microorganismo y entre 48 y 72 h para la obtención de un antibiograma (Figura 2).

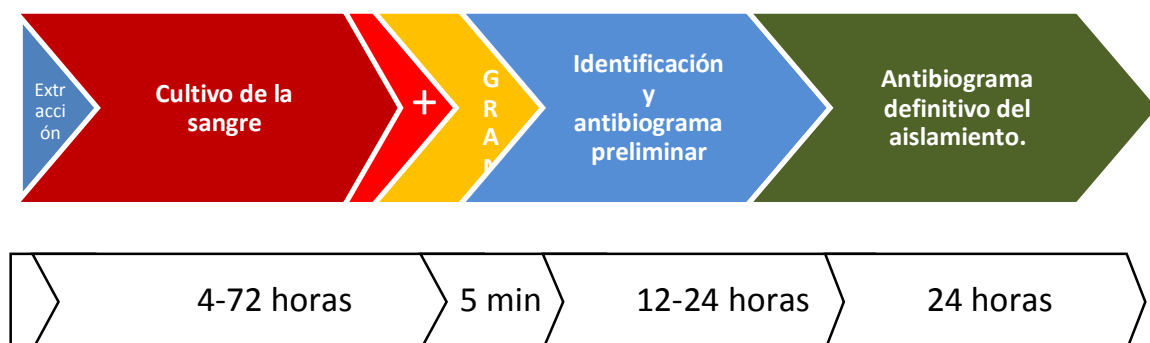


Figura 2. Diagnóstico microbiológico convencional de la bacteriemia

Las nuevas tecnologías disponibles tienen la posibilidad de optimizar estos tiempos, como analizaremos a continuación.

7. NUEVAS TECNOLOGÍAS PARA EL DIAGNÓSTICO DE SEPSIS EN SANGRE O HEMOCULTIVOS

En los últimos años las nuevas tecnologías han revolucionado los laboratorios de Microbiología, y han permitido acelerar el diagnóstico etiológico de la sepsis sin perder precisión.

En primer lugar, se han desarrollado sistemas de cultivo de sangre automatizados con algoritmos óptimos que aceleran el crecimiento bacteriano y que permiten un menor tiempo hasta la positividad.⁶⁷

Por otro lado, la espectrometría de masas y la biología molecular han cambiado completamente la identificación de microorganismos en los laboratorios de Microbiología. En el campo de la sepsis se han desarrollado múltiples algoritmos para poder realizar identificación bacteriana directamente en la muestra obtenida del paciente, aplicándose mayoritariamente en sangre o hemocultivos. A continuación, se describen las técnicas que han alcanzado un mayor desarrollo y sobre las que se dispone de más estudios:

En la Figura número 3, adaptado de Peri *et al*,⁶⁸ se muestra la potencial reducción del tiempo hasta el diagnóstico (turnaround time, TAT) que las técnicas moleculares realizadas en sangre pueden conseguir frente a los cultivos convencionales.

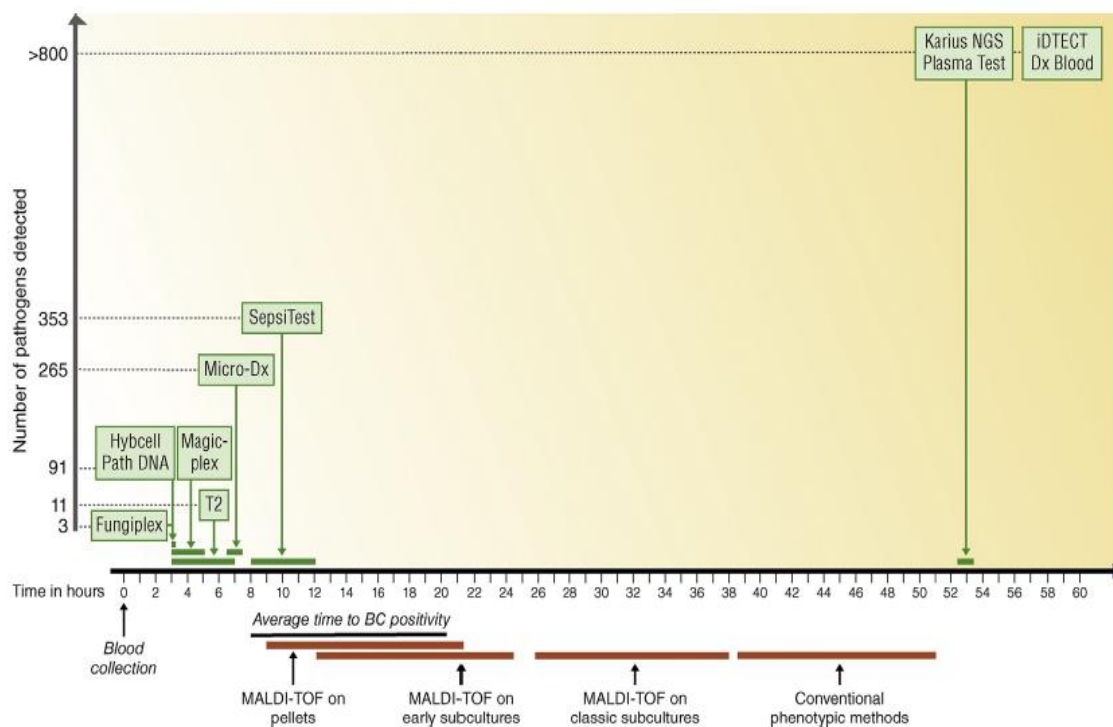


Figura 3. Técnicas independientes de cultivo para el diagnóstico de sepsis, número de patógenos detectados y comparación de TAT frente a técnicas convencionales. ⁶⁸

7.1 Técnicas sobre muestra directa de sangre

El rendimiento de las tecnologías basadas en la amplificación de ácidos nucleicos se ve afectado por la carga bacteriana en la muestra y la presencia de inhibidores de PCR en la sangre, por lo que a menudo se asocian con el cultivo de enriquecimiento.

Sin embargo, se han realizado numerosos intentos y se han logrado avances en su utilización en sangre total. Algunas de las pruebas basadas en esta tecnología han sido comercializadas. ⁶⁸ y se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Tecnologías comercializadas basadas en amplificación de ácidos nucleicos sobre sangre total para el diagnóstico de bacteriemia

Tecnología	Ensayo (fabricante)	TAT ^a (h)	Microorganismos detectados	Genes de R ^b	Complejidad	S/E
PCR múltiple a tiempo real	Magicplex [™] Sepsis Real-Time test (Seegene)	3-5	73 Gram positivos, 12 Gram negativos, 6 hongos	<i>mecA</i> , <i>van A/B</i>	Automatizada en varios pasos/personal entrenado	29-65%/66-95%
	Fungiplex [®] Candida (Bruker Daltonik)	3	<i>Candida</i> spp. (<i>C. albicans</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>C. dubliniensis</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. krusei</i>)	-	Parcialmente automatizado/personal entrenado	100%/94,1%
PCR basada en tecnología de resonancia magnética	T2Candida [®] panel (T2Biosystems)	3-5	<i>Candida</i> spp. (<i>C. albicans</i> / <i>C. tropicalis</i> , <i>C. glabrata</i> / <i>C. krusei</i> and <i>C. parapsilosis</i>)	-	Totalmente automatizado/personal entrenado	91%/99%
	T2Bacteria [®] panel (T2Biosystems)	4-7	<i>Enterococcus faecium</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Acinetobacter baumannii</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Escherichia coli</i>	-	Totalmente automatizado/personal entrenado	90%/96-98%

ABREVIATURAS: ^aTAT, turn around time; ^bR, resistencia; ^cPCR, polymerase chain reaction.

7.1.1 Magicplex[™] Sepsis y Fungiplex[®] Candida

La prueba en tiempo real Magicplex[™] Sepsis (Seegene, Seúl, República de Corea) se basa en PCR en tiempo real, detectando más de 90 microorganismos y tres genes de resistencia directamente a partir de sangre total en 3 a 6 horas. Un estudio mostró que los pacientes con resultados positivos en Magicplex y negativos en los cultivos sanguíneos eran más propensos a estar recibiendo antibióticos en comparación con pacientes con resultados positivos solo en los cultivos sanguíneos, lo que sugiere que

esta prueba podría ser útil durante el tratamiento antimicrobiano. Sin embargo, a pesar de una buena concordancia entre los resultados de MagiPLEX y los cultivos sanguíneos y una alta especificidad de la prueba (95%), su sensibilidad sigue siendo baja (29%-47%), lo que dificulta su aplicación clínica.⁶⁸⁻⁷⁰

En cuanto a la prueba Fungiplex® Candida (Bruker Daltonik, Bremen, Alemania), también basada en PCR en tiempo real para detectar *Candida* spp. a partir de sangre total en 3 horas, ha mostrado un buen rendimiento en unidades de cuidados intensivos.⁷¹

7.1.2 T2 Resonancia Magnética

En los últimos años ha surgido una tecnología completamente nueva: la asociación del diagnóstico molecular con la resonancia magnética miniaturizada, llamada resonancia magnética T2 (T2MR; T2Biosystems, Lexington, MA, EE. UU). Se trata de un sistema completamente automatizado en el que el ADN microbiano amplificado por PCR se une por hibridación a sondas enriquecidas con nanopartículas superparamagnéticas, lo que permite la detección e identificación de los amplicones mediante cambios en la señal magnética. Específicamente, el T2MR detecta ácidos nucleicos basándose en dos poblaciones diferentes de nanopartículas superparamagnéticas, que se unen a sondas que hibridan con los extremos 5' y 3' del ADN diana, respectivamente. Tras la hibridación con las sondas, el ADN diana promueve que las nanopartículas se ensamblen en un grupo específico, siendo necesario solo unas pocas copias de ácido nucleico para que la señal del grupo sea detectada en el campo magnético. Estas características permiten al T2MR detectar células microbianas intactas en lugar de ADN circulante libre (cuya importancia clínica es incierta), con un límite de detección de 1 UFC/mL. Los paneles T2Candida® y T2Bacteria® son los primeros ensayos comerciales basados en esta tecnología. T2Candida permite la identificación de las cinco especies más comunes de *Candida* en 3 a 4 horas, informando resultados para tres grupos de especies, basados en la susceptibilidad antifúngica (*Candida albicans*/*Candida tropicalis*, *Candida glabrata*/*Candida krusei* y *Candida parapsilosis*).

El rendimiento de T2Candida se ha evaluado en un estudio multicéntrico ⁷² en pacientes hospitalizados donde se ordenaron cultivos sanguíneos según el estándar de atención cuando se sospechaba bacteriemia. Además, debido a la baja incidencia esperada de candidemia y la baja sensibilidad de los cultivos sanguíneos para la candidiasis, limitando su papel como comparador, se añadió un brazo ficticio al estudio prospectivo. En este brazo, las muestras fueron suplementadas manualmente con títulos clínicamente relevantes de especies de *Candida*, y también se incluyeron controles negativos. En general, T2MR demostró una especificidad y sensibilidad del 99,4% y 91,1%, respectivamente.

Basado en la misma tecnología, el ensayo T2Bacteria puede detectar las seis bacterias del grupo ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*) en 4 a 7 horas. Curiosamente, este ensayo ha mostrado mejor rendimiento cuando se utiliza un criterio de “infección real” como comparador, en lugar de cultivos de sangre positivos, es decir, el mismo microorganismo detectado solo por T2Bacteria fue cultivado a partir de otro tipo de muestra que refleja la fuente de infección ^{73,74}. Este ensayo ha mostrado capacidad para reducir el uso de antibióticos, sin embargo el panel reducido de microorganismos detectados es una limitación importante ⁷⁵.

Un metanálisis publicado por Giannella *et al* ⁷⁶ comparó la utilización de antimicrobianos y recursos con T2MR (incluyendo T2Candida y T2Bacteria) frente a los hemocultivos en pacientes con sospecha de bacteriemia. T2MR se asoció con una transición más rápida a un tratamiento dirigido y a una menor estancia en UCI y en el hospital, sin diferencias en la tasa de mortalidad.

Existen 2 nuevos ensayos no comercializados basados en esta tecnología, el panel T2 resistance[®], que puede detectar 13 genes de resistencia (CTX-M 14, CTX-M 15, CMY, DHA, KPC, OXA-48, NDM, VIM, IMP, vanA\B, mecA/C); y el panel T2Cauris[™], diseñado para detectar las especies emergentes de *Candida* multirresistentes.

7.1.3 Otras técnicas

Varios tests de diagnóstico sobre sangre completa han sido retirados del mercado. El LightCycler® SeptiFast, una prueba de PCR en tiempo real fabricada por Roche en Suiza, fue la primera prueba comercializada para la identificación de patógenos en sangre completa. Fue retirada debido a su baja sensibilidad (65% - 75%).⁷⁷⁻⁷⁹ De manera similar, el multiplex PCR VYOO® fabricado por Analytik Jena en Alemania también fue descontinuado por razones similares.⁸⁰ Otro sistema, el IRIDICA de Abbott en EE. UU., que combinaba una PCR específica para patógenos con la espectrometría de masas basada en ionización por electrospray, fue retirado a pesar de sus resultados prometedores.^{81,82}

Las pruebas basadas en metagenómica tienen un gran potencial, ya que pueden proporcionar un análisis integral del material genético no humano en muestras clínicas, lo que podría transformar el campo de la microbiología diagnóstica. Sin embargo, algunas de estas pruebas tienen limitaciones. Por ejemplo, SepsiTTM de Molzym en Alemania, que se basa en la metagenómica basada en amplicones, tiene una sensibilidad y especificidad del 48% y 86%, respectivamente.⁸² A pesar de su capacidad para detectar infecciones polimicrobianas, su baja sensibilidad y la falta de detección de genes de resistencia dificultan su implementación clínica. Del mismo modo, el ensayo Hybcell Pathogen DNA de CubeDx en Austria, que se basa en la amplificación y secuenciación del rDNA bacteriano y fúngico, tiene una sensibilidad y especificidad reportadas del 63% y 80%, respectivamente, y su evaluación en estudios clínicos aún está pendiente.

La metagenómica “shotgun” (*de escopeta*), otro enfoque basado en *Next Generation Sequencing* (NGS) no dirigido, muestra promesas al proporcionar una secuenciación masiva del contenido genómico de una muestra, lo que potencialmente lleva a la identificación de patógenos y a la caracterización de los determinantes de resistencia asociados. Sin embargo, tiene limitaciones como la identificación frecuente de colonizadores/contaminantes, la falta de estándares y controles bien caracterizados, los largos tiempos de respuesta, la necesidad de personal altamente capacitado y de laboratorios dedicados, además de los elevados costes. Actualmente, muy pocas

pruebas basadas en metagenómica *shotgun* están disponibles comercialmente para el diagnóstico de bacteriemia. Por ejemplo, el iDTECT® Dx Blood test de PathoQuest en Francia es una prueba marcada con CE que muestra resultados prometedores, pero su disponibilidad e implementación está muy limitada. Un estudio prospectivo, multicéntrico y a ciegas ha evaluado el rendimiento de esta prueba en pacientes inmunocomprometidos, mostrando cómo puede detectar más microorganismos clínicamente relevantes en la sangre que los métodos convencionales, con un alto valor predictivo negativo.⁸³

El Karius NGS Plasma Test™ (Karius, Redwood City, CA, EE. UU.) es una prueba desarrollada en laboratorio que está disponible comercialmente en los EE. UU. Fue desarrollada, validada y actualmente se realiza en el laboratorio central de Karius, que está certificado según las Enmiendas de Mejora del Laboratorio Clínico y acreditado por el Colegio de Patólogos Americanos, por lo que no requiere la aprobación de la Administración de Alimentos y Medicamentos de los EE. UU. La prueba se basa en NGS no dirigido de ADN libre de células microbianas del plasma y es capaz de identificar más de 1.000 patógenos clínicamente relevantes. Un estudio reciente ha descrito la validación analítica y clínica de esta prueba informando una concordancia general con los hemocultivos del 93,7%.⁸⁴ Sin embargo, un estudio retrospectivo más reciente sobre los pacientes a los que se realizó una prueba Karius en cinco instituciones estadounidenses durante 1.5 años, mostró cómo el impacto clínico de la prueba, según el equipo tratante, sigue siendo limitado.⁸⁵ Un estudio reciente realizado en China, sugiere que el test podría tener una especial utilidad en pacientes con síntomas leves en los que la rentabilidad de los hemocultivos convencionales es baja.⁸⁶

7.1.4 Consideraciones económicas de estas pruebas

El coste de las pruebas independientes de cultivo es considerablemente más elevado que el de los cultivos convencionales. Sin embargo, este gasto adicional debe ser sopesado con el potencial ahorro de la implementación de la prueba en la duración de

estancia hospitalaria, en el uso de antimicrobianos y el impacto en morbilidad y mortalidad. Hasta la fecha, pocos estudios evalúan el impacto económico de estas pruebas.

7.2. Técnicas sobre hemocultivo positivo:

El siguiente paso tras conocer mediante el sistema informático que un hemocultivo tiene crecimiento (es positivo) es habitualmente la tinción de Gram, que continúa siendo una técnica fácil, rápida y útil. Posteriormente y como alternativa al diagnóstico convencional, existen varias técnicas que podemos aplicar para acelerar el diagnóstico etiológico y la sensibilidad a antibióticos. A continuación exponemos las técnicas más importantes y de las que se disponen más datos, algunas guiadas por la tinción de Gram y otras independientes.

7.2.1 Técnicas de hibridación in situ (FISH)

- AdvanDX-QuickFISH®: Técnica que tiene como diana el RNA 16S, realiza 4 ensayos simultáneamente en 30 minutos tras los cuales se visualiza la fluorescencia por microscopio. Detecta 3 Gram negativos (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*), Gram positivos (*S. aureus*, *SCN*, Enterococo) y 3 especies de *Candida* (*C. albicans*, *C. glabrata* y *C. parapsilosis*). Es más barato que la PCR a tiempo real y tiene impacto clínico cuando va acompañada de intervención, consejo terapéutico y programas de optimización de tratamiento antibiótico.⁸⁷⁻⁹¹
- Accelerate Pheno system-Pheno® Test BC: Identifica el microorganismo en 1.5h vía filtración en gel, FISH y proporciona un antibiograma preliminar generando un fenotipo cuantitativo 5,5h después, por análisis celular morfocinético. Adelanta tiempo de diagnóstico con sensibilidad (S) de 88,7-100% y especificidad (E) de 97-100%.⁹² Detecta bacteriemias polimicrobianas que se escaparían con métodos estándar y permite adelantar la identificación y la sensibilidad antimicrobiana en 23 y 42 horas respectivamente.⁹³

7.2.2 Amplificación de ácidos nucleicos por reacción de la polimerasa en cadena (PCR)

En este apartado incluimos tanto PCR específicas para un patógeno y mecanismos de resistencia como técnicas moleculares de diagnóstico múltiple.

- GeneXpert® MRSA/SA BC y BD MAX MRSA Staph SR/XT

Ambos combinan extracción y amplificación de ácidos nucleicos por lo que prácticamente no requiere de tiempo ni de experiencia del personal en técnicas de biología molecular. Se realizan tras la identificación de cocos Gram positivos en racimo en la tinción de gran del hemocultivo positivo. Detectan *S. aureus* sensible (SAMS) y resistente a meticilina (SARM) en un tiempo de 62 minutos en el caso de GeneXpert y 2 horas en el caso de BD MAX. El uso de estas técnicas ha mostrado mejorar la adecuación del tratamiento antibiótico en la bacteriemia por *S. aureus*, sin impacto en la mortalidad.⁹⁴⁻⁹⁸

- GeneXpert® Carba-R

Detecta únicamente genes de resistencia a carbapenems por producción de carbapenemasas (*blaKPC*, *blaNDM*, *blaVIM*, *blaOXA-48*, *blaIMP*) en 50 minutos. Se utiliza, además de sobre bacterias resistentes crecidas en subcultivos, en muestra de hemocultivo de pacientes con bacteriemia por bacilos Gram negativos en las que existe sospecha de este tipo resistencia, por ejemplo, por colonización previa por un microorganismo productor de carbapenemasas. Un estudio reciente mostró que un algoritmo de diagnóstico rápido utilizando este test para el diagnóstico precoz de las bacteriemias por este tipo de microorganismos tuvo un impacto en la mortalidad de los pacientes.⁹⁹

- Luminex Nanosphere VERIGENE® - BC-GP & BC-GN72

Se trata de una PCR múltiple guiada por tinción de Gram. Realiza extracción de ácidos nucleicos seguido de hibridación con nanopartículas de oro (teóricamente más sensible que fluorocromo). Existen 2 paneles: Gram positivos (detección de 9 especies y 4 géneros de bacterias Gram positivas y 3

genes de resistencia) y Gram negativos (detección de 5 especies y 4 géneros de bacterias Gram negativas y 6 genes de resistencia), de manera que se utiliza uno u otro en función de la tinción de Gram. Requiere 10 minutos de manos y 2.5 h hasta la identificación. Su utilización acompañada de intervención y programa de optimización de tratamiento antibiótico han mostrado disminuir el tiempo hasta un tratamiento óptimo en comparación con el diagnóstico convencional.¹⁰⁰⁻¹⁰³

- BioMérieux - Biofire® Filmarray®

Integra preparación, amplificación y análisis de la muestra por lo que el tiempo de manos es de tan solo 2 minutos, mientras que el tiempo hasta la identificación es de aproximadamente 1 hora. Incluye 27 dianas (Gram positivos, Gram negativos, *Candida* y genes de resistencia). No requiere tinción de Gram previa por estar integrados todos los microorganismos en un mismo panel. Su sensibilidad es de 97,5% y su especificidad 99,8%⁵². Al igual que otras técnicas de PCR múltiple, su utilización acompañada de intervención y optimización de antibióticos ha mostrado reducir el tiempo hasta un tratamiento adecuado así como ser coste-efectiva.^{104,105}

- GenMark DX- ePlex BCID

Se trata de una PCR múltiple guiada por tinción de gram. Dispone de 3 paneles diferentes según la tinción:

- Panel Gram+: 20 dianas, 4 genes de resistencia, pan- *Candida*, pan- GN
- Panel Gram-; 21 dianas, 6 genes de resistencia, pan- GP, pan- *Candida*
- Panel hongos: 16 dianas.

Un estudio comparando este test con el cultivo convencional mostró mayor rapidez en la identificación y el antibiograma de bacilos gram negativos causantes lo que potencialmente permitiría el ajuste precoz de antibioterapia. Su posibilidad de descartar gram positivos también tendría el potencial de

suspender antibióticos frente a estos microorganismos en 63/98 (64.3%) de los casos.¹⁰⁶ No obstante, se necesitan más estudios para evaluar su impacto real.

- Curetis Unyvero™ - BCU

Este panel no requiere tinción de Gram. Tiene como diana 10 Gram positivos, 15 Gram negativos, *M. tuberculosis*, 8 hongos y 16 genes de Resistencia con un TAT de 4 horas. Se trata de un ensayo con muchas ventajas ya que detecta un número significativo de patógenos y mecanismos de resistencia, sin necesidad de tinción de Gram. Un estudio multicéntrico realizado en Alemania concluyó que la aplicación Unyvero BCU proporcionó resultados rápidos y fiables, mejorando el tiempo hasta el diagnóstico con respecto al cultivo convencional. Sin embargo, aún no hay estudios que evalúen su impacto clínico frente a otras técnicas.¹⁰⁷

- Sepsis Flow Chip Assay

Detecta 7 dianas gram positivas, 10 Gram negativos, *C. albicans*, 20 genes resistencia con una Sensibilidad de 93,3% y una especificidad de 100%^{108,109}

Aunque ha mostrado buena concordancia y mayor rapidez con respecto a técnicas convencionales, su impacto clínico no ha sido evaluado.¹¹⁰

Tabla 3. Principales técnicas moleculares de PCR múltiple sobre hemocultivo positivo.

PRUEBA	Tecnología	TAT ^a	Manipulación	Patógenos detectados	Ventajas/Desventajas
QuickFISH (AdvanDX)	FISH ^b	30 min	<5 min	10 microorganismos: 3 Gram negativos, 4 Gram positivos, 3 especies de <i>Candida</i>	Más rápido y menor coste, no requiere tinción de Gram/Menos patógenos, no detecta genes de resistencia
Filmarray (Biomérieux)	PCR ^c multiplex	1 hora	<2min	24 microorganismos: 11 Gram negativos, 8 Gram positivos, 5 especies de <i>Candida</i> . Genes de resistencia: <i>mecA</i> , <i>vanA/B</i> , <i>KPC</i>	No tinción de Gram, equipamiento pequeño/pocos mecanismos de resistencia
Verigene® System (Luminex Nanosphere)	PCR + microarrays	2,5 h	10 min	2 paneles: 1.Gram negativos : 9 + CTX-M, IMP, <i>KPC</i> , <i>NDM</i> , <i>OXA</i> , <i>VIM</i> 2.Gram positivos: 13 + <i>mecA</i> , <i>van A/B</i>	Detecta mecanismos de resistencia/requiere tinción de Gram.
ePlex BCID (Gen Mark DX)	PCR + microarrays	1,5h	<2min	3 paneles: 1.Gram negativos: 21+ CTX-M, IMP, <i>KPC</i> , <i>NDM</i> , <i>OXA</i> , <i>VIM</i> 2.Gram positivos: 20 + <i>mecA/C</i> , <i>van A/B</i> 3.Hongos	Detecta anaerobios, <i>Cryptococcus</i>, <i>Fusarium spp</i> y <i>Rhodotorula spp</i>, detecta principales mecanismos de resistencia/requiere tinción de Gram.
Unyvero™ (Curetis)	PCR + microarrays	4h	<2min	35 patógenos: 15 Gram negativos, 11 Gram positivos, 8 Hongos (incl. <i>Aspergillus</i>) <i>Mycobacterium spp.</i> 16 genes de resistencia	Gran número de patógenos, principales mecanismos de resistencia, no requiere tinción de Gram/ Mayor TAT que otros sistemas
Sepsis Flow Chip Assay (Master diagnostica)	PCR + microarrays	3h	<2min	18 patógenos: 10 Gram negativos, 7 Gram positivos, <i>C. albicans</i> 20 genes de resistencia	Detecta mecanismos de resistencia, No requiere tinción de Gram/número de patógenos limitados, sólo <i>C. albicans</i>

ABREVIATURAS: ^aTAT, turn around time; ^bFISH, fluorescence in situ hybridization; ^cPCR, polymerase chain reaction.

7.2.3 Espectrometría de masas

Actualmente, la tecnología basada en espectrometría de masas es utilizada en la mayoría de laboratorios de Microbiología para la identificación de especies a partir de aislamientos en placas de cultivo. El uso de MALDI-TOF MS se ha vuelto por ello imprescindible en la microbiología actual y está ampliamente disponible. Su disponibilidad y bajo coste lo hace preferible a cualquier otra tecnología en el caso de la identificación precoz de patógenos en hemocultivos positivos. En este sentido, es posible la identificación directa sobre muestra directa de hemocultivo crecido. Para este proceso, la suspensión del hemocultivo se trata generalmente con un agente detergente seguido de un procedimiento de centrifugación y extracción de proteínas con etanol y ácido fórmico para posteriormente ser analizado MALDI-TOF MS. Este proceso puede llevar de 20 a 45 minutos (Figura 4). Otra gran ventaja frente a las técnicas moleculares de PCR múltiple, además de la amplia disponibilidad de esta tecnología, está el espectro de microorganismos que identifica MALDI-TOF, que es prácticamente ilimitado. La posibilidad de combinarlo con técnicas rápidas de sensibilidad antibiótica hace que sea el método utilizado por muchos laboratorios.

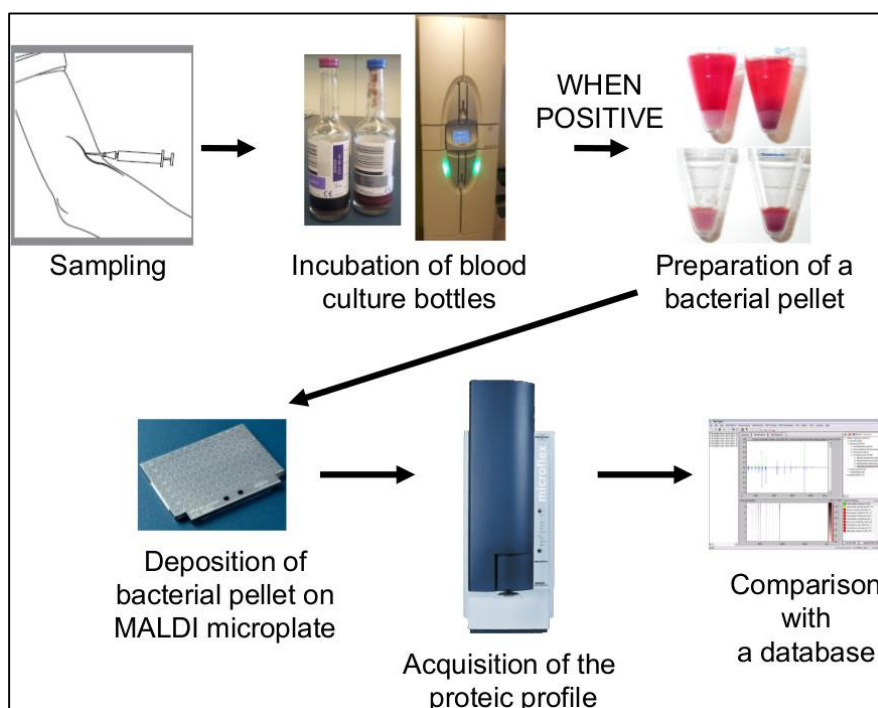


Figura 4. Procesamiento de hemocultivos e identificación mediante MALDI-TOF

7.2.4 Técnicas fenotípicas rápidas de sensibilidad a antibióticos

Junto a la identificación del microorganismo, el informe de sensibilidad a antibióticos (AST) es esencial para la elección definitiva del tratamiento antimicrobiano dirigido. Con las técnicas convencionales generalmente el AST no está disponible en el mismo turno laboral sino al día siguiente en la mayoría de los casos. En los laboratorios clínicos se ha realizado ampliamente el uso no estandarizado de caldo de hemocultivo positivo como inóculo para métodos de AST mediante difusión en disco, de cara acelerar el tiempo de obtención de resultados para AST a partir de hemocultivos positivos. Los resultados se aproximan a los obtenidos por métodos estandarizados debido a la concentración de bacterias en un hemocultivo positivo, aproximadamente 0.5 McFarland, el mismo inóculo que para los test tradicionales.¹¹¹ Este método dispone actualmente de instrucciones estandarizadas por EUCAST (EUCAST rapid AST directly from positive blood culture bottles. Version 1.1. 2019. www.eucast.org and EUCAST. Zone diameter breakpoints for rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) directly from blood culture bottles. Version 1.1. 2019. www.eucast.org).

También la inoculación del pellet obtenido tras el proceso referido previamente para la identificación por MALDI-TOF puede ser utilizada para AST, aunque los resultados son menos precisos que de subcultivo en medio sólido. En la Figura 5 se muestra cómo esta aproximación proporciona un diagnóstico microbiológico precoz comparado a las técnicas convencionales.⁶⁸

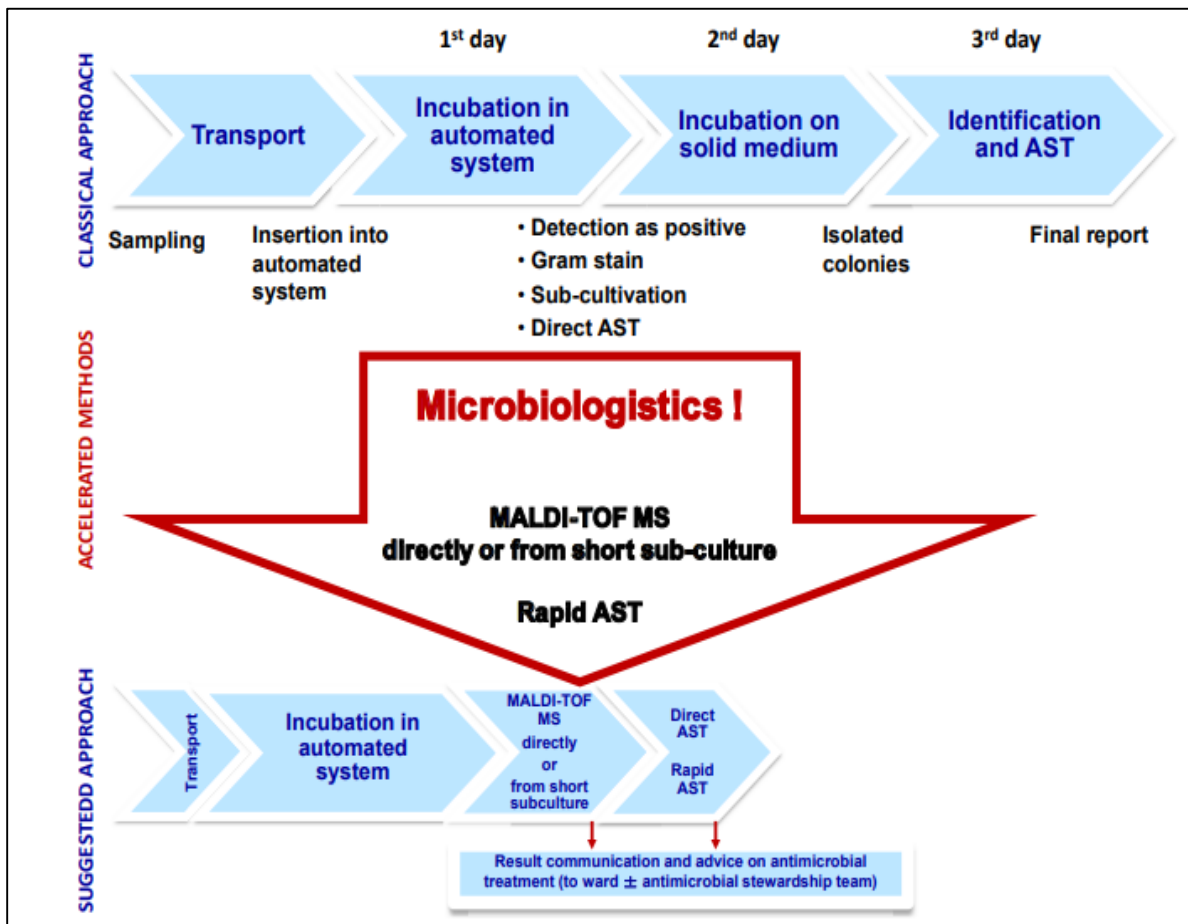


Figura 5. Diagnóstico convencional de bacteriemia sobre hemocultivo positivo frente a aproximación con identificación precoz con MALDI-TOF de pellet obtenido de hemocultivo inmediatamente tras la detección de crecimiento, incluyendo AST. ¹¹²

Existen otras técnicas novedosas para el AST rápido a partir de hemocultivos como la evaluación microscópica de cambios inducidos por antimicrobianos en la morfología celular, la evaluación de tasas de división o la expresión génica. Dos métodos de AST rápidos aprobados por agencias reguladoras y en uso clínico para AST fenotípico rápido a partir de hemocultivos positivos son el Accelerate PhenoTest BC (Tucson, AZ), ya explicado previamente, y el Alfred 60AST (Alifax, Italia). Alfred 60AST utiliza dispersión de luz para detectar el crecimiento bacteriano en un caldo de cultivo líquido, determinando resultados en 3-5 horas.^{113,114} El sistema Alfred 60 AST reduce el tiempo hasta el AST con una buena concordancia con respecto al AST convencional,

especialmente en bacteriemias por enterobacterias.¹¹⁵ Un estudio comparó los métodos de AST rápidos Accelerate Pheno™ y la combinación de MALDI-TOF MS con Alfred 60 AST, ambos métodos proporcionaron resultados fiables. Alfred 60AST combinado con MALDI-TOF MS mostró ser más rápido y barato mientras que la ventaja de Pheno es que proporciona la concentración mínima inhibitoria ¹¹⁶, y puede ser más útil en determinadas situaciones. ¹¹⁷ Este sistema Alfred 60AST ha sido utilizado también en muestras de orina, con un buen rendimiento.¹¹⁸

8. TÉCNICAS RÁPIDAS PARA EL DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE LA SEPSIS SOBRE MUESTRAS DIFERENTES DE SANGRE O HEMOCULTIVOS

Como comentábamos en apartados anteriores, en el paciente con sospecha de sepsis es recomendable extraer muestras del foco sospechoso de infección. Existen actualmente numerosas técnicas rápidas basadas en test antigénicos, espectrometría de masas o diagnóstico molecular capaces de proporcionar un diagnóstico rápido a partir de muestras diferentes de sangre, procedentes del foco de infección.

Por otro lado, numerosas infecciones potencialmente graves no se acompañan de un cuadro séptico por lo que estas pruebas no están orientadas únicamente a pacientes sépticos. Es el caso, por ejemplo, de las infecciones del sistema nervioso central (SNC), que no se acompañan de respuesta inflamatoria sistémica en muchos casos, y sin embargo tienen una mortalidad considerable. El diagnóstico etiológico de las infecciones del SNC ha avanzado mucho en los últimos años gracias a los paneles de PCR múltiple, de los que hablaremos más adelante.

Los test rápidos antigénicos no son técnicas tan novedosas y se utilizan ampliamente. Un ejemplo de ello es la detección rápida de antígeno de *Streptococcus pyogenes* en muestras de piel y partes blandas, que permite detectar este patógeno en 15 minutos si se toma una muestra adecuada. Su positividad tiene implicaciones no sólo en cuanto al tratamiento antibiótico, sino también en el manejo quirúrgico, ya que en las infecciones de piel y partes blandas producidas por este microorganismo es más

frecuente la afectación de tejidos profundos y la progresión rápida a pesar de antibiótico y el desbridamiento quirúrgico es necesario en muchos casos. ¹¹⁹

En esta revisión nos centraremos en las técnicas más novedosas basadas en las nuevas tecnologías por lo que no se revisarán los test antigénicos disponibles.

8.1 Técnicas moleculares

Al igual que sobre muestra de sangre o hemocultivos comentaremos tanto técnicas de detección molecular múltiple como específicas.

8.1.1 Paneles sindrómicos

Los paneles sindrómicos se basan en PCR múltiple, igual a los mencionados previamente, identificando los principales microorganismos que potencialmente pueden causar infección de acuerdo al síndrome correspondiente.

Están orientados principalmente a infecciones comunitarias salvo algunas excepciones. A continuación, exponemos los más relevantes.

8.1.1.A Paneles respiratorios

Actualmente, existen siete paneles aprobados para la detección múltiple de patógenos respiratorios en exudado nasofaríngeo:

- Luminex xTAG RVP v1 (Luminex Corporation)
- Luminex xTAG RVP Fast (Luminex Corporation) ç
- FilmArray (FA-RP) (BioFire Diagnostics)
- eSensor RVP (GenMark Diagnostics)
- Verigene Respiratory Pathogens Flex test (Luminex Corporation)
- Luminex xTAG (NxTAG-RPP) (Luminex Corporation)

- ePlex (ePlex RPP) (GenMark Diagnostics)

El más utilizado es el FA-RP ya que incluye la mayoría de objetivos (n = 20) y tiene el tiempo de respuesta más rápido (~1 h). Sin embargo, su uso rutinario en la práctica clínica pediátrica sigue siendo motivo de debate, ya que requieren equipos específicos y personal con experiencia. Estas pruebas ofrecen una detección más sensible y específica, pero su ventaja para identificar la verdadera etiología de una enfermedad respiratoria es limitada

Se ha visto que las pruebas PCR multiplex son más rentables que los métodos tradicionales cuando la prevalencia de una enfermedad viral respiratoria supera el 11%, con un ahorro promedio de 291 dólares por caso.¹²⁰ Rappo *et al*¹²¹ evaluaron el uso de la prueba FA-RP en adultos y concluyeron que la realización de este test redujo significativamente el tiempo de diagnóstico de virus gripales y no gripales, así como la necesidad de hospitalización, radiografías de tórax, duración de la estancia y uso de antimicrobianos. En un ensayo controlado aleatorizado realizado en pacientes adultos con enfermedades respiratorias agudas, se observó que el uso de pruebas moleculares rápidas se relacionó con una estancia hospitalaria más corta y un mejor uso de antivirales.¹²²

8.1.1 B Paneles gastrointestinales

Actualmente se dispone de 3 pruebas de PCR múltiple aprobadas por la FDA para la determinación de enteropatógenos:

- Luminex xTAG gastrointestinal pathogen panel (Luminex GPP; Luminex Corporation). Detecta 14 enteropatógenos. El tiempo hasta el resultado para 96 muestras es de 5 horas y precisa de una preparación de la muestra de 45 minutos y una fase de extracción de ácidos nucleicos de 45 minutos.
- BioFire FilmArray gastrointestinal panel (BioFire GIP; BioFire Diagnostics, LLC). Se trata de un Sistema automatizado que identifica 22 enteropatógenos.

Requiere una mínima preparación de la muestra de 2 minutos y el resultado se obtiene en 60-90 minutos.

- Verigene Enteric Pathogens (Verigene EP) test (Luminex Corporation). Requiere de una manipulación de la muestra y de ácidos nucleicos, con lo que puede haber contaminaciones.

Es importante tener en cuenta que es imprescindible una estrategia adecuada a la hora de decidir a qué pacientes deben aplicarse estas técnicas para ser coste-efectivas. Un estudio mostró un incremento en los costes del laboratorio al implementar el test Luminex GPP tras analizar 800 pacientes, que fue compensado con una reducción global en el coste total por paciente debido a una reducción en los días de aislamiento durante la estancia en el hospital.¹²³ En una cohorte de 158 pacientes se evaluó el papel de FilmArray gastrointestinal y se vio que 21 (13.3%) eran positivos para algún microorganismo no identificado por métodos convencionales, y se podían haber evitado aislamientos innecesarios.¹²⁴ En cualquier caso es importante reseñar que la mayoría de diarreas comunitarias no precisan de un diagnóstico etiológico y que los esfuerzos deberían centrarse en pacientes hospitalizados. Por otro lado, con respecto al diagnóstico de *C. difficile*, existen otros algoritmos diagnósticos efectivos basados en técnicas antigénicas y en PCR específicas.¹²⁵

8.1.1 C Paneles de infección del SNC

El diagnóstico tradicional de la meningitis y otras infecciones de SNC se basa en la tinción de Gram, de test antigénicos y de cultivo en líquido cefalorraquídeo (LCR), reservándose el diagnóstico molecular para la sospecha de encefalitis herpética o para el diagnóstico de enterovirus mediante PCRs específicas o PCRs únicamente de virus.

Actualmente se han incorporado paneles que además de virus detectan bacterias y hongos, y tienen como ventaja principal el diagnóstico rápido de cualquiera de

estas etiologías. Por otro lado, no es infrecuente que la punción lumbar se retrase y se haya iniciado tratamiento antibiótico en el momento de obtener LCR, por lo que el cultivo bacteriano se verá afectado y los tests moleculares tendrán más rentabilidad en esta situación. Actualmente el panel aprobado y más ampliamente utilizado para el diagnóstico sindrómico de encefalitis/meningitis es el panel FilmArray® Meningitis/Encephalitis (BioFire Diagnostics, LLC). Identifica 14 dianas incluyendo virus, bacterias y *Cryptococcus* sp. requiere una mínima manipulación de la muestra (2 minutos) obteniendo resultados en 60-90 minutos.

Está orientado principalmente a infecciones comunitarias ya que detecta principalmente patógenos causantes de meningitis/encefalitis comunitaria. No sería útil por tanto para infecciones de SNC posquirúrgicas o relacionadas con derivaciones ventriculares, donde la etiología difiere considerablemente.

En el estudio más amplio realizado hasta la fecha se observó una buena concordancia con el cultivo, una mayor sensibilidad que los métodos convencionales especialmente para bacterias en el seno de tratamiento antibiótico. Sin embargo, los autores alertan de potenciales falsos positivos para *S. pneumoniae* en pacientes que finalmente no tenían un diagnóstico de meningitis y lo atribuyen a una posible contaminación por amplificación de ADN procedente de los sanitarios que extraen o procesan la muestra.¹²⁶

Destacar por otro lado que se necesita de una estrategia diagnóstica para la realización de este tipo de pruebas de cara a una correcta interpretación de los resultados y también para una adecuada gestión de los costes. En este sentido, una buena herramienta de la que se dispone rápidamente en el laboratorio es la bioquímica y el recuento celular realizado en LCR de forma que unos resultados normales descartarán en la mayoría de los casos, excluyendo inmunodeprimidos, una infección del SNC y la realización del panel de PCR múltiple no será necesaria.

¹²⁷ En la tabla 5 se resumen las características bioquímicas y celulares del LCR según el tipo de infección.

Tabla 4. Características del LCR normales y en función del tipo de infección

Parámetros en LCR	Normal	Infección viral	Infección bacteriana	Tuberculosis/ fúngico
Presión de apertura (mm H ₂ O)	100–180	Normal o elevada	200–500	150–340
Recuento leucocitario (celulas/μl)	0-5	5-100	100->1000	5-1000
Niveles de proteínas (mg/dl)	≤30	30–300	60–500	>60
Niveles de glucosa (% glc sangre)	≥60	≥60	≤45	≤45
Apariencia LCR	claro	claro	turbio	Claro o fibrinoso

8.1.2 PCRs específicas

Actualmente existen numerosas técnicas de PCR específicas que pueden utilizarse directamente sobre bacterias obtenidas de cultivo pero que tienen especial interés sobre muestra directa ya que proporcionan un diagnóstico rápido según la sospecha clínica. Dado que existen en el mercado numerosas técnicas comercializadas, no realizaremos aquí una revisión exhaustiva. Destacar por su facilidad y rapidez GeneXpert® de Cepheid, con amplia experiencia en el diagnóstico de tuberculosis. Actualmente, como apoyo a la sospecha de infecciones respiratorias graves existen varios ensayos: Xpert® Xpress SARS-CoV-2, Xpert® Xpress Flu/RSV, Xpert® Xpress CoV-2/Flu/RSV plus. Para el diagnóstico de infección de piel y partes blandas (IPPB) destacan Xpert® Xpress Strep A y Xpert® MRSA/SA SSTI y su utilización ha demostrado impacto clínico tanto en las IPPB¹²⁸ como en la neumonía asociada a ventilación mecánica.¹²⁹ Para el diagnóstico de diarrea y sospecha de *C. difficile*, Xpert® *C. difficile* BT. Además, dispone de varios ensayos que detectan mecanismos de resistencia en

función de la sospecha (Xpert® vanA/vanB y Xpert® Carba-R, ya mencionado previamente) que pueden utilizarse sobre muestra directa.¹³⁰

8.2 Espectrometría de masas

Como hemos comentado previamente, la utilización de MALDI-TOF MS se ha vuelto prácticamente universal en los laboratorios de microbiología, principalmente para la identificación de bacterias a partir de cultivo o subcultivo en medio sólido. Su papel para la identificación de bacterias en muestra directa está aún en estudio.¹³¹ Algunos estudios muestran resultados prometedores. Burillo *et al*¹³² realizaron un estudio en el que 207 muestras de orina con visualización de bacterias gram negativas con un solo morfotipo fueron procesadas para identificación directa por MALDI-TOF tras una serie de centrifugaciones. Encontraron una sensibilidad del 81,3%, una especificidad de 93,2% cuando lo compararon con el cultivo convencional, con un tiempo hasta la identificación de 1 hora. El papel de MALDI-TOF MS para la identificación sobre muestra directa en otro tipo de muestras está limitado por la dificultad de obtener un pellet de bacterias con una carga bacteriana suficiente para su identificación.

Cada vez más estudios evalúan la capacidad de MALDI-TOF MS para la obtención de AST rápido¹³³, en concreto también en muestras de orina ha mostrado resultados prometedores, concordantes con el AST convencional, y resultados en 4-5 horas desde el procesamiento de las muestras.¹³⁴

9. SELECCIÓN DE PACIENTES CANDIDATOS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS POR LAS NUEVAS TECNOLOGÍAS

Las técnicas rápidas basadas en PCR múltiple mencionadas previamente están revolucionando el diagnóstico microbiológico ya que permiten identificar patógenos y mecanismos de resistencia en un tiempo récord con el potencial de mejorar el pronóstico de los pacientes con un uso más racional de antibióticos¹³⁵. Sin embargo, hasta el momento los estudios sobre el impacto clínico de este tipo de técnicas arrojan

resultados variables y a día de hoy no está clara la mejor estrategia para su utilización.

^{136, 137},

Por otro lado, el uso indiscriminado de estas técnicas, que tienen un coste elevado, puede incrementar considerablemente la proporción de gasto sanitario correspondiente al laboratorio.¹³⁸ Para evitar un uso inadecuado de las técnicas, asegurar una correcta interpretación de los resultados, y tomar decisiones consecuentes con los resultados, es imprescindible la coordinación con especialistas en enfermedades infecciosas, y especialmente de los equipos de programas de optimización del uso de antimicrobianos.^{136,139}.

Pandolfo *et al*¹⁴⁰ reportan los resultados de una entrevista realizada a 35 intensivistas en Reino Unido para evaluar sus creencias acerca del diagnóstico rápido molecular en pacientes con neumonía. Los entrevistados valoraban estas técnicas favorablemente como útiles en la práctica clínica habitual, pero recalcaron la preocupación por la posible detección de un microorganismo no patógeno que no fuera el causante de la infección del paciente y por los posibles falsos negativos de la técnica, ambos factores que podrían influir en la ausencia de ajuste de tratamiento tras los resultados de estas técnicas rápidas. Los autores proponen un entrenamiento y un período de prueba para la utilización de estas técnicas para que los prescriptores puedan tomar decisiones de forma fiable.

En este sentido, un especialista en enfermedades infecciosas con conocimientos y experiencia clínica con estas técnicas, y que además conozca al paciente, puede ser de gran ayuda a la hora de guiar al médico responsable en el manejo terapéutico del paciente tras la obtención de resultados. Este es probablemente el motivo por el que encontramos en nuestro estudio un mayor ajuste de tratamiento tras realizar PCR múltiple si lo comparamos con los estudios mencionados previamente para estas técnicas.

La selección del paciente a quien aplicar la técnica es también importante a la hora de interpretar el resultado, además de para asegurar la coste-efectividad de este tipo de muestras. Se habla en este sentido de “Diagnostic Stewardship” que asegure: una

buena selección del paciente, una recogida adecuada de muestra en el momento adecuado, una justificación para la realización de una prueba costosa; y tras la realización de la prueba la participación del equipo PROA para interpretar los resultados y recomendar el tratamiento más apropiado.^{141,142} En la Figura 6 se muestra esta aproximación.

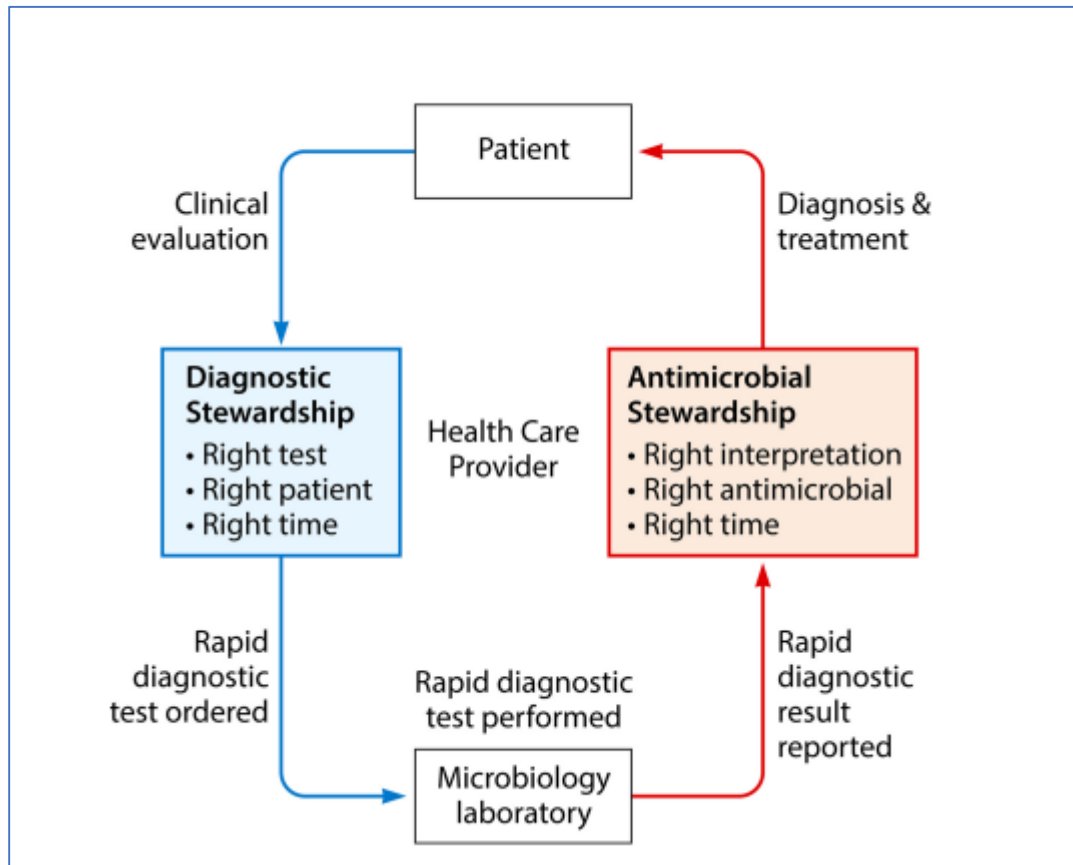


Figura 6. Relación ideal de los equipos PROA (“Antimicrobial Stewardship”) con los equipos de optimización del diagnóstico microbiológico PRODIM (“Diagnostic Stewardship”) para optimizar el manejo del paciente con infección. ¹³⁶

Se ha propuesto, en contraposición a las 4 “Ds” de los programas PROA¹⁴³, las 4 “Ts” del “Diagnostic Stewardship”: elegir el Test adecuado en el Tipo de muestra adecuado, recogida en el Tiempo adecuado y con intención de guiar Tratamiento,¹ tal como se muestra en la Figura 7.

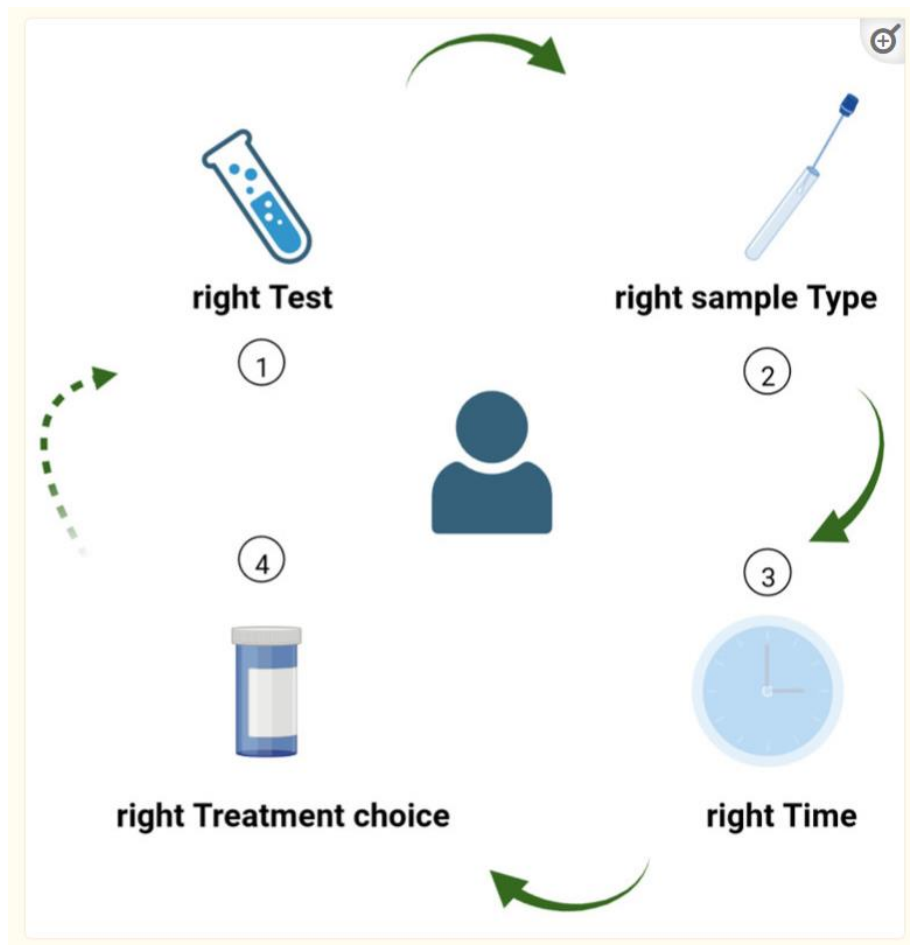


Figura 7. Las 4 Ts en la optimización del diagnóstico microbiológico:¹ elegir el Test adecuado en el Tipo de muestra adecuado, recogida en el Tiempo adecuado y para guiar Tratamiento adecuado.

Otras estrategias para identificar en el laboratorio los pacientes más graves, y por tanto prioritarios para la aplicación de pruebas de diagnóstico rápido, son las alertas de sepsis, como comentaremos a continuación.

10. CÓDIGO SEPSIS

La alta morbilidad asociada a la sepsis ha llevado a la implementación de alertas de sepsis en numerosos hospitales en todo el mundo. ^{19,21,45,144,145} Estas alertas están diseñadas para ayudar al clínico en la toma de decisiones que puedan tener un impacto en el pronóstico del paciente de acuerdo a la evidencia disponible.

En España se ha iniciado el proyecto 'Código Sepsis', con el objetivo promover cambios culturales para mejorar la atención del paciente con sepsis grave o shock séptico. Inicialmente se sumaron 11 sociedades científicas, que en 2012 se reunieron y empezaron a trabajar en diferentes frentes, en consonancia con la tendencia mundial. Fruto de este trabajo, en 2015 se presentó el 'Documento de Consenso' en el que participaron 15 sociedades españolas y que ha sido aprobado por el Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad y por todas las comunidades autónomas, y se ha incorporado dentro del Programa de Seguridad del Paciente 2015-2020, y del Plan Nacional de Resistencia Antibiótica (PRAM) del propio Ministerio. Para la Comunidad de Madrid, el documento de consenso para la implantación del código se completó en abril de 2017 con las recomendaciones principales.¹⁴⁶

Desde el punto de vista de la microbiología, es interesante que estas alertas lleguen al laboratorio para que las muestras de estos pacientes sean priorizadas frente al resto de muestras que lleguen al laboratorio. Idealmente, la alerta se debería transmitir automáticamente al laboratorio para que se reconozcan inmediatamente las muestras procedentes de este tipo de pacientes. Es en las muestras de estos pacientes donde debe emplearse preferentemente la mejor tecnología disponible para obtener un diagnóstico microbiológico precoz que tenga un impacto clínico en el paciente.¹⁴⁷⁻¹⁵¹ Los resultados obtenidos deben ser informados rápidamente al médico responsable para que las técnicas rápidas puedan tener un impacto en el tratamiento.¹⁵² Por otro lado, los equipos hospitalarios del Programa de Optimización del tratamiento antimicrobiano (PROA) deben estar alertados sobre estos pacientes e implicados en el manejo para una utilización óptima del tratamiento antibiótico¹⁵³⁻¹⁵⁵

OBJETIVOS

OBJETIVOS

PARTE 1:

1. Evaluar el porcentaje de pacientes con una infección determinada en los que la realización de un panel sindrómico de PCR múltiple diseñado para el diagnóstico de dicha infección lleva al diagnóstico etiológico en nuestro medio. Estas técnicas ya están validadas en la literatura, y no es objetivo de este estudio comparar su rendimiento con respecto a las técnicas convencionales.
2. Estudiar la aceptación de los cambios de tratamiento sugeridos por un especialista en enfermedades infecciosas, en base a los resultados microbiológicos rápidos proporcionados por los paneles sindrómicos de PCR múltiple.
3. Comparar el impacto de identificar precozmente el agente etiológico causante de infección mediante técnicas moleculares rápidas frente a un resultado negativo.

PARTE 2:

4. Evaluar la validez diagnóstica de varias técnicas microbiológicas rápidas (e.g., ALFRED), directamente en muestras de orina, para identificar la etiología de la sepsis urinaria en pacientes con sospecha de sepsis (extracción de hemocultivos). La técnica de referencia será el cultivo microbiológico estándar. Estas técnicas rápidas ya están validadas en la literatura; queremos conocer su rendimiento en nuestro medio.
5. Medir el impacto clínico que supone adelantar la información microbiológica mediante la realización de técnicas diagnósticas rápidas, junto con una intervención de optimización del manejo del paciente con sepsis urinaria, mediante las variables: mortalidad, estancia hospitalaria, necesidad de ingreso en UCI, estancia en UCI, consumo de antibióticos en DOTs ("days of therapy"), días de antibioterapia intravenosa, infección por *C. difficile* en el día 30.

PARTE 3:

6. Evaluar las características de los pacientes con activación de código sepsis de nuestro centro, la adecuación de la activación de la alerta, la adecuación del tratamiento antimicrobiano, el diagnóstico etiológico, la evolución y el consumo de antibióticos.

7. Evaluar el impacto de la alerta de código sepsis en el laboratorio de Microbiología: número de hemocultivos recibidos de pacientes con código sepsis respecto al total, número de muestras periféricas recibidas sobre el total, número de muestras en las que se aplican las nuevas tecnologías para diagnóstico rápido.
8. Medir el impacto de la alerta en las interconsultas de enfermedades infecciosas: número de interconsultas por códigos sepsis sobre el total.
9. Evaluar si existe un impacto clínico sobre el paciente, de una llamada urgente al laboratorio de microbiología en el momento de activar un código sepsis.
10. Evaluar si la valoración por un especialista en enfermedades infecciosas tiene un impacto en el tratamiento antibiótico, en la estancia hospitalaria o en el pronóstico del paciente.
11. Evaluar los factores relacionados con la mortalidad en los pacientes con activación de código sepsis.

**PARTE 1: IMPACTO EN VIDA
REAL DE LA UTILIZACIÓN
DE PANELES SINDRÓMICOS
DE PCR MÚLTIPLE PARA
INFECCIONES GRAVES.**

PARTE 1 PROYECTO SINTESIS. IMPACTO EN VIDA REAL DE LA UTILIZACIÓN DE PANELES SINDRÓMICOS DE PCR MÚLTIPLE PARA INFECCIONES GRAVES.

1. INTRODUCCIÓN

Las técnicas rápidas basadas en PCR múltiple están revolucionando el diagnóstico microbiológico ya que permiten identificar patógenos y mecanismos de resistencia en un tiempo récord con el potencial de mejorar el pronóstico de los pacientes con un uso más racional de antibióticos ¹³⁵. Sin embargo, hasta el momento los estudios sobre el impacto clínico de este tipo de técnicas arrojan resultados variables y a día de hoy no está clara la mejor estrategia para su utilización. ^{136, 137}

Por otro lado, el uso indiscriminado de estas técnicas, que tienen un coste elevado, puede incrementar considerablemente la proporción de gasto sanitario correspondiente al laboratorio. ¹³⁸. Para evitar un uso inadecuado de las técnicas, asegurar una correcta interpretación de los resultados, y tomar decisiones consecuentes con los resultados, es imprescindible la coordinación con especialistas en enfermedades infecciosas, y especialmente de los equipos de programas de optimización del uso de antimicrobianos. ^{136,139}.

En el presente estudio evaluamos el impacto clínico de la utilización de varios paneles de PCR múltiple en pacientes que precisan hospitalización por infección, en el que los resultados son interpretados e informados al médico responsable del paciente por un especialista en enfermedades infecciosas, como parte de un programa de optimización del uso de antimicrobianos en un servicio mixto de microbiología y enfermedades infecciosas.

2. HIPÓTESIS:

Nuestra hipótesis es que el uso de técnicas microbiológicas diagnósticas rápidas utilizando paneles de PCR múltiple en pacientes seleccionados, junto con una intervención de optimización del manejo del paciente de acuerdo a los resultados, puede tener un impacto clínico directo en los pacientes, traducido en un ajuste precoz de tratamiento antimicrobiano. Por otro lado, el hallazgo de un diagnóstico etiológico,

más probable con la utilización de paneles sindrómicos, tendrá impacto en el ajuste de tratamiento y/o en la reducción en el consumo de antibióticos, y/o en la necesidad de pruebas complementarias mayores y/o en la estancia hospitalaria.

3. OBJETIVOS

1. Evaluar el porcentaje de pacientes con una infección determinada en los que la realización de un panel sindrómico de PCR múltiple diseñado para el diagnóstico de dicha infección lleva al diagnóstico etiológico en nuestro medio. Estas técnicas ya están validadas en la literatura, y no es objetivo de este estudio comparar su rendimiento con respecto a las técnicas convencionales.
2. Estudiar la aceptación de los cambios de tratamiento sugeridos por un especialista en enfermedades infecciosas, en base a los resultados microbiológicos rápidos proporcionados por los paneles sindrómicos de PCR múltiple.
3. Comparar el impacto de identificar precozmente el agente etiológico causante de infección mediante técnicas moleculares rápidas frente a un resultado negativo.

4. METODOLOGÍA

4.1. DISEÑO Y PERÍODO DEL ESTUDIO

Estudio prospectivo realizado entre octubre de 2018 y septiembre de 2019 que evalúa el impacto de realizar pruebas de diagnóstico rápido basadas en las nuevas tecnologías en pacientes con sepsis o infección grave que requiere hospitalización y de los que se disponen muestras del foco sospechoso de infección, además de hemocultivos, en el laboratorio Microbiología del Hospital General Universitario Gregorio Marañón (HGUGM).

4.2 ÁMBITO DEL ESTUDIO

Estudio realizado en el Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Nuestra institución es un hospital de 1.349 camas que atiende a pacientes provenientes de 13

centros de salud, con una población aproximada de 750.000 habitantes. Se trata de un hospital de alta complejidad que consta de 7 unidades de pacientes críticos (2 UCIs médicas, 2 UCIs post-quirúrgicas, 1 unidad coronaria, 1 UCI pediátrica, 1 UCI de neonatología) y atiende inmunodeprimidos incluyendo pacientes trasplantados de órgano sólido y receptores de trasplante de progenitores hematopoyéticos.

El Servicio de Microbiología y Enfermedades Infecciosas de nuestro hospital está compuesto tanto por facultativos de laboratorio como por facultativos que realizan las interconsultas de los pacientes ingresados con sospecha de infección. El contacto entre ambos grupos es estrecho y continuo de manera que existen varias alertas creadas para informar de los resultados más críticos desde el laboratorio al clínico correspondiente de manera que exista una correcta interpretación y actuación de acuerdo a dichos resultados.

4.3 PACIENTES y MÉTODOS

Los pacientes adultos hospitalizados, o en área de urgencias con hospitalización prevista, de los que se remitieron simultáneamente muestras de hemocultivo y muestra respiratoria, LCR o heces (intervalo de +/- 10 horas) al servicio de Microbiología del Hospital General Universitario Gregorio Marañón, de lunes a viernes, en horario laboral fueron candidatos a la inclusión en el estudio.

4.3.1. Criterios de inclusión

Se incluyeron finalmente en el estudio los pacientes que además cumplían los siguientes criterios de inclusión:

- El paciente precisaba de ingreso hospitalario por la sospecha de infección que motivó la extracción de las muestras.
- El paciente cumplía criterios de sepsis de acuerdo a las definiciones Sepsis-2 o Sepsis-3, era inmunodeprimido o estaba ingresado en una unidad de Cuidados Intensivos.

- El foco sospechos de infección, al menos inicialmente, era respiratorio, gastrointestinal o del sistema nervioso central.
- En el caso de meningitis/encefalitis, debe ser de adquisición comunitaria debido a que los paneles de PCR múltiple utilizados están diseñados para este diagnóstico y no incluyen microorganismos causantes de meningitis postquirúrgicas o asociadas a dispositivos de derivación ventricular.
- En el caso de recepción de LCR, se incluyeron únicamente los pacientes con leucorraquia >5, inmunodeprimidos o ingresados en unidades de críticos.

El foco de infección se define de acuerdo a los criterios del Centers for Disease Control and Prevention criteria (CDC). (Horan, 2008 #1)

El lugar de adquisición de la infección se consideró según los criterios de Friedman

156

4.3.2 Criterios de exclusión

Fueron excluidos del estudio:

- Los pacientes que ya no estaban ingresados en el momento de la recepción de la muestra periférica.
- Aquellos en los que no había suficiente volumen de muestra para la realización de la técnica correspondiente.
- Aquellos en los que la muestra periférica no fuera susceptible de algoritmos de diagnóstico rápido (diferente de heces, respiratoria o LCR)
- Aquellos que tenían ya diagnóstico etiológico obtenido a través de otras técnicas o muestras recibidas del mismo episodio.
- Aquellos en los que los hemocultivos eran positivos en el momento de recibir la muestra periférica y tenían por tanto un diagnóstico etiológico.

4.3.3 Algoritmo diagnóstico

Durante el período de estudio se revisaron cada mañana de lunes a viernes las

muestras recibidas en el laboratorio de Microbiología. Aquellos pacientes que cumplían los criterios de inclusión y que no tenían criterios de exclusión fueron candidatos a entrar en el estudio.

Se aplicó diagnóstico molecular mediante paneles de PCR múltiple sindrómica (Biofire® FilmArray®) para búsqueda múltiple de determinados patógenos en función del foco de infección y de la muestra recibida:

- Panel Biofire® FilmArray® Gastrointestinal (GI) sobre muestras de heces en pacientes ingresados con diarrea comunitaria. Dicho panel detecta los siguientes microorganismos:
 - BACTERIAS: *Campylobacter*, *C. difficile*, *Plesiomonas shigelloides*, *Salmonella*, *Vibrio*, *Yersinia enterocolitica*, *E. coli* enteropatógeno, *E. coli* enteroagregativo, *E. coli* enterotoxigénico, *E. coli* productor de toxina Shiga, *Shigella* spp.
 - PARÁSITOS: *Cryptosporidium*, *Cyclospora cayetanensis*, *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*
 - VIRUS: adenovirus, astrovirus, norovirus, rotavirus A, sapovirus
- Panel Biofire® FilmArray® Respiratorio sobre muestras de exudado nasofaríngeo fuera de la temporada de gripe o si la PCR específica para gripe era negativa y se sospechaba una infección respiratoria. Dicho panel detecta los siguientes microorganismos:
 - VIRUS: Adenovirus, Coronavirus 229E, Coronavirus HKU1, Coronavirus OC43, Coronavirus NL63, Coronavirus del Síndrome Respiratorio de Oriente Medio (MERS-CoV), Metapneumovirus humano, Rinovirus/Enterovirus humano, Influenza A, Influenza A/H1 Influenza A/H1-2009, Influenza A/H3, Influenza B, Parainfluenza 1, Parainfluenza 2, Parainfluenza 3, Parainfluenza 4, VRS.
 - BACTERIAS: *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis*, *Chlamydomphila pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*.

- Panel Biofire® FilmArray® Meningitis/Encefalitis (ME) sobre muestras de LCR en pacientes con sospecha de meningitis o encefalitis comunitaria.

Dicho panel incluye los siguientes microorganismos:

- BACTERIAS: *E. coli K1*, *Haemophilus influenzae*, *Listeria monocytogenes*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pneumoniae*
- VIRUS: CMV, Enterovirus, virus Herpes Simplex 2, virus Herpes Simplex 2, virus Herpes 6, Parechovirus Humano, virus Varicella-Zoster
- HONGOS: *Cryptococcus neoformans/gattii*

Brevemente, para la realización de esta técnica se precisa de una mínima manipulación de la muestra, que no requiere de pipeteos muy precisos, con un tiempo de manipulación de aproximadamente 2 minutos, lo que lo convierte en una técnica sencilla y sin necesidad de personal experto. El procedimiento es similar independientemente del tipo de muestra y se muestra brevemente en la Figura 8.

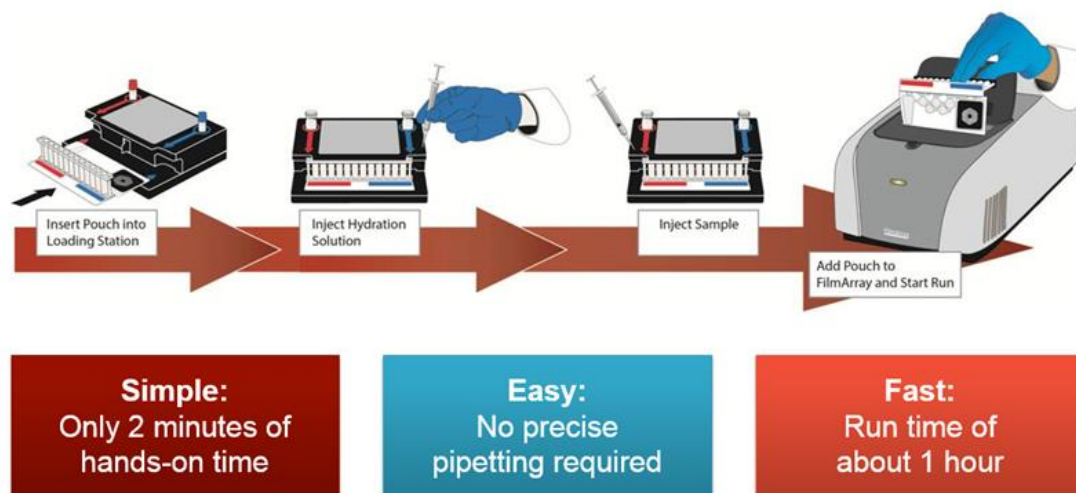


Figura 8. Procesamiento de la muestra para realización de PCR múltiple Biofire® FilmArray®

4.3.4 Intervención

Los resultados obtenidos fueron informados al médico responsable del paciente inmediatamente después de finalizar el test y de obtener un resultado mediante llamada telefónica. Este resultado fue informado por un especialista en Microbiología y Enfermedades Infecciosas, proporcionando una interpretación en el contexto del paciente y una recomendación de ajuste de tratamiento antimicrobiano de acuerdo al resultado.

4.3.5 Recogida de datos

Mediante la historia clínica electrónica se recogerán datos demográficos, clínicos, microbiológicos y variables de tratamiento.

Datos clínicos: edad, sexo, servicio de ingreso, índice de Charlson,¹⁵⁷ enfermedades de base, necesidad de ingreso en Unidad de Cuidados Intensivos, necesidad de aislamiento por la infección que motivó el ingreso, necesidad de pruebas radiológicas mayores o pruebas invasivas, estancia hospitalaria y mortalidad en el ingreso.

Datos microbiológicos: tipo de muestra, resultado de cultivo convencional, resultado de otras pruebas microbiológicas realizadas y tiempo hasta el resultado tanto del algoritmo de diagnóstico rápido como del diagnóstico convencional.

Datos de tratamiento: antibiótico, dosis, vía, duración. El consumo de antibióticos se midió mediante días de tratamiento¹⁵⁸, que se define como la suma del número de días que un paciente recibe un antibiótico específico, y que es independiente de la dosis administrada.

4.3.6 Análisis estadístico

Se realizó una base de datos que se analizó mediante el programa estadístico SPSS® (IBM SPSS Statistics 26.0). Se presentan las variables categóricas como proporciones y las variables cuantitativas con media y desviación estándar o como mediana y rango intercuartílico (IQR) si la distribución no es normal. Las variables con distribución normal se analizarán mediante la t de Student. Se utilizará el test de Mann-Whitney

para variables sin distribución normal. Se considerará estadísticamente significativa una $p < 0.05$. Las comparaciones de las variables cualitativas se realizaron con la prueba de Chi-cuadrado (χ^2) o la prueba exacta de Fisher y se expresaron como número (%). Los gráficos que se presentan fueron realizados mediante el programa Excel.

4.3.7 Aspectos éticos

El estudio se realizó siguiendo las normas éticas internacionalmente aceptadas, de acuerdo con los principios de la Declaración de Helsinki, respetando la normativa legal aplicable y las recomendaciones de buena práctica clínica (CPMP/ICH/135/95). El Comité Ético de Investigación Clínica del HGUGM (CEIm HGUGM, Madrid, España) evaluó favorablemente este proyecto, con código 2018-016 (304/18).

5. RESULTADOS

Durante el período de estudio fueron incluidos 142 pacientes a los que se realizaron en total 146 paneles de PCR múltiple en las siguientes muestras: 46 muestras de heces, 51 exudados nasofaríngeos (ENF) y 49 líquidos cefalorraquídeos (LCR). En 4 pacientes se realizaron dos paneles de PCR múltiple diferentes.

Los resultados de los paneles de PCR múltiple se muestran en la Tabla 5. En resumen, el resultado fue negativo en 91 muestras (62,3%). En las 55 muestras en las que se obtuvo un resultado positivo, se detectó un patógeno bacteriano en 18 (12,3%) y vírico en 37 (25,3%). No se detectaron hongos ni parásitos en ninguna de las muestras mediante esta técnica. El microorganismo detectado con mayor frecuencia fue rinovirus (12/146, 8,2%) en muestra respiratoria, seguido de *Campylobacter* sp. En heces (5/146, 3,4%).

Tabla 5. Resultados de los 146 paneles de PCR múltiple realizados

Resultado paneles Filmarray	N=146
NEGATIVO	91 (62.3%)
BACTERIAS	18 (12.3%)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1 (0.7%)
<i>Listeria monocytogenes</i>	3 (2%)
<i>Haemophilus influenzae</i>	1 (0.7%)
<i>Campylobacter spp</i>	5 (3.4%)
<i>Clostridioides difficile</i>	3 (2%)
<i>E. coli</i> (ECEA ^a /ECEP ^b)	3 (2%)
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1 (0.7%)
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	1 (0.7%)
VIRUS	37 (25.3%)
Rinovirus	12 (8.2%)
Influenza A	2 (1.4%)
VRS ^d	3 (2%)
Coronavirus	3 (2%)
Varios virus respiratorios	5 (3.4%)
Astrovirus	2 (1.4%)
Norovirus	3 (2%)
Sapovirus	2 (1.4%)
VVZ ^e	2 (1.4%)
VHS ^c	2 (1.4%)
Enterovirus	1 (0.7%)

ABREVIATURAS: ^aECEA, *E. coli* enteroagregativo; ^bECEP: *E. coli* enteropatógeno; ^cVHS, Virus Herpes Simple; ^dVRS, Virus Respiratorio Sincitial; ^eVVZ: Virus Varicela Zoster

5.1 Características de los pacientes

Las características de los 142 pacientes se resumen en la Tabla 6. La mediana de edad fue de 61 años (IQR 44-73) Y el 66,2% fueron varones. Aproximadamente una quinta parte de los pacientes no tenía ninguna enfermedad previa conocida, en el resto de los pacientes la patología de base más frecuente fue la cardiopatía (19,7%) seguido de neoplasia sólida (16,9%), neoplasia hematológica (12,7%) y trasplante de órgano sólido (12,0%).

El servicio donde se encontraba el paciente en el momento de tomar la muestra fue mayoritariamente el servicio de Urgencias (66,2%) seguido de servicios médicos (19,7%) y unidades de críticos (10,6%).

Todos los pacientes tenían inicialmente sospecha de infección, la mayor parte infecciones de adquisición comunitaria (115/142, 81,0%). Sin embargo, 24 (16,9%) tuvieron finalmente un diagnóstico alternativo diferente a una enfermedad infecciosa. De los 118 (83,1%) pacientes restantes, que sí tuvieron un diagnóstico final de infección, 102 (71,8%) tenían una infección cubierta por el panel diagnóstico que se había realizado: 47 pacientes (33,1%) con infección respiratoria, 27 (19,0%) con infección gastrointestinal y 27 (23,2%) con infección de sistema nervioso central. Dieciséis pacientes (11,3%) tuvieron infección con otro foco (7 infecciones urinarias, 6 intraabdominales, 2 bacteriemias primarias, 1 sepsis no filiada y 1 neutropenia febril sin foco).

Tabla 6. Características de los 142 pacientes incluidos en el estudio

Características generales	
Edad, años (mediana, IQR)	61 (44-73)
Sexo, varones (%)	87 (66.2)
Índice de comorbilidad de Charlson (mediana, IQR)	3 (1-6)
Enfermedad de base	
Ninguna	31 (21,8%)
Cardiopatía	28 (19,7%)
Tumor sólido	24 (16,9%)
Neoplasia hematológica	18 (12,7%)
Trasplante de órgano sólido	17 (12,0%)
EPOC	16 (11,3%)
Diabetes mellitus	15 (10,6%)
Enfermedad neurológica	10 (7,0%)
VIH	6 (4,2%)
Servicio en el momento de tomar la muestra	
Urgencias	94 (66,2%)
Unidad de críticos	15 (10,6%)
Servicio médico	28 (19,7%)
Oncohematología	5 (3,5%)
Adquisición de la infección	
Comunitaria	115 (81,0%)
Relacionada a la asistencia sanitaria	20 (14,1%)
Nosocomial	7 (4,9%)
Diagnóstico final de infección	
Respiratoria	47 (33,1%)
Gastrointestinal	28 (19,7%)
Sistema nervioso central	27 (19,0%)
Otras infecciones	16 (11,3%)
No infección	24 (16,9%)
Sepsis (SIRS ó nuevas definiciones)	
	89 (62,7%)
Ingreso en UCI	
	21 (14,8%)
Evolución día +30	
Curado	129 (90,9%)
Muerto	10 (7,0%)
Diarrea por <i>C. difficile</i>	3 (2,1%)
Días de hospitalización (mediana, IQR)	
	9 (4-21)

ABREVIATURAS: EPOC, enfermedad pulmonar obstructiva crónica; VIH, virus de la inmunodeficiencia humana.

5.2 Diagnóstico rápido mediante paneles Biofire® FilmArray® versus diagnóstico convencional.

De forma global, se llegó a un diagnóstico etiológico en 63 pacientes (44,5%): tanto por técnicas rápidas como por diagnóstico convencional en 14 pacientes (9,9%), únicamente mediante técnicas rápidas en 41 (28,9%) y únicamente mediante diagnóstico convencional en 8 (5,6%).

Para el global de resultados, la media de tiempo hasta el resultado fue de 2,7 horas (DE 1,9) para la transmisión de la información obtenida por los paneles múltiples al médico responsable del paciente *versus* 76 horas (DE 98) hasta obtener el informe a través del diagnóstico convencional.

Por tanto, los paneles de PCR múltiple aportaron un diagnóstico etiológico, adicional al proporcionado por el diagnóstico convencional en 28,9% de los pacientes y proporcionaron el mismo resultado que el diagnóstico convencional en 9,9%, adelantando los resultados en más de 72 horas, de media.

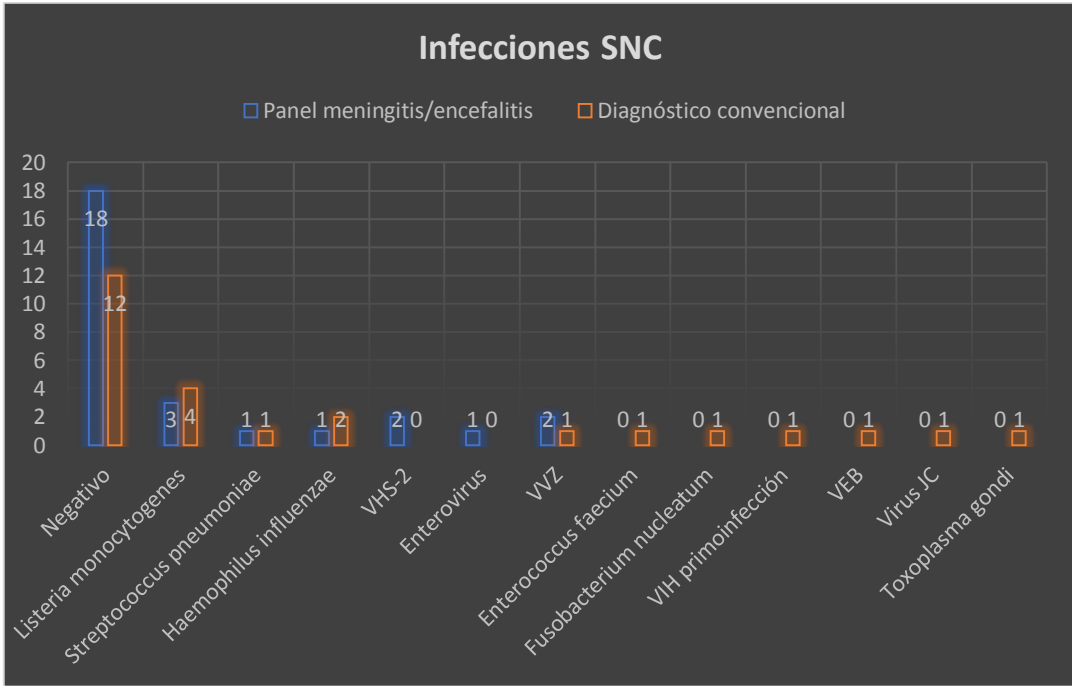
5.2.1 Diagnóstico por tipo de infección

Para evaluar la rentabilidad diagnóstica de los paneles por cada tipo de infección estudiada, hemos descartado los pacientes que finalmente no tenían infección y aquellos que finalmente tuvieron una infección de foco diferente al respiratorio, gastrointestinal o de SNC. Los resultados obtenidos en los restantes 102 pacientes que tenían una infección cubierta por el panel de PCR múltiple realizado se describen a continuación.

5.2.1. A Infecciones de SNC

En 16/27 (59,3%) pacientes con infección de SNC se llegó a un diagnóstico etiológico. El panel de PCR múltiple de meningitis/encefalitis identificó el agente etiológico en 10/27 (37,0%) y el diagnóstico convencional en 13/27 (40,7%). El panel de PCR múltiple identificó VHS-2 en el LCR de 2 pacientes y VVZ en otro, no realizándose otras técnicas adicionales de diagnóstico convencional para confirmar este diagnóstico. Se

identificaron 2 falsos negativos del panel de meningitis/encefalitis, un caso de meningitis por *Listeria monocytogenes* y un caso de meningitis *Haemophilus influenzae*, que fueron diagnosticados por cultivo de LCR. Por último, 6 pacientes tuvieron un diagnóstico etiológico por diagnóstico convencional por patógenos no incluidos en el panel de PCR múltiple (1 meningitis por *E. faecium*, 1 absceso cerebral por *Fusobacterium nucleatum*, 1 encefalitis por virus JC y 1 primoinfección por VIH con meningitis, 1 meningitis por VEB y 1 toxoplasmosis cerebral). En el resto de casos, tanto positivos como negativos, el diagnóstico rápido coincidió con el diagnóstico convencional (Figura 9).

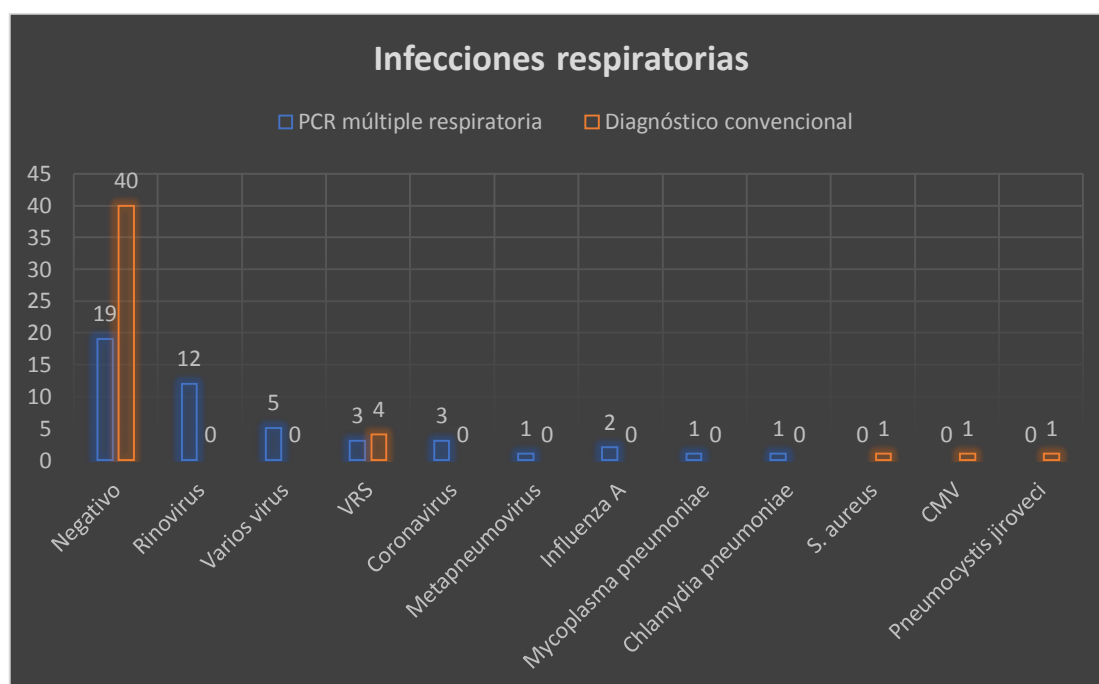


Abreviaturas: VHS: virus herpes simple, VVZ: virus varicela-zoster, VEB: virus de Epstein Barr.

Figura 9. Resultados obtenidos por PCR múltiple y diagnóstico convencional en 27 pacientes con infección de SNC.

5.2.1 B Infecciones respiratorias

Se llegó a un diagnóstico etiológico en 31/47 (65,9%) pacientes con infección respiratoria, mediante PCR múltiple respiratoria en 28/47 (59,6%) y por diagnóstico convencional en 7/47 (14,9%), teniendo en cuenta que las PCR de virus de diagnóstico convencional son específicas para Influenza y VRS y que el resto de virus y bacterias incluidos en la PCR múltiple no están incluidos en dicha PCR. Dos pacientes tuvieron PCR positiva para Influenza A por el panel múltiple y negativo por PCR específica. En tres pacientes se obtuvo diagnóstico únicamente por diagnóstico convencional: 1 paciente con neumonía por *S. aureus*, 1 paciente con neumonía por *P. jiroveci* y 1 paciente con neumonitis por CMV, ninguno de estos 3 microorganismos está incluido en el panel respiratorio Filmarray. Los resultados se resumen en la Figura 10.

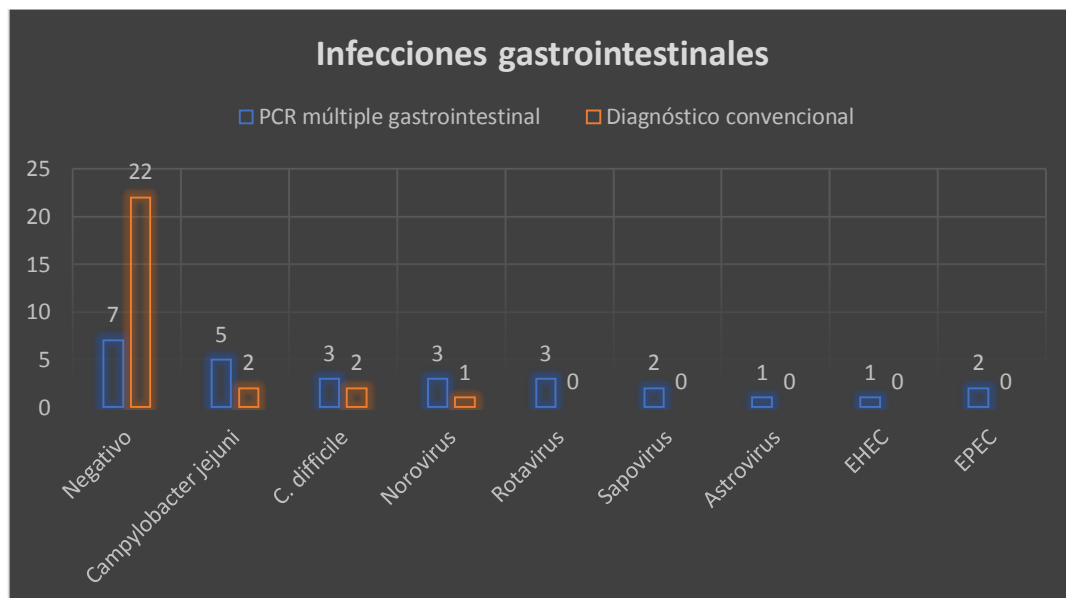


Abreviaturas: CMV, citomegalovirus; VRS, virus respiratorio sincitial

Figura 10. Resultados obtenidos por PCR múltiple y diagnóstico convencional en 47 pacientes con infección respiratoria.

5.2.1 C Infecciones gastrointestinales

Se obtuvo un diagnóstico microbiológico en 20/28 (71,4%) pacientes con infección gastrointestinal. La PCR múltiple detectó un enteropatógeno en 20/28 (71,4%) pacientes mientras que el diagnóstico convencional lo detectó en 5/28 (17,8%) pacientes, todos ellos concordantes con el resultado de la PCR múltiple. Destacar que en 3 pacientes se detectó *E. coli* enteropatógeno por PCR múltiple y su papel en la diarrea del paciente no fue bien establecido. Estos resultados se resumen en la Figura 11.



Abreviaturas: ECEA: *E. coli* enteroagregativo; ECEP: *E. coli* enteropatógeno.

Figura 11. Resultados obtenidos por PCR múltiple y diagnóstico convencional en 28 pacientes con infección gastrointestinal.

5.3 Intervención y ajuste de tratamiento

De los 142 pacientes evaluados, 115 (80,9%) recibían tratamiento antimicrobiano en el momento de la llamada para informar del resultado de la PCR múltiple. De ellos, 49 (42,6%) recibía un antimicrobiano empírico, 47 recibían 2 (40,9 %), 11 recibían 3 (9,6%) antimicrobianos y 8 (6,9%) recibían 4 antimicrobianos empíricos.

Tras obtener la información rápida, se recomendó ajuste de tratamiento en 87 pacientes (61,2%): desescalar o suspender en 77 (54,2%) e iniciar o ajustar por cobertura inadecuada en 10 (7,0%). En los 55 pacientes restantes se consideró que el tratamiento empírico era adecuado (13/142, 9,2%) que se podía continuar sin tratamiento antibiótico (16/142, 11,3%) o que la información disponible hasta el momento no permitía ajuste (26/142, 18,3%).

Se aceptaron las recomendaciones de ajuste de tratamiento en 64/87 (73,5%) pacientes. De forma global, la intervención supuso un ajuste en el tratamiento antimicrobiano en el 45,1% de los pacientes, en las siguientes 24 horas desde la llamada.

5.4 Diferencias entre resultado negativo y positivo en los paneles de PCR múltiple

Las diferencias entre los pacientes en los que se obtuvo un diagnóstico microbiológico rápido mediante los paneles de PCR múltiple y aquellos que no se resumen en la Tabla 7 y se detallan a continuación.

5.4.1 Ajuste de tratamiento

El ajuste fue más frecuente en los pacientes en los que se llegó a un diagnóstico etiológico mediante los paneles de PCR múltiple (36/57, 66,7% vs. 26/88, 29,5%; $p<0,001$). Estos cambios se mantuvieron cuando analizamos los paneles por separado: ajuste de tratamiento en 58,3% de pacientes si panel respiratorio positivo vs 20,8% si negativo ($p=0,017$); 76,2% en el caso de panel gastrointestinal positivo frente a 28,0% si negativo ($p=0,001$) y 70,0% si panel meningitis/encefalitis positivo frente a 39,0% si negativo ($p=n.s.$).

5.4.2 Consumo de antimicrobianos

Recibieron tratamiento antibiótico 127/142 pacientes (89,4%). Los antibióticos recibidos se resumen la Figura 12. La mediana global de días de antibioterapia ¹⁵⁸ fue de 7 días (IQR 3-14). La mediana de DOT fue mayor en los pacientes en los que se realizó el panel de meningitis/encefalitis (13 días, IQR 5-21) frente aquellos en los que se realizó panel respiratorio (7 días, IQR 3-14) o gastrointestinal (5 días, IQR 2-11). Los pacientes con diagnóstico etiológico rápido mediante los paneles múltiples recibieron menos días de antibioterapia (mediana de 5 días vs 9 días, $p=0,006$).

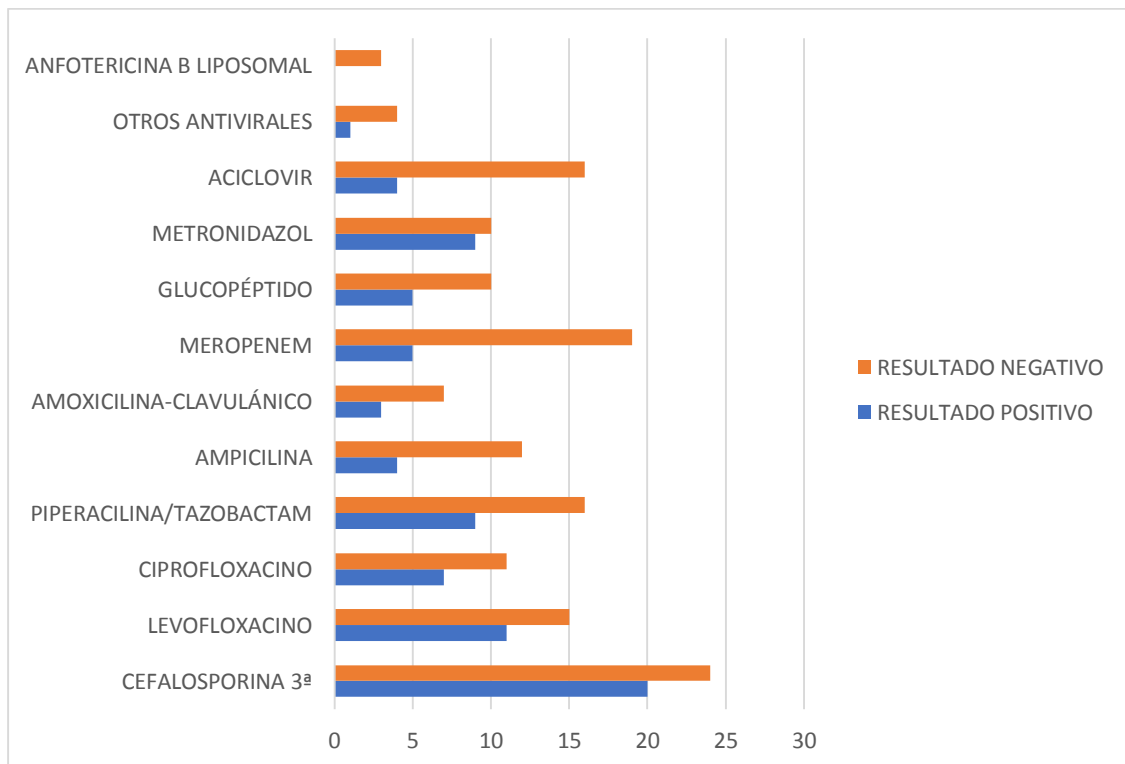


Figura 12. Principales antimicrobianos utilizados en los 142 pacientes y diferencias en función de haber tenido un resultado positivo o negativo en los paneles de PCR múltiple.

5.4.3 Realización de pruebas complementarias

Se realizaron pruebas complementarias radiológicas (TAC o RM), endoscópicas (colonoscopia o fibrobroncoscopia) o percutáneas para toma de biopsias en 73 pacientes (51,4%). A la mayor parte de ellos se les realizó una prueba complementaria (46, 32,4%), a 20 pacientes (14,1%) se les realizaron dos, a 5 (3,5%) tres y a 2 (1,4%) 4 pruebas complementarias.

La realización de pruebas complementarias fue significativamente más frecuente en los pacientes en los que no se llegó a un diagnóstico etiológico mediante diagnóstico rápido (54/88, 61,4%) versus 19/54 (35,2%) los pacientes que sí tuvieron un diagnóstico gracias a los paneles de PCR múltiple.

5.4.4 Evolución

Veintiún pacientes precisaron ingreso en UCI (14,8%) y 10 fallecieron (7,0%). No encontramos diferencias en el ingreso en UCI (11,1% vs 17,0%) ni en la mortalidad (3,7% vs 9,1%) entre aquellos pacientes con resultado positivo en los paneles de PCR múltiple y aquellos con resultado negativo.

La mediana global de estancia hospitalaria fue de 9 días (IQR: 4-21). La mediana de estancia fue mayor en los pacientes en los que se realizó el panel de meningitis/encefalitis (15 días, IQR 7-27) frente aquellos en los que se realizó panel respiratorio (8 días, IQR 4-17) o gastrointestinal (7 días IQR 4-14). La mediana de estancia fue menor en los pacientes con diagnóstico etiológico rápido (7 vs 11 días, $p=0,013$).

Tabla 8. Diferencias entre los pacientes con diagnóstico rápido y aquellos en los que no se llegó a un diagnóstico por paneles de PCR múltiple.

<i>Variables</i>	<i>Resultado PCR múltiple negativo N=87</i>	<i>Resultado PCR múltiple positivo N=55</i>	<i>p</i>
Características y gravedad			
<i>Edad, mediana (IQR)</i>	61 (47-74)	61 (39-71)	n.s.
<i>Charlson comorbidity index, median (IQR)</i>	3 (1-6)	3 (1-4)	n.s.
<i>Sepsis, n (%)</i>	53 (60,9%)	36 (65,4%)	n.s.
Tipo de infección			
<i>Respiratoria, n (%)</i>	23 (26,4%)	24 (43,6%)	0,044
<i>Gastrointestinal, n (%)</i>	7 (8,0%)	21 (38,2%)	<0,001
<i>SNC, n (%)</i>	17 (19,5%)	10 (18,2%)	n.s.
<i>Otras, n (%)</i>	16 (18,4%)	0 (0,0%)	<0,001
<i>No infección, n (%)</i>	24 (27,6%)	0 (0,0%)	<0,001
Tratamiento y pruebas complementarias			
<i>Ajuste de tratamiento tras la intervención, n (%)</i>	27 (31,0%)	37 (67,3%)	<0,001
<i>Días de tratamiento antimicrobiano, mediana (IQR)</i>	9 (3-15)	5 (2-12)	0,015
<i>Efectos adversos tratamiento antimicrobiano, n (%)</i>	3 (3,4%)	2 (3,6%)	n. s.
<i>Necesidad de pruebas complementarias mayores, n (%)</i>	54 (62,0%)	18 (32,7%)	0,001
Evolución			
<i>Ingreso en UCI, n (%)</i>	14 (16,1%)	6 (10,9%)	n.s.
<i>Infección posterior por C. difficile, n (%)</i>	3 (3,4%)	0 (0,0%)	n.s.
<i>Muerte, n (%)</i>	8 (9,2%)	2 (3,6%)	n.s.
<i>Estancia hospitalaria, mediana (IQR)</i>	11 (7-15)	7 (4-16)	0,013

6. DISCUSIÓN

Nuestro estudio muestra un beneficio en la realización de paneles de PCR múltiple Biofire® FilmArray®, frente al diagnóstico convencional, por proporcionar un diagnóstico etiológico adicional al diagnóstico convencional en una proporción significativa de los pacientes y adelantarlo en muchos casos en más de 72 horas. El impacto fue mayor en aquellos pacientes con un resultado positivo frente a aquellos con resultado negativo en la PCR múltiple, con una mayor tasa de ajuste de tratamiento, menor duración de tratamiento antimicrobiano, menor realización de pruebas complementarias y menor estancia hospitalaria en aquellos pacientes en los que se obtuvo un diagnóstico etiológico rápido.

Hasta la fecha existen ya múltiples estudios que, al igual que el nuestro, confirman la mayor rentabilidad diagnóstica de los paneles de PCR múltiple Biofire® FilmArray® cuando se comparan con técnicas convencionales ^{121,124,159-169}. De los paneles de PCR múltiple evaluados en este estudio, probablemente el panel gastrointestinal es el que ha mostrado una mayor rentabilidad diagnóstica con respecto a los métodos convencionales que en este caso se basan en cultivos, además de suponer un adelanto muy significativo en el diagnóstico, ya que los cultivos requieren hasta 48 horas para recuperar muchos enteropatógenos. ^{169,170}. Sin embargo, es importante una adecuada selección de pacientes que se puedan beneficiar de estos resultados rápidos, ya que en la mayoría de ocasiones se trata de pacientes con cuadros de diarrea leve y autolimitada en los que el diagnóstico etiológico no va a suponer un cambio en el manejo ni en la evolución. Pacientes inmunodeprimidos podrían ser una diana apropiada, ya que el panel incluye patógenos especialmente prevalentes en este tipo de pacientes como causa de diarrea, como por ejemplo *Campylobacter* spp, *Cryptosporidium* spp o *Giardia lamblia*. ¹⁷¹

En el caso de la PCR Biofire Filmarray Meningitis/Encephalitis, en un reciente metanálisis realizado por Trujillo-Gómez et al ¹⁷² evaluaron el rendimiento del panel comparándolo con técnicas de referencia encontrando una sensibilidad global de 89.5% y una especificidad de 97.4%. La sensibilidad para algunos microorganismos como *Listeria monocytogenes*, *H. influenzae*, *E. coli* y HSV-1 fue subóptima. Valorar el

rendimiento de la PCR no fue un objetivo de nuestro estudio y muchos resultados no fueron confirmados con PCR específicas en nuestro caso, pero los falsos negativos del panel meningitis/encefalitis para *L. monocytogenes* y *H. influenzae* recuperados posteriormente en el cultivo de LCR están en concordancia con estos resultados y suponen un dato preocupante. Conociendo estos datos, en presencia de un paciente con alta sospecha de meningitis bacteriana comunitaria y un panel ME negativo, debería considerarse mantener el tratamiento antibiótico empírico al menos 24-48 horas hasta tener datos del cultivo o bien de otras PCR específicas.

A pesar de haberse demostrado una mayor rentabilidad diagnóstica, su impacto clínico, teniendo en cuenta el coste elevado de estas técnicas, no ha sido bien establecido.

En el caso del panel respiratorio, el impacto clínico evaluado en varios estudios se encuentra principalmente en el ahorro de antibióticos por detección de etiología viral: Manatrey *et al*¹⁷³ ven una potencial reducción en 2-3 DOTs en pacientes dados de alta de urgencias pero no en pacientes hospitalizados; otro estudio realizado en Argentina en 142 pacientes inmunodeprimidos con infección respiratoria¹⁷⁴ comparó período pre y post-implantación del panel respiratorio, observaron una reducción en los días de tratamiento con betalactámicos y macrólidos pero no un impacto en la estancia, ingreso en UCI o mortalidad. Yang *et al*¹⁷⁵ evaluaron su impacto como “point of care” (POC) en un servicio de urgencias, la información tuvo impacto sobre la prescripción de antibióticos y antivirales de forma que los pacientes con PCR negativa recibieron más antibiótico que los pacientes en los que se detectó gripe u otro virus (51,0% vs 9,1 % vs 28,0%). Muchos de estos pacientes no precisaron ingreso, lo cual es una diferencia importante con respecto a los pacientes de nuestro estudio, en los que la necesidad de hospitalización fue un criterio de inclusión, de ahí que en nuestro caso la mayor parte de los pacientes recibieran antibioterapia y el impacto fuera mayor, con un ajuste global de 26,4% de los pacientes, llegando casi al 43,6% en caso de resultado positivo del panel respiratorio.

Para el panel GI, Torres-Miranda *et al*,¹⁷⁶ observaron, en un estudio pre y postimplantación del panel, una mayor detección de patógenos, una reducción significativa de la estancia hospitalaria y un ajuste de tratamiento más precoz en el

período postimplantación de la PCR. En otro estudio realizado en 140 pacientes pediátricos hospitalizados por cuadro gastrointestinal ¹⁷⁷ observaron impacto menor (12%) en el ajuste precoz de tratamiento.

También el impacto observado para el panel ME ha sido bajo: Berkhout *et al* ¹⁷⁸ realizaron un estudio retrospectivo de recién nacidos y lactantes con meningitis comparando un período en el que no se realizaba la PCR con el período post-implantación, observando únicamente una reducción del uso de aciclovir en el período post-implantación inferior a un día, sin diferencias en la evolución, estancia hospitalaria, duración de tratamiento antibiótico o necesidad de catéter venoso. Un estudio similar incluyendo niños y adultos, también pre y post-implantación de la PCR, realizado por Markovich *et al* ¹⁷⁹ mostró únicamente impacto en el ajuste de tratamiento, con una reducción global de 1 día en la duración media de antimicrobianos, especialmente aciclovir.

Hemos observado un impacto claramente mayor en los pacientes con un resultado positivo frente a uno negativo. Al menos dos estudios han comparado el impacto en función de los resultados de la PCR múltiple. En uno de ellos evalúan 91 pacientes ingresados con diarrea en los que se realiza el panel GI, observando una mayor utilización de antibióticos pero menor estancia hospitalaria en caso de resultado positivo del panel GI, siendo *Campylobacter* spp. el patógeno más frecuentemente identificado. ¹⁸⁰ Otro estudio retrospectivo ¹⁸¹, compara el ajuste de tratamiento realizado en 485 pacientes, en función del resultado del panel ME y encuentran una mayor tasa de ajuste de tratamiento si el resultado es positivo (n=105) frente al negativo (n=380), pero no encuentran diferencias en la estancia hospitalaria ni en la evolución. A diferencia de nuestro estudio, donde los pacientes con resultados positivos y negativos tenían similares características basales y de gravedad, en el estudio mencionado los pacientes con resultados positivos estaban más graves y tenían más datos inflamatorios en LCR. En nuestro estudio, a diferencia de estos dos estudios mencionados, se detectaron mayoritariamente patógenos virales, lo cual explica parcialmente un mayor impacto en el uso de antibióticos.

En el contexto de los programas PROA, es habitual asumir que el hallazgo de un agente etiológico permite fácilmente el ajuste de tratamiento frente a la ausencia de diagnóstico microbiológico, ya sea reducir el espectro antibiótico en caso de origen bacteriano o incluso suspender en caso de encontrar una etiología viral. Por ejemplo, en el caso de los pacientes pediátricos con bronquiolitis, se recomienda confirmar etiológicamente el cuadro mediante antígeno o PCR de VRS, ya que esta confirmación reducirá el uso de antibióticos.¹⁸²

Otro factor importante que puede influir en la decisión del médico tratante de ajustar tratamiento antibiótico con el resultado de la PCR múltiple, es la experiencia y los conocimientos que el médico tenga acerca de la técnica. Pandolfo *et al*¹⁴⁰ reportan los resultados de una entrevista realizada a 35 intensivistas en Reino Unido para evaluar sus creencias acerca del diagnóstico rápido molecular en pacientes con neumonía. Los entrevistados valoraban estas técnicas favorablemente como útiles en la práctica clínica habitual, de forma que un resultado positivo podía mejorar la prescripción de antibióticos y un resultado negativo descartar un patógeno concreto que pudiera precisar de tratamiento específico. Sin embargo, recalcaron la preocupación por la posible detección de un microorganismo no patógeno que no fuera el causante de la infección del paciente y por los posibles falsos negativos de la técnica, ambos factores que podrían influir en la ausencia de ajuste de tratamiento tras los resultados de estas técnicas rápidas. Los autores proponen un entrenamiento y un período de prueba para la utilización de estas técnicas para que los prescriptores puedan tomar decisiones de forma fiable.

En este sentido, un especialista en enfermedades infecciosas con conocimientos y experiencia clínica con estas técnicas, y que además conozca al paciente, puede ser de gran ayuda a la hora de guiar al médico responsable en el manejo terapéutico del paciente tras la obtención de resultados. Este es probablemente el motivo por el que encontramos en nuestro estudio un mayor ajuste de tratamiento tras realizar PCR múltiple si lo comparamos con los estudios mencionados previamente para estas técnicas.

Es preciso en este sentido hablar del “Diagnostic Stewardship”, o su acepción española PRODIM (“Programa de Optimización del Diagnóstico Microbiológico”) que asegure: una buena selección del paciente, una recogida adecuada de muestra en el momento adecuado, una justificación para la realización de una prueba costosa; y tras la realización de la prueba la participación del equipo PROA para interpretar los resultados y recomendar el tratamiento más apropiado.^{141,142} Se ha propuesto, en contraposición a las 4 “Ds” de los programas PROA¹⁴³, las 4 “Ts” del “Diagnostic Stewardship”: elegir el Test adecuado en el Tipo de muestra adecuado, recogida en el Tiempo adecuado y con intención de guiar Tratamiento.¹ En nuestro estudio un número considerable de los pacientes no tenía finalmente infección y otra proporción tenía un foco de infección diferente a la diana de las PCR múltiples evaluadas. El impacto en estos pacientes, con resultado negativo del test, es menor como hemos evaluado y puede ser menos coste-efectiva debido al coste elevado de las técnicas estudiadas. Una mejor selección de los pacientes candidatos a realizar estas técnicas será muy probablemente más coste-efectiva y con mayor impacto clínico, como por ejemplo estrategias para descartar la realización de PCR múltiple en LCR de pacientes adultos sin datos de inflamación en bioquímica de LCR.¹⁸³

El presente estudio tiene varias limitaciones. En primer lugar, carece de una cohorte comparativa con características similares a las de este estudio, pero en los que no se hayan realizado la PCR múltiple, para poder extraer conclusiones más sólidas acerca de su impacto clínico. La forma prospectiva de seleccionar los pacientes del presente estudio hace muy difícil la búsqueda de un grupo de pacientes que cumplan los mismos criterios de inclusión en el mismo período, y una cohorte histórica no permitiría extraer conclusiones atribuibles exclusivamente a la aplicación de las técnicas rápidas.

En segundo lugar, a diferencia de los estudios publicados hasta el momento que evalúan los paneles de PCR múltiple de forma individual, nuestro estudio evalúa la utilización global de este tipo de técnicas en un laboratorio de microbiología clínica, con lo que los resultados pueden no ser aplicables a cada técnica individualmente y es muy posible que los resultados obtenidos para una de las técnicas afecten de forma

global a todo el estudio. Al mismo tiempo constituye una ventaja del estudio, ya que muchos laboratorios adquieren al mismo tiempo varias técnicas diferentes de la PCR múltiple orientadas al diagnóstico sindrómico y su implantación es simultánea aprovechando que todas utilizan el mismo aparataje. En este sentido, nuestros resultados podrían ayudar a la decisión de un laboratorio de incorporar varias técnicas de este tipo al mismo tiempo.

En tercer lugar, en el momento de realizar este estudio, en 2018-2019, la experiencia clínica con este tipo de técnicas y especialmente la literatura disponible sobre su potencial impacto clínico eran muy escasas y es posible que esto haya tenido un impacto en la toma de decisiones en el momento de su realización. Su aplicación en el momento actual, con un mayor conocimiento global del rendimiento y de su impacto, podría ser mayor a la observada en nuestro estudio.

En conclusión, la aplicación de técnicas moleculares de diagnóstico rápido como lo paneles sindrómicos de PCR múltiple Biofire® FilmArray®, cuando se combina con la interpretación de resultados y la transmisión de la información por un equipo de enfermedades infecciosas, tiene un impacto significativo en el ajuste precoz de tratamiento antibiótico. Los resultados positivos tienen un impacto mayor que los resultados negativos en varios aspectos: mayor ajuste precoz de tratamiento antibiótico, reducción de la duración de antibioterapia, menor necesidad de pruebas complementarias y reducción de la estancia hospitalaria; por lo que una mejor selección de los pacientes a los que aplicar la técnica, donde se espere una mayor rentabilidad diagnóstica, puede repercutir significativamente en su impacto clínico.

PARTE 2 PROYECTO
SINTESIS: ESTUDIO DEL
IMPACTO DE LAS NUEVAS
TECNOLOGÍAS Y TÉCNICAS
RÁPIDAS EN PACIENTES
CON SOSPECHA DE SEPSIS
DE ORIGEN URINARIO

PARTE 2 PROYECTO SINTESIS: ESTUDIO DEL IMPACTO DE LAS NUEVAS TECNOLOGÍAS Y TÉCNICAS RÁPIDAS EN PACIENTES CON SOSPECHA DE SEPSIS DE ORIGEN URINARIO

1. INTRODUCCIÓN

El diagnóstico microbiológico precoz constituye uno de los pilares fundamentales en el manejo de los pacientes con sepsis. Sin embargo, los métodos convencionales tardan un mínimo de 24-48 horas cuando el cultivo es negativo, y hasta 5 días cuando el cultivo es positivo, para la identificación y determinación de la sensibilidad antimicrobiana de los patógenos aislados en los medios de cultivo sólidos.

En los últimos años hemos asistido a una revolución tecnológica sin precedentes que también se ha aplicado a la microbiología y cuyos mayores exponentes son la biología molecular y la espectrometría de masas (MALDI-TOF). Los mayores esfuerzos se han dirigido al diagnóstico de bacteriemia sobre hemocultivo crecido^{184,185} o muestra directa de sangre¹⁸⁶⁻¹⁸⁹. Estas técnicas rápidas están también disponibles para otras muestras, existiendo paneles de diagnóstico sindrómico para diferentes infecciones.^{170,171,190-195}

El diagnóstico etiológico de la sepsis en muestra distinta del hemocultivo tiene un valor añadido: permite un diagnóstico más rápido ya que obvia el problema de esperar a la detección de crecimiento que se precisa con los hemocultivos,¹⁹⁶ y además, en la mitad de los episodios de sepsis, los hemocultivos son negativos¹⁹⁷. Hasta en una tercera parte de los episodios de sepsis, el diagnóstico etiológico sólo es posible en otra muestra microbiológica.¹⁹⁸

La infección del tracto urinario es el origen de hasta el 20-30% de los casos de sepsis.¹⁹⁹⁻²⁰¹ La obtención de una muestra de orina es un procedimiento sencillo, que permite la aplicación de técnicas de diagnóstico rápido con optimización del tiempo de respuesta y un potencial impacto importante en el pronóstico del paciente.

Existen autoanalizadores como Alfred 60/AST (Alifax®, Italia) que detectan y cuantifican el crecimiento bacteriano en muestras de orina mediante nefelometría láser ("light scattering"). El tiempo hasta determinar si en las muestras hay o no crecimiento bacteriano es de unas 2 horas, con un valor predictivo negativo del 97,5%

¹¹⁸. Así mismo, permite realizar un antibiograma rápido en las muestras positivas para los antibióticos seleccionados en unas 3-5 horas.

Como desventaja, la incorporación a la práctica clínica de estas tecnologías tiene varias dificultades: su coste, inasumible para el sistema sanitario si se aplican universalmente; la necesidad de formación de los microbiólogos en nuevas técnicas; y el desconocimiento de las mismas y la dificultad de interpretación por parte de los médicos receptores.

Estas limitaciones se podrían superar con una adecuada selección de los pacientes candidatos a la realización de estas técnicas acompañada de la interpretación y manejo por un equipo de Enfermedades Infecciosas.

2. HIPÓTESIS

Nuestra hipótesis es que el uso de técnicas microbiológicas diagnósticas rápidas en muestras de orina, junto con una intervención de optimización del manejo del paciente con sepsis de origen urinario, puede tener un impacto clínico directo en los pacientes, lo que se traduciría en una reducción en el consumo de antibióticos, y/o en la estancia hospitalaria, y/o en el ingreso en una unidad de cuidados intensivos, y/o en la mortalidad.

3. OBJETIVOS

1. Evaluar la validez diagnóstica de varias técnicas microbiológicas rápidas (e.g., ALFRED), directamente en muestras de orina, para identificar la etiología de la sepsis urinaria en pacientes con sospecha de sepsis (extracción de hemocultivos). La técnica de referencia será el cultivo microbiológico estándar. Estas técnicas rápidas ya están validadas en la literatura; queremos conocer su rendimiento en nuestro medio.
2. Medir el impacto clínico que supone adelantar la información microbiológica mediante la realización de técnicas diagnósticas rápidas, junto con una intervención de optimización del manejo del paciente con sepsis urinaria,

mediante las variables: mortalidad, estancia hospitalaria, necesidad de ingreso en UCI, estancia en UCI, consumo de antibióticos en DOTs, días de antibioterapia intravenosa, infección por *C. difficile* en los 30 días siguientes.

4. METODOLOGÍA

4.1. DISEÑO Y PERÍODO DEL ESTUDIO

Estudio prospectivo quasi-experimental de cohortes emparejadas realizado entre el 15 de abril de 2022 y el 30 de octubre de 2023 que evaluó el impacto de realizar pruebas de diagnóstico rápido en muestras de orina de una cohorte de pacientes con sospecha de sepsis urinaria, frente a una cohorte de pacientes de similares características en los que no se realicen dichas técnicas rápidas.

En una fase inicial observacional (septiembre 2022-marzo 2023) se aplicaron los criterios de selección de pacientes y muestras con objeto de determinar la carga de trabajo asociada, con recogida prospectiva de todas las "variables resultado" del estudio. Estos casos constituirán la "cohorte de comparación"

En una segunda fase (abril 2023-octubre 2023) se realizó el algoritmo de diagnóstico rápido a los pacientes incluidos, que constituyen "cohorte de intervención o de modificación de la rutina diagnóstica".

Los resultados de este grupo se compararon con los de la "cohorte de comparación".

4.2 ÁMBITO DEL ESTUDIO

Estudio realizado en el Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Nuestra institución es un hospital de 1.349 camas que atiende a una población aproximada de 750.000 habitantes. Se trata de un hospital de alta complejidad que consta de cinco unidades de pacientes críticos adultos y atiende inmunodeprimidos incluyendo trasplantados de órgano sólido y receptores de trasplante de progenitores hematopoyéticos.

El Servicio de Microbiología y Enfermedades Infecciosas de nuestro hospital está compuesto tanto por facultativos de laboratorio como por facultativos que realizan las interconsultas de los pacientes ingresados con sospecha de infección. El contacto entre ambos grupos es estrecho y continuo de manera que existen varias alertas creadas para informar de los resultados más críticos desde el laboratorio al clínico correspondiente para que exista una correcta interpretación y ajuste de tratamiento antimicrobiano de acuerdo a dichos resultados.

4.3 PACIENTES y MÉTODOS

4.3.1. Criterios de inclusión

Los pacientes adultos hospitalizados, o en área de urgencias con hospitalización prevista, de los que se remitieron simultáneamente muestras de hemocultivo y urocultivo (intervalo de +/- 10 horas) al servicio de Microbiología del Hospital General Universitario Gregorio Marañón, de lunes a viernes, en horario laboral fueron candidatos a la inclusión en el estudio. Se incluyeron finalmente aquellos en los que la tinción de Gram realizada en muestra de orina mostraba un microorganismo con un único morfotipo, salvo criterios de exclusión.

4.3.2 Criterios de exclusión

Fueron excluidos del estudio:

- Pacientes menores a 18 años.
- Los pacientes no ingresados en hospitalización o área de Urgencias en el momento de la recepción de la muestra periférica.
- Aquellos en los que no había suficiente volumen de muestra para la realización de la técnica correspondiente.
- Aquellos con hemocultivos positivos en 7 días previos a la recepción de la muestra.

- Aquellos que tuvieran ya diagnóstico etiológico obtenido a través de otras técnicas o muestras recibidas del mismo episodio.

4.3.3 Algoritmo diagnóstico “Fast Track” (FT)

Durante el período de estudio, los días laborables (lunes-viernes) por la mañana (hasta las 10 horas) se revisaron los hemocultivos recibidos en el laboratorio de microbiología en las 10 horas previas y se recogieron los pacientes que además tenían una muestra de orina recibida el mismo día.

En la muestra de orina de los pacientes que cumplían los criterios de inclusión y ninguno de exclusión, se continuó con el siguiente algoritmo de diagnóstico:

- Cohorte de comparación
 1. Tinción de Gram.
 2. Cultivo convencional.

- Cohorte de intervención-algoritmo de diagnóstico rápido(Fast Track, FT), Figura 13.
 1. Tinción de Gram
 2. Cultivo convencional
 3. Introducción en el Alfred 60/AST. Se realizó a todas las muestras de orina seleccionadas de acuerdo con la metodología estándar. Permitió determinar si en la muestra había crecimiento bacteriano significativo para continuar el resto del algoritmo (15 minutos-2 horas)
 4. En caso de crecimiento detectado, se realizó centrifugación del vial e identificación mediante espectrometría (MALDI-TOF-MS) del pellet obtenido.
 5. En caso de identificación de una enterobacteria, se determinó la susceptibilidad antimicrobiana mediante Alfred 60/AST.

6. En caso de identificación por MALDI de *E. coli* o *K. pneumoniae* se realizó detección de BLEE mediante inmunocromatografía (NG-Test CTX-M), con resultado disponible en 15 minutos.
7. En caso de identificación de *K. pneumoniae* o de otra enterobacteria procedente de un paciente con estado de portador conocido de una enterobacteria productora de carbapenemasa, detección de carbapenemasas por inmunocromatografía (NG-Test Carba, detecta NDM-1, OXA-48, KPC, VIM-1, VIM-2, IMP-1 e IMP-2). Este test se realizó a partir del pellet obtenido tras incubación en Alfred 60/AST.

Los resultados de la tinción de gran se compararon con el cultivo convencional en ambas cohortes. Los resultados del resto del algoritmo de diagnóstico rápido se compararon con los del cultivo tradicional en la cohorte de intervención.

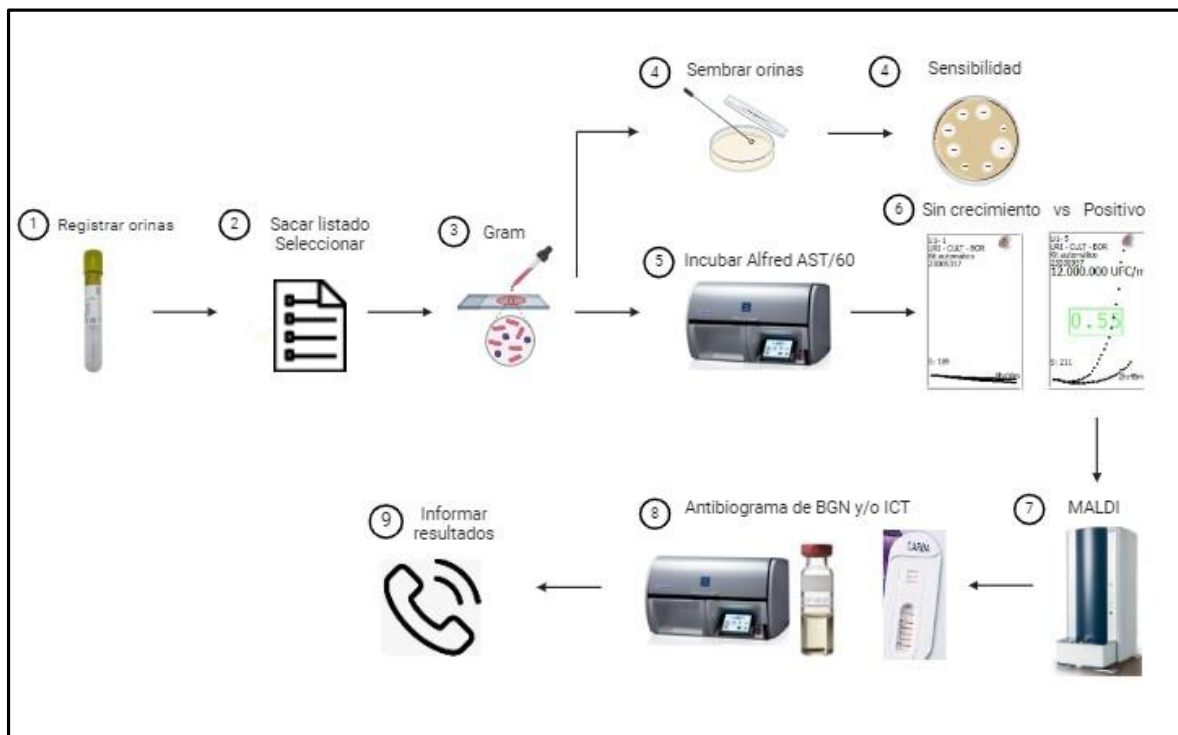


Figura 13. Algoritmo de diagnóstico rápido en muestras de orina

4.3.4 Intervención

En la cohorte de intervención, los resultados obtenidos fueron informados al médico responsable del paciente inmediatamente después de finalizar las técnicas rápidas y de tener la sensibilidad preliminar. Este resultado fue informado por un especialista en Microbiología y Enfermedades Infecciosas, proporcionando una interpretación en el contexto del paciente y una recomendación de ajuste de tratamiento antimicrobiano de acuerdo al resultado.

Esta intervención no fue realizada en los pacientes pertenecientes a la cohorte comparativa.

4.3.5 Recogida de datos

Al alta del paciente, y de forma retrospectiva, se recogieron anónimamente datos procedentes de la historia clínica del enfermo:

- Datos clínicos: edad, sexo, servicio de ingreso, índice de Charlson,¹⁵⁷ enfermedades de base, necesidad de ingreso en Unidad de Cuidados Intensivos, necesidad de pruebas radiológicas mayores o pruebas invasivas, estancia hospitalaria y mortalidad en el ingreso.
- Datos microbiológicos: tipo de muestra, resultado de cultivo convencional, resultado de otras pruebas microbiológicas realizadas y tiempo hasta el resultado tanto del algoritmo de diagnóstico rápido como del diagnóstico convencional.
- Datos de tratamiento: antibiótico, dosis, vía, duración. El consumo de antibióticos se midió mediante días de tratamiento¹⁵⁸.

4.3.6 Definiciones:

1. Procesamiento convencional de urocultivos. Según el PNT de trabajo de cada área (Recogida y Procesamiento de Muestras, Urocultivos, Identificación y determinación de la susceptibilidad antimicrobiana; el laboratorio de Microbiología está certificado con la ISO 9000-2015).
2. Sospecha de sepsis. Consideraremos como pacientes con sospecha de sepsis, y por lo tanto candidatos a un algoritmo de diagnóstico rápido mejorado, aquellos pacientes en los que se han extraído hemocultivos y en los que se haya obtenido además una muestra periférica para análisis microbiológico, procedente del foco que se sospecha como origen del cuadro séptico.
3. Urosepsis o sepsis urinaria: según las recomendaciones internacionales (Cecconi, #558).
4. Foco de infección: de acuerdo a los criterios del Centers for Disease Control and Prevention criteria (CDC). (Horan, 2008 #1)
5. Lugar de adquisición de la infección: se consideró según los criterios de Friedman¹⁵⁶
6. Error mayor: el algoritmo de diagnóstico rápido interpreta que un microorganismo es sensible a determinado antibiótico y se determina

posteriormente que es resistente mediante antibiograma convencional realizado por microdilución en caldo.

7. Error menor: el algoritmo de diagnóstico rápido interpreta que un microorganismo es resistente a determinado antibiótico y se determina posteriormente que es sensible mediante antibiograma realizado por microdilución en caldo.
8. Tratamiento empírico adecuado: en caso de presentar el paciente una verdadera infección urinaria, el tratamiento empírico pautado cubre el microorganismo aislado en cultivo mediante diagnóstico convencional. Por tanto, no se pudo evaluar en las orinas que finalmente estaban contaminadas.

4.3.7 Análisis estadístico

Se evaluó la validez diagnóstica (sensibilidad, especificidad, valores predictivos, cocientes de probabilidad y probabilidades post-test, con sus intervalos de confianza al 95%), de las técnicas microbiológicas diagnósticas rápidas directamente en muestras de orina. La técnica de referencia fue el cultivo microbiológico estándar.

Las variables cualitativas se describen mediante sus frecuencias absolutas y relativas. Las variables cuantitativas se resumen con su media, desviación estándar (DE) o en su mediana y rango intercuartilíco (IQR) en caso de asimetría. En todos los casos se comprobó la distribución de la variable frente a modelos teóricos.

Las variables cualitativas se compararon con el test de la Chi cuadrado o test de Fisher. Las variables cuantitativas que siguen una distribución normal (expresadas en media y desviación estándar (DE) se compararon con el test de comparación de medias (t de Student). Cuando no fue posible asumir la distribución normal (test de Kolmogorov-Smirnov) se utilizaron métodos no paramétricos (test U de Mann Whitney o test de la mediana). En este último caso su expresión se muestra en mediana (p50) y su rango intercuartilíco (IQR p25-p75). Se rechazó la hipótesis nula de igualdad entre los grupos comparados cuando la $p < 0,05$.

Se compararon las cohortes con modelos de regresión logística para las variables dicotómicas y regresión lineal para las variables de conteo, ajustando por edad, sexo,

índice de Charlson, tipo de servicio y qSOFA. Los resultados se expresaron como odds ratio (OR) en logística y razón de tasas de incidencia (IRR) en Poisson, con su intervalo de confianza al 95% (IC 95%). El nivel de significación estadística se fijó en $p < 0,05$.

Los paquetes de software utilizados fueron SPSS® (IBM SPSS Statistics 26.0) y STATA v15.

4.3.8. Aspectos éticos

El estudio se realizó siguiendo las normas éticas internacionalmente aceptadas, de acuerdo con los principios de la Declaración de Helsinki, respetando la normativa legal aplicable y las recomendaciones de buena práctica clínica (CPMP/ICH/135/95). El Comité Ético de Investigación Clínica del HGUGM (CEIm HGUGM, Madrid, España) evaluó favorablemente este proyecto, con código MICRO.HGUGM.2021-029.

5. RESULTADOS

Durante el período de estudio y el periodo horario mencionado previamente, se recibieron en el laboratorio 5.387 orinas de pacientes con hemocultivos y orina para urocultivo disponibles en el laboratorio, de acuerdo a los criterios descritos previamente. De ellas, se pudo realizar tinción de Gram en 5.240, en el resto de casos la muestra de orina no pudo ser procesada para diagnóstico rápido por ser insuficiente.

Fueron incluidos 594 pacientes que cumplían criterios de inclusión y ninguno de exclusión, en los que la tinción de gran mostró un microorganismo con único morfotipo: 297 en el grupo comparativo y 297 en el grupo de intervención.

5.1 Características de las cohortes

Las características de las cohortes de intervención y de comparación se resumen en la Tabla 9. Las medianas de edad fueron respectivamente de 74 años (IQR 60-85) Y 73 años (IQR 60-83). No hubo diferencias significativas con respecto a las comorbilidades, con una mediana de índice de Charlson de 5 en ambos grupos. Las enfermedades de base más frecuentes fueron: tumor sólido (29,3% y 24,6%), diabetes mellitus (26,9% y 30,0% respectivamente), enfermedad renal crónica (23,6% y 25,6%), cardiopatía (21,2% y 22,9%), y enfermedad neurológica (20,2% y 13,1%).

La mayor parte de los pacientes estaban ingresados en un servicio médico (73,0% en ambos grupos).

La gravedad de la infección sospechada fue también equiparable en ambos grupos, cumpliendo criterios de SIRS el 55,6% de la cohorte de intervención y el 49,2% de la cohorte comparativa ($p=0,066$). En cuanto al qSOFA, 117/297 (39,4%) tenían un qSOFA de 2 o más en la cohorte de intervención frente a 104 (35,0%) en la cohorte de comparación ($p=0,205$).

5.2 Foco de infección

Fueron diagnosticados finalmente de infección urinaria 164 pacientes (55,2%) en el grupo de intervención y 162 (54,5%) en el grupo comparativo ($p= n.s.$).

En el resto de pacientes el aislamiento en orina fue considerado colonización y no una verdadera infección urinaria. De ellos, 39 pacientes (13,1%) en el grupo de intervención y 45 (15,2%) en el grupo comparativo tuvieron finalmente un diagnóstico alternativo no infeccioso. El resto de pacientes tuvieron infecciones de foco distinto al urinario: 18,9% y 12,1% una infección respiratoria; 3,7% y 9,4% una infección intra-abdominal; 2,0% y 2,4% una infección de piel y partes blandas; 3,0% y 2,0% una endocarditis infecciosa; 4,1% y 4,4% otro tipo de infección respectivamente.

Tabla 9. Características basales en la cohorte de intervención y la cohorte comparativa.

<i>Variable</i>	<i>Cohorte de intervención (n=297)</i>	<i>Cohorte comparativa (n=297)</i>	<i>p</i>
Edad (años) (mediana, IQR^a)	74 (60-85)	73 (60-8)	0,652
Género, mujeres (n, %)	149 (50,2)	153 (51,5)	0,743
Índice de Charlson (mediana, IQR)	5 (3-5)	5 (3-7)	0,592
Tipo de servicio (n, %)			0,998
Médico	199 (67)	192 (64,6)	
Cuidados intensivos	24 (8)	30 (10,1)	
Quirúrgico	18 (6,1)	19 (6,4)	
Inmunodeprimidos	27 (9,1)	27 (9,1)	
Oncohematológicos	35 (11,8)	34 (11,5)	
Enfermedad de base (n, %)			
Cardiopatía	63 (21,2)	68 (22,9)	0,621
Diabetes mellitus	80 (26,9)	89 (30,0)	0,413
Enfermedad neurológica	60 (20,2)	39 (13,1)	0,021
Enfermedad psiquiátrica	34 (11,4)	15 (5,1)	0,005
Enfermedad renal crónica	70 (23,6)	76 (25,6)	0,567
EPOC ^b	35 (11,8)	35 (11,8)	1,000
Hemodiálisis	2 (0,7)	9 (3,0)	0,033
Enfermedad hepática	11 (3,7)	27 (9,1)	0,007
Neoplasia hematológica	16 (5,4)	18 (6,1)	0,724
Trasplante de órgano sólido	19 (6,4)	29 (9,8)	0,132
Neoplasia sólida	87 (29,3)	73 (24,6)	0,195
VIH ^c	5 (1,7)	7 (1,3)	0,737
Sin comorbilidades	51 (17,2)	52 (17,5)	0,914
SIRS^d (n, %)	165 (55,6)	146 (49,2)	0,066
qSOFA^e (n, %)			0,205
1	179 (60,3)	193 (65,0)	
2	101 (34)	95 (32,0)	
3	17 (5,7)	9 (3,0)	

ABREVIATURAS: ^aIQR, rango intercuartílico; ^bEPOC, enfermedad pulmonar obstructiva crónica; ^cVIH, virus de la inmunodeficiencia humana, ^dSIRS, síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, ^eqSOFA, quick systemic organ failure assessment.

5.3 Resultados de la microbiología

Los resultados de la microbiología se resumen en la Tabla 10.

Los microorganismos aislados con más frecuencia en cultivo de orina fueron Enterobacterales en ambos grupos (69,0% y 58,9%) seguido de cocos Gram positivos (6,4% y 10,8%), levaduras (3,4% y 5,4%) y no fermentadores (1,7% y 7,1%). Dieciocho urocultivos (6,1%) en el grupo de intervención y 21 (7,1%) en el grupo de comparación fueron considerados como contaminados.

Tuvieron bacteriemia significativa 71 (23,9%) pacientes en la cohorte de intervención y 74 (24,9%) en la cohorte de comparación. La mayoría fueron producidas por enterobacterias en ambos grupos (54,9% y 52,7%), seguido de cocos Gram positivos (5,7% y 7,1%).

Tabla 10. Microorganismos aislados en orina y hemocultivos y comparación entre ambas cohortes.

<i>Variable</i>	<i>Cohorte de intervención (n=297)</i>	<i>Cohorte de comparación (n=297)</i>	<i>p</i>
<i>Microorganismo aislado en urocultivo (n, %)</i>			0,003
<i>Enterobacterales</i>	245 (82,5)	207 (69,7)	
<i>BLEE</i>	38 (12,8)	25 (8,4)	
<i>Carbapenemasa</i>	2 (0,7)	5 (1,7)	
<i>P. aeruginosa</i>	5 (1,7)	17 (5,7)	
<i>Otros no fermentadores</i>	0 (0,0)	4 (1,3)	
<i>Cocos Gram positivos</i>	19 (6,4)	32 (10,8)	
<i>Contaminado</i>	18 (6,1)	21 (7,1)	
<i>Levaduras</i>	10 (3,4)	16 (5,4)	
<i>TAT (horas) mediana (IQR)</i>	7,25 (6,83-7,83)	75,0 (51,0-100,0)	<0,001
<i>Incluyendo antibiograma rápido</i>			
<i>Microorganismo aislado en hemocultivo (n, %)</i>			0,513
<i>Ninguno o no significativo</i>	226 (76,1)	223 (75,1)	
<i>Enterobacterales</i>	48 (16,2)	42 (13,1)	
<i>BLEE</i>	8 (2,7)	4 (1,3)	
<i>P. aeruginosa</i>	3 (1)	8 (2,7)	
<i>Cocos Gram positivos</i>	17 (5,7)	21 (7,1)	
<i>Levaduras</i>	1 (0,3)	0 (0,0)	
<i>Otros</i>	2 (0,6)	0 (0,0)	

ABR: BLEE: betalactamasa de espectro extendido

5.4 Cultivo convencional versus algoritmo de diagnóstico rápido

5.4.1 Tinción de Gram

Comparado con el urocultivo convencional, la tinción de Gram tuvo una sensibilidad de 77,2%, especificidad de 92,9%, VPP de 79,5% y VPN de 92,0 %.

Tabla 11. Comparación de la tinción de Gram con urocultivo convencional

Urocultivo	Positivo	Negativo	Total
Tinción de Gram			
Positivo	1065	274	1339
Negativo	314	3587	3901
Total	1379	3861	5240

5.4.2 Detección de crecimiento mediante Alfred AST e identificación por MALDI-TOF-MS

Se detectó crecimiento de algún microorganismo por Alfred AST en todos los casos (297/297, 100%) e identificación por MALDI-TOF-MS del pellet obtenido con un score adecuado en 295/297 (99,3%). No se obtuvo identificación por MALDI-TOF-MS en 2 casos.

En 16 casos el urocultivo se consideró finalmente contaminado por el diagnóstico convencional y su concordancia con la identificación rápida por MALDI-TOF-MS no pudo ser evaluada.

En los 279 casos restantes, la concordancia de la identificación mediante MALDI-TOF-MS con respecto a la identificación obtenida por cultivo convencional fue de 275/279, 98,6%.

Por tanto, el algoritmo de diagnóstico rápido adelantó la identificación del microorganismo, con respecto al cultivo convencional, en 275/297, 92,6% de los casos.

5.4.3 Antibiograma rápido mediante Alfred 60/AST

De los 297 pacientes incluidos en la cohorte de intervención, 245 tuvieron identificación de una enterobacteria por MALDI-TOF-MS, realizándose en ellos antibiograma rápido mediante Alfred 60/AST.

El resultado de dicho antibiograma no fue interpretable en 8 casos por insuficiencia de la muestra o “error” según el programa de Alfred 60/AST. En los 237 restantes (96.7%), se dispuso de un “antibiograma preliminar” mediante este sistema en un tiempo medio de 5:37 horas para ciprofloxacino y amikacina y de 7:15 horas para amoxicilina-clavulánico, cefotaxima, piperacilina/tazobactam y meropenem. Se comparó la concordancia del antibiograma proporcionado por Alfred 60/AST, con respecto al antibiograma convencional por microdilución en 228 (93%) y no se pudo comparar en 9 por tener un resultado de urocultivo contaminado mediante el diagnóstico convencional. La concordancia fue de 161/228 (70.6%) para amoxicilina/clavulánico; 209/228 (91.7%) para piperacilina/tazobactam; 216/228 (94.7%) para cefotaxima, 198/228 (86.8%) para meropenem y 198/228 (86.8%) para ciprofloxacino.

Las diferencias de interpretación de antibiograma mediante el algoritmo de diagnóstico rápido, comparado con el diagnóstico convencional, fueron consideradas error menor en el 88,1% y error mayor en el 11,9%.

5.4.4 Detección de BLEE y carbapenemasas por inmunocromatografía

Se realizó ICT de BLEE en 224 pacientes en los que se identificó *E. coli* o *K. pneumoniae* por MALDI-TOF-MS y fue positiva en 45 (20,1%). La presencia de BLEE no se pudo confirmar en 7 casos por estar contaminado el urocultivo convencional, pero fue coincidente con los resultados del cultivo en el resto de casos (217/217, 100%). Se realizó ICT de carbapenemasa en 62 pacientes y fue positiva en 2 (3,2%), coincidiendo con diagnóstico convencional en todos los casos (62/62, 100%).

5.4.5. Tiempos de respuesta diagnóstico rápido y diagnóstico convencional

El tiempo de respuesta desde la recepción de la muestra hasta disponer de la identificación mediante MALDI-TOF-MS, de la sensibilidad mediante Afred 60/AST y de la detección de BLEE/carbapenemasa en el caso de las enterobacterias fue de 7,25 horas de mediana (IQR 6,83-7,83); mientras que la identificación y sensibilidad por diagnóstico convencional se obtuvo tras 75 horas de mediana (IQR 21,0-100,0), es decir, de unos 3 días.

5.4.6 Comparación de resultados del diagnóstico rápido con hemocultivos

En la cohorte de intervención, 72 pacientes (24,2%) tuvieron un aislamiento significativo en los hemocultivos que acompañaban la muestra de orina. El microorganismo aislado en hemocultivos coincidía con el identificado en orina mediante el algoritmo de diagnóstico rápido en 46/72 (63,9%).

5.5 Tratamiento antibiótico empírico

En la cohorte de intervención el antibiótico empírico más utilizado fue ceftriaxona (149/297, 50,2%) seguido de piperacilina/tazobactam (103/297, 34,7%), meropenem (66/297, 22,2%) y amoxicilina-clavulánico (28/297, 9,4%) mientras que en la cohorte de comparación el más frecuente fue piperacilina/tazobactam (125/297, 42,1%) seguido de ceftriaxona (110/297, 37,0%), meropenem (90/297, 30,3%) y amoxicilina-clavulánico (29, 9,8%). Las diferencias entre la cohorte de intervención y la comparativa fueron significativas para ceftriaxona (50,2% vs 37,0%, $p=0,0017$) y meropenem (22,2% vs 30,3%, $p=0,032$).

5.6 Comunicación de resultados y ajuste de tratamiento

El resultado del algoritmo de diagnóstico rápido estuvo disponible en el mismo turno de mañana en que se recibió la muestra de orina en 280 pacientes (94,3%) y fue

posible contactar telefónicamente para proporcionar la información obtenida del algoritmo de diagnóstico rápido el mismo día en 267 (89,9%). Esto fue posible ya que los resultados del antibiograma rápido en Alfred 60/AST pudieron ser interpretados mediante lectura de las curvas de crecimiento, previo a la finalización de la incubación y al resultado definitivo automatizado, aproximadamente 5 horas tras la introducción de la orina. En 9 casos (3,0%) se contactó al día siguiente de recibir la muestra y en los 21 casos (7,1%) restantes no fue posible contactar y se anotaron los resultados y las recomendaciones en la historia clínica electrónica de los pacientes.

En el momento de la llamada 284/297 (95,6%) pacientes recibían tratamiento antibiótico. Se recomendó mantener tratamiento en 190 (64,0%) y modificarlo en 107 (36,0%): iniciar tratamiento en 1 (0,3%), suspender en 6 (2,0 %) por considerarse tras la entrevista que el aislamiento en orina suponía una colonización, reducir cobertura en 58 (19,5%), ajustar a un antibiótico más adecuado en 15 (5,0%) y ampliar cobertura en 27 (9,1%)

Los facultativos responsables del paciente aceptaron la recomendación dada en el 90,9% de los casos.

La encuesta de satisfacción con respecto a la información recibida fue contestada por 206 médicos receptores y fue considerada como muy útil en 170 casos (82,5%), útil en 33 (16,0%), e indiferente en 3 (1,5%).

5.7 Impacto clínico del algoritmo de diagnóstico rápido

En el análisis univariable, observamos una menor duración de tratamiento antibiótico, menor gasto en antibióticos, menor estancia hospitalaria, menor necesidad de ingreso en UCI y menor mortalidad en el grupo de intervención con respecto a la cohorte de comparación. Las diferencias en los días de estancia en UCI y en la incidencia de infección por *C. difficile* (ICD) no fueron estadísticamente significativas (Tabla 12).

Tabla 12. Comparación de la evolución y variables de resultado entre la cohorte de intervención y la cohorte comparativa según análisis univariable.

Variables	Cohorte de intervención (n=297)	Cohorte comparativa (n=297)	p
Estancia hospitalaria, días (mediana (IQR^a))	9 (6,0-18,0)	12 (7,0-30,0)	<0,001
Necesidad de ingreso en UCI^b (n, %)	22 (7,4%)	40 (13,5%)	0,015
Días de estancia en UCI (mediana, IQR)	14 (3,8-25,5)	9.5 (4,0-23,5)	0,075
DOT^c (mediana, IQR)	8 (5,0-12,5)	10 (6,0-16,0)	0,008
Número de antibióticos iv (media, DE^e)	2,03 (DE 1,28)	2,4 (DE 1,61)	0,008
Coste de antibióticos, € (mediana, IQR)	101.4 (40,1-277,0)	155.3 (52,8-402,1)	0,002
Mortalidad global (n, %)	18 (6,1)	33 (11,1)	0,028
Mortalidad relacionada (n, %)	1 (0,3)	5 (1,7)	0,056
ICD^d (n, %)	8 (2,7)	12 (4,0)	0,363

ABREVIATURAS: ^aIRQ, rango intercuartílico; ^bUCI, unidad de cuidados intensivos; ^cDOT, días de cada tratamiento antibiótico recibido; ^dICD, infección *por C. difficile*; ^edesviación estándar.

La comparación de las cohortes con modelos de regresión logístico y lineal, ajustadas por edad, sexo, índice de Charlson, tipo de servicio y qSOFA se muestran en la Tabla 13. Este análisis mostró una reducción relativa en la cohorte de intervención del 12,0% en días de tratamiento antibiótico (IC95 0,69-0,89, p<0,001); del 14,0% en días de antibioterapia iv (IC 95 0,77-0,96, p=0,006); del 58,0% en la necesidad de ingreso en UCI (0,0,23-0,74, p=0,003); del 11,0% en días de estancia hospitalaria (IC95 0,72-1,11, p=0,31); del 40% en días de estancia en UCI (IC95 0,34-1,05, p=0,076); del 35,0% en la infección *por C. difficile* (IC95 0,26-1,65, p=0,36), del 49% (IC95 0,27-0,98, p=0,045) en la mortalidad global y del 87,0% (IC 0,013-1,2, p=0,072) en la mortalidad relacionada.

Tabla 13. Modelos de regresión y resultados relativos para las variables estudiadas.

<i>Variables</i>	<i>IRR^a/OR^b (IC 95%)</i>	<i>p</i>
<i>Estancia hospitalaria</i>	0,81 (IC95 0.72-1.11)	0,31
<i>Necesidad de ingreso en UCI^c</i>	0,42 (IC95 0.34-1.05)	0,003
<i>Días de estancia en UCI</i>	0,60 (0.72-1.11)	0,076
<i>DOT^d</i>	0,78 (0.69-0.89)	<0,001
<i>Número de antibióticos iv^f</i>	0,86 (0.77-0.96)	0,006
<i>ICD^e</i>	0,65 (0.26-1.65)	0,36
<i>Mortalidad global</i>	0,51 (0.27-0.98)	0,045
<i>Mortalidad relacionada</i>	0,13 (0.013-1.2)	0,072

^aIRR, razón de tasa de incidencia; ^bOR, odds ratio; ^cUCI, unidad de cuidados intensivos,

^dDOT, días de cada tratamiento antibiótico recibido, ^eICD, infección por *C. difficile*, ^fiv, intravenosos. Análisis ajustado por edad, sexo, tipo de servicio, índice de comorbilidad de Charlson y qSOFA

6. DISCUSIÓN

Los resultados de nuestro estudio indican que un algoritmo de diagnóstico rápido en pacientes con sospecha de sepsis urinaria, seguido de la comunicación inmediata de resultados y de consejo terapéutico por parte de un experto al médico responsable del paciente, conlleva una reducción en el consumo, el coste de antibióticos, la necesidad de ingreso en UCI y la mortalidad global, con una tendencia además a la reducción en la estancia hospitalaria y la estancia en UCI. Este algoritmo está basado en tinción de gram, detección de crecimiento por nefelometría láser, identificación mediante MALDI-TOF-MS y realización de antibiograma rápido mediante nefelometría láser,

combinado con la intervención de un experto en enfermedades infecciosas y en optimización del tratamiento antimicrobiano.

La infección urinaria es uno de los motivos de consulta más frecuentes por una enfermedad infecciosa, constituye aproximadamente un 40% de las infecciones bacterianas, es causa de unas 237.000 muertes anuales,^{202,203} y en España es la segunda causa más frecuente de prescripción de antibióticos²⁰⁴.

En pacientes sépticos, la inadecuación del tratamiento antibiótico empírico se asocia a una mayor morbilidad¹⁹⁹ y la elección del antibiótico adecuado es cada vez más difícil en la era de la multi-resistencia.^{205,206}

El diagnóstico microbiológico convencional puede tardar hasta 24 horas en la identificación de una bacteria aislada de cultivo y hasta 48 horas en la determinación de la sensibilidad a antibióticos, tiempos demasiado largos que van a tener un impacto en la morbilidad de la sepsis.²⁰¹

Sin embargo, existen nuevas tecnologías capaces de adelantar este diagnóstico. El autoanalizador Alfred 60/AST (Alifax), con marca CE, es capaz de detectar crecimiento bacteriano mediante nefelometría láser y puede reducir considerablemente el tiempo los resultados de sensibilidad a antibióticos, tanto en hemocultivos^{115,207,208} como en otro tipo de muestras^{118,209,210}. Este sistema se ha utilizado como despistaje de infección urinaria¹¹⁸ pero su rendimiento no ha sido evaluado en pacientes con sospecha de sepsis urinaria. Así mismo, distintos estudios han evaluado la utilidad de MALDI-TOF-MS para identificar el microorganismo causante de infección urinaria sobre muestra directa de orina con resultados variables.^{132,211} También se ha evaluado el papel de MALDI para realización de antibiograma rápido sobre muestra directa de orina observando una concordancia muy elevada con el diagnóstico convencional y obteniendo resultados en 4.5 horas.¹³⁴. Athamna et al²¹² evaluaron de forma similar a nuestro estudio la identificación mediante MALDI-TOF-MS del pellet obtenido tras 3.5 horas de incubación en Alfred AST de muestras de orina con muy buen rendimiento. Sin embargo, el impacto clínico de la realización de este tipo de técnicas no ha sido evaluado.

En nuestro estudio la combinación de la incubación de la muestra de orina en Alfred 60/AST combinado con la identificación mediante MALDI-TOF-MS y la detección de mecanismos de resistencia, del pellet obtenido tras la detección de crecimiento, fue capaz de adelantar la identificación del microorganismo causante de infección urinaria en el 92,8% de los casos. En el caso de las enterobacterias, causa mayoritaria de la infección urinaria, Alfred 60/AST proporcionó la sensibilidad a antibióticos en el 93,2% de los pacientes, con una buena concordancia con respecto al diagnóstico convencional, en un tiempo de unas 7,20 horas desde la recepción de la muestra, frente a las más de 72 horas mediante el diagnóstico convencional. Es interesante que el antibiograma rápido pudo ser interpretado con antelación al resultado definitivo del mismo, mediante lectura de las curvas de crecimiento sin y con antibiótico, e informado en el mismo turno en que la muestra fue recibida en el laboratorio en más del 90% de los casos.

Hemos encontrado diferencias significativas a favor de nuestra intervención en varias variables: DOT (8 días vs 10 días, $p=0,006$), número de antibióticos intravenosos (2,0 vs 2,4, $p=0,006$), la necesidad de ingreso en UCI (7,4% vs 13,5%, $p=0,003$) y la mortalidad global (6,1 vs 11,1%, $p=0,028$).

La infección urinaria se asocia en numerosos estudios con un uso indiscriminado de antibióticos ²¹³⁻²¹⁵, con el consecuente impacto negativo tanto en el paciente como en la epidemiología local. El diagnóstico microbiológico precoz es una parte fundamental de los equipos PROA, de cara a permitir un tratamiento dirigido con el menor espectro posible. La recepción de la información de forma rápida por parte del médico responsable en el mismo turno en el que se remite la muestra al laboratorio ha mostrado tener un impacto muy significativo en el consumo de antibioterapia. Este impacto se debe en gran parte a la transmisión de la información por parte de un especialista en enfermedades infecciosas capaz de recomendar el tratamiento antibiótico más adecuado y la duración en cada caso particular. El algoritmo de diagnóstico rápido constituye por tanto una herramienta y una oportunidad para mejorar la prescripción de antibióticos en pacientes con infección urinaria grave.

En nuestro estudio observamos una adecuación del tratamiento antibiótico empírico de aproximadamente 90%, adecuación más elevada que la referida en la literatura, probablemente por la baja tasa de resistencias en nuestro centro. Es posible que a ello se atribuya la baja mortalidad encontrada en nuestro estudio con respecto a la literatura ²⁰¹ y que también que la diferencia de la mortalidad entre ambos grupos no fuera significativa.

La mayor limitación de nuestro estudio es la ausencia de randomización. La política de antibióticos y el manejo del paciente no han cambiado en nuestro centro en los diferentes períodos de ambas cohortes, y las cohortes eran comparables según comorbilidad y gravedad de presentación, difiriendo en algunas enfermedades de base y en el tipo de microorganismo finalmente identificado. Se ajustaron los resultados en los modelos de regresión por edad, sexo, tipo de servicio y gravedad medida por qSOFA.

Otra limitación es que no pudimos valorar el tiempo hasta la administración del antibiótico correcto, ya que dicha variable no queda registrada informáticamente.

Destacar además que aproximadamente la mitad de los pacientes en ambas cohortes no cumplían criterios de sepsis a pesar de haberse extraído hemocultivos y que también aproximadamente la mitad no tenía una infección urinaria como infección principal, ambos factores que pueden reducir el verdadero impacto que tendría la intervención en el caso de una verdadera sepsis urinaria. En este sentido, una mejor selección de los pacientes, por ejemplo, pacientes con activación de código sepsis, podría tener mayor impacto en el pronóstico, en la estancia y en el consumo. Por último, las muestras se procesaron únicamente en horario de mañana y el impacto de realizarla durante las 24 horas del día podría variar.

En conclusión, nuestros hallazgos apoyan la utilización de un algoritmo de diagnóstico rápido sobre muestra de orina en pacientes hospitalizados con infección urinaria complicada o sepsis urinaria y resaltan el importante papel del consejo proporcionado por un especialista en enfermedades infecciosas cuando se proporciona la información al clínico responsable del paciente.

**PARTE 3 PROYECTO
SÍNTESIS. CÓDIGO SEPSIS:
IMPLICACIONES PARA UN
SERVICIO DE
MICROBIOLOGÍA Y
ENFERMEDADES
INFECCIOSAS.**

PARTE 3 PROYECTO SÍNTESIS. CÓDIGO SEPSIS: IMPLICACIONES PARA UN SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA Y ENFERMEDADES INFECCIOSAS.

1. INTRODUCCIÓN

En la búsqueda de medidas que disminuyan la alta mortalidad de la sepsis, se han implementado en todo el mundo alertas para detectarla precozmente. ^{19,21,45,144,145}.

Estas alertas están diseñadas para guiar a los clínicos en la toma de decisiones diagnósticas y terapéuticas, además de aumentar la adherencia a las medidas que han mostrado tener un impacto en el pronóstico de la sepsis. Sin embargo, pocos hospitales tienen una intervención homogénea y el nivel de evidencia acerca de su impacto es variable. ^{66,158,216}

En España se ha iniciado el proyecto “Código Sepsis” ²¹⁷, con el objetivo de promover cambios culturales para mejorar la atención del paciente con sepsis grave o shock séptico. Inicialmente se sumaron 11 sociedades científicas, que en 2012 se reunieron y empezaron a trabajar en diferentes frentes, en consonancia con la tendencia mundial. Fruto de este trabajo, en 2015 se presentó el “Documento de Consenso” en el que participaron 15 sociedades españolas y que ha sido aprobado por el Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad y por todas las comunidades autónomas, y se ha incorporado dentro del Programa de Seguridad del Paciente 2015-2020, y del Plan Nacional de Resistencia Antibiótica (PRAM) del propio Ministerio. Para la Comunidad de Madrid, el documento de consenso para la implantación del código sepsis se completó en abril de 2017 con las recomendaciones principales. ¹⁴⁶

A pesar de que el diagnóstico microbiológico es un pilar fundamental en el manejo adecuado de la sepsis, existen pocos datos acerca de la implicación que estas alertas tienen en el laboratorio de microbiología ^{147-150,152,218} a pesar de que estos pacientes son probablemente los que más se beneficiarían de las nuevas tecnologías disponibles para el diagnóstico microbiológico. ^{93,94,115,128,147,151,192,193,219-227}

Por otro lado, debido a la amplia cartera de nuevas tecnologías y a las dificultades de su interpretación, es imprescindible combinarlas con la presencia de un especialista en enfermedades infecciosas familiarizado con las nuevas técnicas y capaz de proporcionar, en base a las mismas, un consejo diagnóstico y terapéutico. El impacto

que una intervención similar pueda tener en el pronóstico del paciente no ha sido bien estudiado.²²⁸

En el presente trabajo hemos querido evaluar las implicaciones de la implementación del código sepsis en la práctica rutinaria habitual en un Servicio de microbiología clínica y enfermedades infecciosas, la aplicación de las nuevas tecnologías en este tipo de pacientes, la rentabilidad de las mismas con respecto al diagnóstico convencional y el potencial impacto de la intervención por parte de enfermedades infecciosas.

2. OBJETIVOS

1. Evaluar las características de los pacientes con código sepsis de nuestro centro, la adecuación de la activación de la alerta, la adecuación del tratamiento antimicrobiano, el diagnóstico etiológico, la evolución y el consumo de antibióticos.
2. Evaluar el impacto de la alerta de código sepsis en el laboratorio de Microbiología: número de hemocultivos recibidos de pacientes con código sepsis respecto al total, número de muestras periféricas recibidas sobre el total, número de muestras en las que se aplican las nuevas tecnologías para diagnóstico rápido.
3. Medir el impacto de la alerta en las interconsultas de enfermedades infecciosas: número de interconsultas por códigos sepsis sobre el total.
4. Evaluar si existe un impacto clínico sobre el paciente, de una llamada urgente al laboratorio de microbiología en el momento de activar un código sepsis.
5. Evaluar si la valoración por un especialista en enfermedades infecciosas tiene un impacto en el tratamiento antibiótico, en la estancia hospitalaria o en el pronóstico del paciente.
6. Evaluar los factores relacionados con la mortalidad en este tipo de pacientes.

3. METODOLOGÍA

3.1 DISEÑO Y PERÍODO DEL ESTUDIO

Estudio prospectivo observacional que evalúa los pacientes con activación de código sepsis en el Hospital General Universitario Gregorio Marañón entre noviembre de 2022 y junio de 2023.

3.2 ÁMBITO DEL ESTUDIO

Estudio realizado en el Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Nuestra institución es un hospital de 1.349 camas que atiende a pacientes provenientes de 13 centros de salud, con una población aproximada de 750.000 habitantes. Se trata de un hospital de alta complejidad que consta de 7 unidades de pacientes críticos (2 UCIs médicas, 2 UCIs post-quirúrgicas, 1 unidad coronaria, 1 UCI pediátrica, 1 UCI de neonatología) y atiende inmunodeprimidos incluyendo pacientes trasplantados de órgano sólido y receptores de trasplante de progenitores hematopoyéticos. El Servicio de Microbiología y Enfermedades Infecciosas de nuestro hospital está compuesto tanto por facultativos de laboratorio como por facultativos que realizan las interconsultas de los pacientes ingresados con sospecha de infección. El contacto entre ambos grupos es estrecho y continuo de manera que existen varias alertas creadas para informar de los resultados más críticos desde el laboratorio al clínico correspondiente de manera que exista una correcta interpretación y actuación de acuerdo a dichos resultados.

El laboratorio de Microbiología recibió 164.510 muestras para cultivo bacteriológico en 2023, con una media mensual de 13.709 muestras.

El área de interconsultas del servicio de microbiología, realizó 5.293 interconsultas en 2023, con una media mensual de 440 interconsultas en pacientes hospitalizados a cargo de otros servicios.

3.3 PACIENTES Y MÉTODOS

3.3.1. Criterios de inclusión

Pacientes mayores de 18 años en los que se activa CS en el HGUGM entre noviembre de 2022 y junio de 2023.

3.3.2. Criterios de exclusión

Serán excluidos del estudio los pacientes menores de 18 años.

3.3.3. Alerta de código sepsis

El 18 de noviembre de 2022 se implementó en nuestro centro la alerta de “código sepsis”.

Dicha alerta no está automatizada, se activa manualmente por parte del personal médico o de enfermería en función de la sospecha de sepsis y la situación del paciente, en base a las definiciones de los consensos ya mencionados previamente Sepsis 2 y Sepsis 3. De forma resumida, se activa el código en presencia de sospecha de infección, shock séptico y/o qSOFA mayor o igual a 2 y/o presencia de SIRS y disfunción de uno o más órganos.

Como parte del protocolo de actuación, se recomienda encarecidamente la extracción de hemocultivos y de muestras procedentes del potencial foco de infección siempre que sea posible, seguido del inicio de tratamiento antibiótico, a valorar en función de las características del paciente y de la adquisición de la infección.

Debido a que la alerta de sepsis no es transmitida automáticamente al laboratorio, se recomienda también la llamada al laboratorio de microbiología para informar del paciente con alerta de sepsis además de informar del envío de muestras que deberán procesarse rápidamente en el laboratorio. Sin embargo, en el período de estudio, esta llamada no se produjo en todos los casos.

3.3.4 Diagnóstico microbiológico

El laboratorio de microbiología del HGUGM funciona diariamente 24 horas al día con un microbiólogo de guardia disponible también 24 horas.

Los hemocultivos recibidos son procesados inmediatamente introduciéndose en un sistema de incubación automática. En caso de detección de positividad por este Sistema, se realiza un algoritmo de diagnóstico rápido que consiste en:

- Tinción de Gram.
- Realización de subcultivos en placas de cultivo en medio sólido tipo agar sangre, agar chocolate y agar Brucella.
- Realización de antibiograma de muestra directa de hemocultivo con método disco-placa en función de la tinción de Gram: siembra en Muller-Hinton para cocos Gram positivos en racimo y bacilos Gram negativos, siembra en agar sangre para cocos Gram positivos en cadena.
- En caso de visualización de cocos Gram positivos en racimo en una única extracción, no se prosigue con el algoritmo diagnóstico, sino únicamente con cultivo convencional.
- En el resto de los casos, identificación sobre muestra directa mediante MALDI-TOF-MS tras obtención de pellet.
- En los días laborables, en los hemocultivos positivos a primera hora de la mañana, con visualización de bacilos Gram negativos, se realiza antibiograma rápido mediante sistema ALFRED 60/AST.
- En el caso de visualización de cocos Gram positivos en racimo, identificación de *S. aureus* en muestra directa por MALDI-TOF-MS o ausencia de identificación por MALDI-TOF-MS, se realizará GeneXpert de *S. aureus* para detección de gen *MecA* y SCC de cara a identificar si se trata de *S. aureus* sensible (SAMS) o resistente (SARM) a meticilina.
- En la siguiente jornada se realiza la lectura de los antibiogramas realizados mediante técnica disco-placa, de acuerdo a los criterios EUCAST.

- Se realiza además antibiograma mediante microdilución en caldo, bien del pellet obtenido directamente del hemocultivo, o de la colonia obtenida del subcultivo en medio sólido.

Este algoritmo se realiza tanto en pacientes con activación de código sepsis como en pacientes con bacteriemia sin activación del código sepsis.

El resto de muestras se procesan también de forma urgente, siempre que se alerte previamente mediante llamada telefónica al microbiólogo de guardia, quien decidirá las técnicas de diagnóstico rápido pertinentes en cada caso de acuerdo al síndrome del paciente, tales como:

- Tinción de Gram en el caso de muestras de orina, líquidos estériles, muestras de tracto respiratorio inferior, lesiones cutáneas y abscesos.
- Antibiograma de muestra directa mediante disco-placa o E-test en caso de visualización de un microorganismo con un único morfotipo en la tinción de Gram de muestras de: orina, aspirados traqueales, lavado broncoalveolar, abscesos.
- Pruebas de detección de antígenos mediante inmunocromatografía: detección de antígeno GDH y toxinas A/B de *C. difficile* en heces (*C. diff Quick Chek Complete*®), detección de antígeno de *S. pyogenes* en muestras de piel y partes blandas.
- PCR específicas GeneXpert® de *C. difficile* (detección de toxina B) en el caso de detección de antígeno por inmunocromatografía y GeneXpert de *S. aureus* en muestras de piel y partes blandas.
- Paneles sindrómicos de PCR múltiple Filmarray Biofire® (panel de meningitis/encefalitis en LCR, panel de neumonía en muestras de tracto respiratorio inferior, panel gastrointestinal en muestras de heces una vez descartado *C. difficile*).

3.3.5 Intervención por parte del especialista en enfermedades infecciosas

El área de interconsultas de enfermedades infecciosas funciona los días laborables de 8 a 15h, y no existe en nuestro centro una guardia específica para valoración las 24 horas. Las alertas de “Código sepsis” activadas el día anterior y el mismo día son revisadas por el equipo de enfermedades infecciosas y valoradas en función del área donde se encuentre el paciente. No todos los pacientes son valorados, ya que, al no haber guardia de 24 horas, algunos pacientes son dados de alta o fallecen antes de poder ser evaluados. Además, en ocasiones el paciente está en un área de tránsito o en un área donde no es posible la valoración mientras la alerta está activa.

Los interconsultores de enfermedades infecciosas intervienen en el manejo del paciente en los siguientes aspectos.

- Consejo sobre el diagnóstico microbiológico (extracción de muestras o realización en el laboratorio de técnicas adicionales), en caso de carecer de diagnóstico etiológico en el momento de la valoración.
- Consejo sobre la necesidad de otro tipo de pruebas para valoración del foco de la sepsis, como pruebas bioquímicas, radiológicas o endoscópicas.
- Consejo sobre el ajuste de tratamiento antibiótico, tanto en aquellos con diagnóstico etiológico como en aquellos sin diagnóstico.

3.3.6 Recogida de datos

Se recogieron a través de la historia clínica del paciente los siguientes datos: edad, sexo, comorbilidad, ¹⁵⁷ gravedad, necesidad de ingreso en UCI, foco sospechoso de infección, adquisición de la infección, ¹⁵⁶ pruebas microbiológicas realizadas, técnicas realizadas en el laboratorio, resultados microbiológicos, tratamiento antibiótico recibido en el ingreso, adecuación del tratamiento empírico, estancia hospitalaria y evolución en el día 30.

Se recogió, además, si se había avisado al laboratorio de microbiología inmediatamente tras la activación del código sepsis y si el paciente había sido valorado por el equipo de

enfermedades infecciosas, además de las recomendaciones emitidas y su aceptación por parte del médico responsable del paciente.

3.3.7. Definiciones

1. Sepsis: de acuerdo a las definiciones según los consensos Sepsis-2 y Sepsis-3.¹⁹
Resumidamente se consideró el diagnóstico de sepsis en pacientes con sospecha de infección, qSOFA de 2 o más, o SIRS además de disfunción de uno o más órganos.
2. Shock séptico: de acuerdo a las definiciones de Sepsis-3.¹⁹
3. Tratamiento empírico adecuado, si se cumple:
 - Elección de antibiótico adecuada: en caso de diagnóstico microbiológico si proporciona cobertura frente al microorganismo detectado. En caso de ausencia de diagnóstico etiológico, si es adecuado a las guías clínicas correspondientes de tratamiento empírico.
4. Control de foco adecuado: drenaje en presencia de abscesos, empiema, tejido devitalizado, retirada o recambio de catéter en caso de infección asociada a catéter urinario o infección asociada a catéter vascular.

3.3.8 Análisis estadístico

Las variables cualitativas se describen mediante sus frecuencias absolutas y relativas. Las variables cuantitativas se resumen con su media, desviación estándar (DE) o en su mediana y rango intercuartilíco (IQR) en caso de asimetría. En todos los casos se comprobó la distribución de la variable frente a modelos teóricos.

Las variables cualitativas se compararon con el test de la Chi cuadrado o test de Fisher. Las variables cuantitativas que siguen una distribución normal (expresadas en media y desviación estándar (DE) se compararon con el test de comparación de medias (t de Student). Cuando no fue posible asumir la distribución normal (test de Kolmogorov-Smirnov) se utilizaron métodos no paramétricos (test U de Mann Whitney o test de la mediana). En este último caso su expresión se muestra en mediana (p50) y su rango

intercuartilíco (IQR p25-p75). Se rechazó la hipótesis nula de igualdad entre los grupos comparados cuando la $p < 0,05$. Se utilizó el paquete de software SPSS® (IBM SPSS Statistics 26.0)

3.3.9 Aspectos éticos

El estudio se realizó siguiendo las normas éticas internacionalmente aceptadas, de acuerdo con los principios de la Declaración de Helsinki, respetando la normativa legal aplicable y las recomendaciones de buena práctica clínica (CPMP/ICH/135/95). El proyecto fue aprobado por nuestro comité de ética local con el código MICRO.HGUGM.2023-016.

4. RESULTADOS

En el periodo comprendido entre el 18 de noviembre de 2022 y el 30 de junio de 2023, el código sepsis se activó en 327 pacientes. De ellos, 308 (94,2%) tuvieron un diagnóstico final de infección y 19 pacientes (5,8%) tuvieron un diagnóstico alternativo. De los 308 pacientes con diagnóstico final de infección, 265 (81%) cumplían criterios de sepsis, y dentro de ellos, 108 (33,0%) de shock séptico según las definiciones previamente descritas.

4.1 Características clínicas

Las características clínicas de los pacientes se resumen en la tabla 14. De forma global, la mediana de edad fue de 72 años (IQR 57-83) y el 57,8% eran varones. La mediana de la puntuación del índice de Charlson fue de 5 (IQR 2-7).

La mayoría de las alertas se activaron en el Servicio de Urgencias (212 pacientes, 64,8%) y la mayoría fueron consideradas de adquisición comunitaria (247 pacientes, 75,5%). El foco sospechoso de infección fue principalmente urinario (114, 34,9%), seguido de respiratorio (105, 32,1%) e intraabdominal (53, 16,2%).

Tabla 14. Características de los 327 pacientes con activación de código sepsis

Variable	Frecuencia (%) N=327
Características basales	
Edad, años (mediana, IQR)	72 (57-83)
Sexo (varones)	189 (57,8)
Índice de Charlson (mediana, IQR)	5 (2-7)
Servicio donde se activa el CS.	
Urgencias	212 (64,8)
UCI	68 (20,8)
Servicio médico	23 (7,0)
Servicio quirúrgico	11 (3,4)
Oncohematología	13 (4,0)
Adquisición	
Comunitaria	247 (75,5)
Relacionada a la asistencia sanitaria	55 (16,8)
Nosocomial	25 (7,6)
Alergia a betalactámicos	16 (4,9)
Presentación clínica	
Foco	
Urinario	114 (34,9)
Respiratorio	105 (32,1)
Intra-abdominal	53 (16,2)
Piel y partes blandas	20 (6,1)
Gastrointestinal	10 (3,0)
Catéter intravascular	9 (2,8)
Infección del sitio quirúrgico	5 (1,5)
Sistema nervioso central	4 (1,2)
Otros	7 (2,1)
Criterios de sepsis	
No sepsis	62 (19,0)
Sepsis sin shock séptico	157 (48,0)
Shock séptico	108 (33,0)
Ingreso en UCI	96 (29,4)
Antibioterapia empírica	
Piperacilin/tazobactam	125 (38,2)
Monoterapia	101 (30,9)
Combinación	24 (7,3)
Meropenem	91 (27,8)
Monoterapia	41 (12,5)
Combinación	50 (15,3)
Ceftriaxona	73 (22,3)

Monoterapia	42 (12,8)
Combinación	31 (9,5)
Aztreonam	4 (1,2)
Levofloxacin en monoterapia	5 (1,5)
Otros	29 (8,9)
Evolución día 30	
Curado	240 (73,4%)
Muerto	51 (15,6%)
Recurrencia de infección	30 (9,2%)
Infección por <i>C. difficile</i>	6 (1,8%)
Días de hospitalización (mediana, IQR)	10 (5-19)

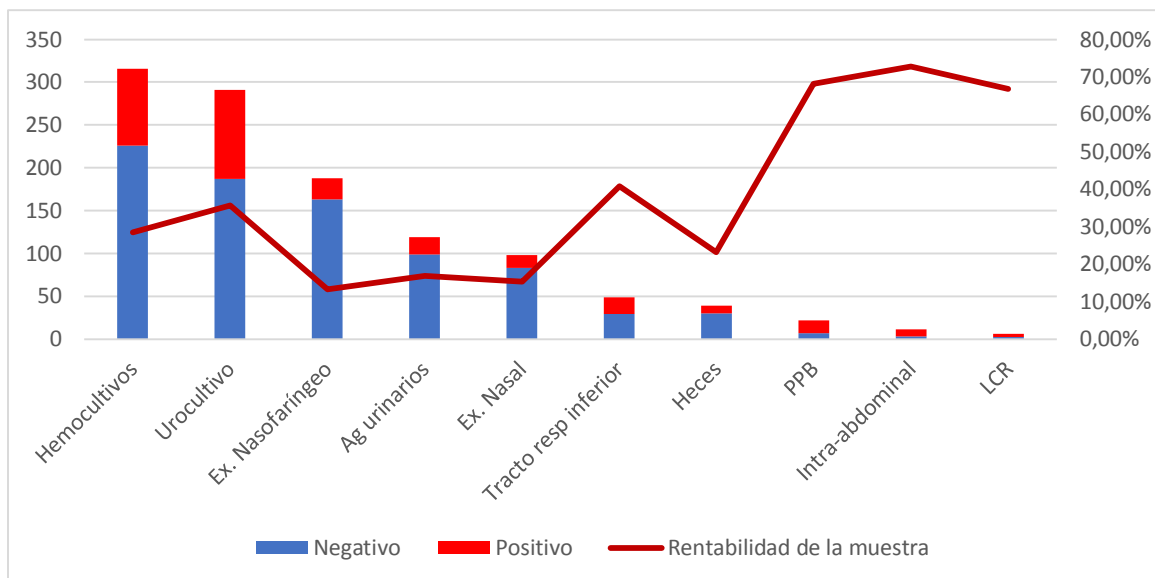
4.2 Muestras y diagnóstico microbiológico

Se tomó al menos una muestra para el laboratorio de microbiología en 326 pacientes. El número, el tipo de muestras y su positividad se resumen en la Figura 14.

Se recibieron un total de 1.799 muestras: 978 hemocultivos (326 sets de 3 hemocultivos), 291 muestras de orina para urocultivo, 119 muestras de orina para antígenos de neumococo y *Legionella*, 188 exudados nasofaríngeos para PCR de virus respiratorios (Gripe, VRS y SARS-CoV-2), 49 muestras de tracto respiratorio inferior, 98 exudados nasales, 39 heces, 11 muestras de absceso intra-abdominal, 22 muestras de piel y partes blandas 4 LCR.

En el mismo período se recibieron en el laboratorio 28.173 extracciones de hemocultivos y 62.521 muestras de otro tipo para cultivo bacteriológico. Por tanto, los hemocultivos recibidos de pacientes con código sepsis constituyeron un 3,4% de todos los hemocultivos recibidos en el laboratorio y el resto de muestras de pacientes con código sepsis un 1% de todas las muestras periféricas recibidas para cultivo bacteriológico.

En total, 230 (70,3%) tenían una muestra con un resultado microbiológicamente significativo. Sin embargo, sólo se consideró que 209 pacientes (63,9%) tenían un diagnóstico etiológico de acuerdo al foco causante de la sepsis.



ABREVIATURAS: AG, antígenos de neumococo y *Legionella*; PPB, piel y partes blandas; LCR, líquido cefalorraquídeo.

Figura 14. Muestras recibidas y positividad de los 327 pacientes con código sepsis

De ellos, 90 (27,5%) tenían bacteriemia significativa y en 119 (36,4%) otro tipo de muestra proporcionó el diagnóstico. Considerando sólo a los pacientes con sepsis, la proporción de pacientes con diagnóstico microbiológico fue mayor (188/265, 70,9%), figura 2. La etiología se resume en la tabla 2.

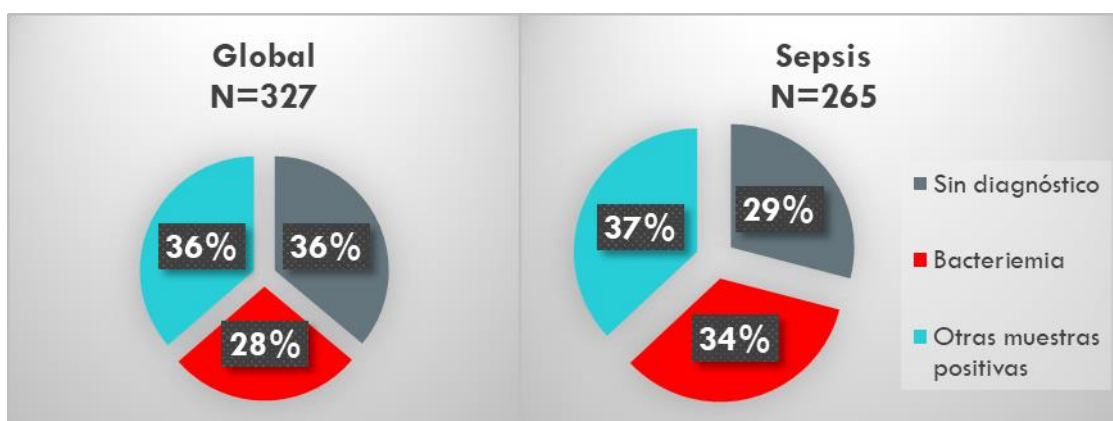


Figura 15. Diagnóstico etiológico global y en pacientes con diagnóstico final de sepsis.

Tabla 15. Etiología de la sepsis en 327 pacientes con activación de Código Sepsis

Etiología	Frecuencia (%) N=327
Sin etiología	118 (36,1)
Gram negativos	102 (31,2)
<i>E. coli</i>	50 (15,3)
BLEE ^a	7 (2,1)
BLEE y carbapenemasa OXA-48	1 (0,3)
<i>K. pneumoniae</i>	18 (5,5)
BLEE	2 (0,6)
BLEE y carbapenemasa OXA-48	4 (1,2)
<i>P. mirabilis</i>	11 (3,4)
Otras enterobacterias	14 (4,2)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8 (2,4)
<i>Legionella pneumophila</i>	1 (0,3)
Gram positivos	38 (11,6)
<i>S. pneumoniae</i>	18 (5,5)
<i>S. pyogenes</i>	7 (2,1)
<i>S. aureus</i>	5 (1,5)
<i>Enterococcus</i> spp.	7 (2,1)
<i>S. gallolyticus</i>	1 (0,3)
Anaerobios	11 (3,4)
<i>C. difficile</i>	4 (1,2)
Otros	5 (1,5)
Polimicrobiana	27 (8,3)
Fúngica	5 (1,5)
<i>Candida</i> spp	4 (1,2)
<i>P. jirovecii</i>	1 (0,3)
Virus	17 (5,2)
Gripe A	9 (2,7)
SARS-CoV-2 ^b	7 (2,1)
VRS ^c	1 (0,3)
Virus+bacteria	9 (2,7)

ABREVIATURAS: ^aBLEE, betalactamasa de espectro extendido; ^bSARS-CoV-2, Severe Acute Respiratory Syndrome-CoronaVirus-2; VRS, Virus Respiratorio Sincital.

4.3 Técnicas de diagnóstico rápido

En el período de estudio se realizaron 731 técnicas de diagnóstico rápido en las muestras procedentes de los 327 pacientes con código sepsis.

- Sobre hemocultivo positivo (N=90):
 - Tinción de Gram en todos los casos (90/90, 100%)
 - Identificación directa de pellet obtenido de botella de hemocultivo positivo mediante MALDI-TOF-MS en 59/90 pacientes (65,6%)
 - Antibiógrama Alfred 60/AST para bacilos Gram negativos en 12/90 (13,3%)
 - GeneXpert® *S. aureus* en 3/90 (3,3%)
- Sobre muestra de orina para urocultivo (N=291)
 - Tinción de Gram urgente en 125/291 (43,3%)
 - Antibiógrama preliminar mediante disco-placa en 71/291 (24,4%)
- Antígenos de neumococo y *Legionella pneumophila* en 119 orinas remitidas para realización de dicha técnica.
- Sobre muestra de tracto respiratorio inferior (N=49)
 - Tinción de Gram urgente en 35/49 (71,4%)
 - Panel PCR múltiple Filmarray Biofire® Pneumonia plus en 11/49 (22,4%)
- PCR de PCR gripe/VRS/SARS-CoV-2 en 188 exudados nasofaríngeos remitidos para dicha determinación.
- Sobre muestra de piel y partes blandas (N=22)
 - Antígeno de *S. pyogenes* 3/22(13,6%)
 - GeneXpert® *S. aureus* 3/22 (13,6%)
- Sobre muestra de heces (N=39)
 - Antígeno y toxina *C. difficile* en 39/39 (100%)
 - PCR GeneXpert® *C. difficile* en 3/39 (7,7%)
 - Panel PCR múltiple Filmarray Biofire® gastrointestinal en 4 (10,3%)
- Sobre muestra intra-abdominal (N=11)
 - Tinción de Gram urgente en 10 (90,9%)
- Sobre LCR (N=4)

- Tinción de Gram urgente en 4/4 (100%)
- Panel PCR múltiple Filmarray Biofire® Meningitis/Encefalitis en 2/4 (50%)

4.4 Alerta al laboratorio de microbiología

La llamada urgente al laboratorio de microbiología tras la activación del código sepsis (“alerta de laboratorio de microbiología”) se produjo en 213 pacientes (65,1%). La comparación entre aquellos casos en que se alertó al laboratorio frente a aquellos en los que no se alertó se muestra en la Tabla 17. No encontramos diferencias en las características basales de ambos grupos ni en el servicio donde se activó el CS ni en la adecuación del tratamiento empírico, muy elevada en ambos. Se llegó a un diagnóstico etiológico en una proporción similar en ambos grupos, sin embargo, en el grupo de la alerta fue más frecuente la realización de técnicas rápidas (54,5% vs 43,0%, $p=0,045$) y el diagnóstico microbiológico precoz (59.6% vs 36%, $p<0.001$). En los pacientes en los que se desescaló tratamiento antibiótico, la desescalada fue más precoz en el grupo de la alerta (desescalada en el día 3 frente al día 4, $p=0,003$). Aunque encontramos una tendencia a favor de la alerta en DOTs, desescalada de antibiótico, días de estancia y mortalidad, las diferencias no fueron estadísticamente significativas.

4.5 Tiempos de respuesta laboratorio de microbiología y métodos de diagnóstico

En los 209 pacientes con diagnóstico microbiológico acorde a foco sospechoso de la sepsis, el tiempo hasta el diagnóstico microbiológico fue inferior a 24 horas en 162(77,5%), entre 24 y 48 horas en 31 (14,8%) y de más de 48 horas en 16 (7,7%). En 44/90 (48,9%) pacientes bacteriémicos, se aisló el mismo microorganismo en el hemocultivo y en una muestra periférica de la fuente de infección, y en 17 de ellos (36.6%) el diagnóstico microbiológico fue más rápido en la muestra periférica que en el hemocultivo.

El diagnóstico microbiológico se realizó por cultivo en la mayoría de los pacientes (154/209, 73,7%), por técnicas moleculares en 22 (10,5%), por prueba de antígenos en 16 (7,7%) y por varias de estas técnicas en 17 (8,1%).

Tabla 17. Diferencias entre los pacientes en los que se alertó al laboratorio y aquellos en los que no se activó la alerta

<i>Variables</i>	<i>Alerta Microbiología N=213</i>	<i>No alerta Microbiología N=114</i>	<i>p</i>
<i>Características generales, mediana (IQR)</i>			
<i>Edad (años)</i>	70 (55-82)	74 (60-85)	0,588
<i>Índice de Charlson</i>	5 (2-7)	5 (3-7)	0,365
<i>Servicio</i>			
<i>Urgencias</i>	140 (65,7%)	72 (63,1%)	0,640
<i>Servicios médicos</i>	17 (7,9%)	8 (7,0%)	0,150
<i>Servicios quirúrgicos</i>	5 (2,3%)	6 (5,2%)	0,161
<i>Presentación clínica, n (%)</i>			
<i>Shock séptico</i>	69 (32,4%)	39 (34,2%)	0,730
<i>Ingreso en UCI</i>	70 (32,9%)	38 (33,3%)	0,930
<i>Diagnóstico microbiológico, n (%)</i>			
<i>Bacteriemia</i>	55 (25,8%)	35 (30,7%)	0,340
<i>Diagnóstico etiológico</i>	141 (66,2%)	68 (59,6%)	0,242
<i>Diagnóstico precoz</i>	127 (59,6%)	40 (36,0%)	<0.001
<i>Técnicas de diagnóstico rápido</i>	116 (54,5%)	49 (43,0%)	0,045
<i>Manejo, n (%)</i>			
<i>Tratamiento empírico adecuado</i>	196 (92,0%)	99 (86,8%)	0,861
<i>DOT, mediana (IQR)</i>	10 (6-19)	11 (5-17)	0,500
<i>Ajuste de antibiótico</i>	133 (62,4%)	68 (59,6%)	0,860
<i>Desescalada</i>	116 (54,5%)	55 (48,2%)	0,281
<i>Día de desescalada, (n=171), mediana (IQR)</i>	3 (2-4)	4 (3-5)	0,003
<i>Evolución</i>			
<i>Mortalidad, n (%)</i>	30 (14.1%)	21 (18.4%)	0,300
<i>Estancia hospitalaria, mediana (IQR)</i>	9 (6-17)	10 (5-20)	0,660

5.6 Tratamiento antibiótico y adecuación

Todos los pacientes recibieron al menos una dosis de tratamiento antibiótico. Los más utilizados, solos o en combinación, fueron piperacilina/tazobactam (125 pacientes, 38,2%), meropenem (91 pacientes, 27,8%) y ceftriaxona (73 pacientes, 22,3%).

El tratamiento empírico se consideró adecuado en 295/327 (90,2%), según la definición descrita previamente. En los 32 pacientes restantes, los motivos de inadecuación se debieron a una dosis insuficiente en 13/32 (40,6%), y a una cobertura inadecuada en 19/32 (59,4%).

4.6 Intervención por parte de especialista en enfermedades infecciosas

La mayoría de los pacientes (257/327, 78,6%) fueron evaluados por un especialista en enfermedades infecciosas. Setenta pacientes no fueron valorados, principalmente por no tener guardia 24 horas, de forma que 10 pacientes fueron dados de alta y 20 fallecieron antes de poder ser valorados; y 40 pacientes se encontraban fuera de área de posible intervención.

En el mismo período de tiempo evaluado, el servicio de Microbiología y Enfermedades Infecciosas realizó 3.140 interconsultas en pacientes hospitalizados. Por tanto, las interconsultas correspondientes al código sepsis constituyeron un 8,2% del total.

En el momento de la evaluación, 139/257 (54,1%) pacientes disponían de un diagnóstico microbiológico que permitía valorar la adecuación del tratamiento antibiótico empírico y su posible ajuste. Se realizaron recomendaciones diagnósticas en 143/257 (55,6%) pacientes con una mediana de 2 recomendaciones de pruebas diagnósticas por paciente, lo que contribuyó a obtener un diagnóstico etiológico en 18 pacientes adicionales (7,0%).

En cuanto al tratamiento antibiótico, en más de la mitad de los pacientes evaluados se recomendó la desescalada del tratamiento (132/257, 51,3%). El resto de recomendaciones terapéuticas fueron: continuar con el mismo tratamiento en 80/257 (30,7%), ajustar dosis en 5/257 (1,9%), retirar en 12 (4,7%), y ampliar el espectro según

información microbiológica en 26 pacientes (10,1%). La aceptación de las recomendaciones por parte del médico responsable del paciente fue de 91,4%.

Para medir el impacto de la intervención por parte de enfermedades infecciosas, excluimos los 22 pacientes que no pudieron ser valorados por alta o fallecimiento precoz. El impacto medido en el resto de pacientes se resume en la Tabla 18. Encontramos diferencias significativas a favor de la valoración por enfermedades infecciosas en cuanto a la desescalada (59,9% vs 33,3%, $p = 0,001$) y los días de estancia hospitalaria (10 vs 14 días, $p = 0,041$), sin embargo estas diferencias podrían explicarse por encontrar mayor comorbilidad, gravedad de la sepsis y mayor diagnóstico etiológico en el grupo en el que no se realizó la intervención (Tabla 18). No encontramos diferencias significativas en el consumo de antibióticos ni en la mortalidad.

Tabla 18. Diferencias entre los pacientes valorados y no valorados por un especialista en enfermedades infecciosas, excluyendo aquellos pacientes no valorados por muerte o alta precoz.

<i>Variables</i>	<i>Intervención EI</i> <i>N=257</i>	<i>No intervención EI</i> <i>N=48</i>	<i>p</i>
<i>Características generales, mediana (IQR)</i>			
<i>Edad, años</i>	70 (56-82)	74 (63-87)	0,330
<i>Índice de Charlson</i>	5 (2-7)	6 (3-8)	0,007
<i>Presentación clínica, n (%)</i>			
<i>Sepsis</i>	215 (83,6%)	39 (81,2%)	0,365
<i>Shock séptico</i>	72 (28,0%)	21 (43,7%)	0,020
<i>Ingreso en UCI</i>	78 (30,4%)	26 (54,2%)	0,001
<i>Servicio de activación CS, n (%)</i>			
<i>Urgencias</i>	168 (65,3%)	27 (56,2%)	0,220
<i>Unidad de críticos</i>	50 (19,4%)	16 (33,3%)	0,035
<i>Servicio médico</i>	31 (12,0%)	2 (4,1%)	0,101
<i>Servicio quirúrgico</i>	8 (3,1%)	3 (6,2%)	0,288
<i>Diagnóstico microbiológico, n (%)</i>			
<i>Bacteriemia</i>	82 (31,9%)	1 (2,1%)	<0.001
<i>Diagnóstico etiológico</i>	168 (65,3%)	23 (47,9%)	0,011
<i>Manejo, n (%)</i>			
<i>Adecuación tratamiento antibiótico</i>	220 (85,6%)	46 (95,8%)	0,122
<i>DOT, mediana (IQR)</i>	11 (7-18)	13 (6-24)	0.12
<i>Ajuste de tratamiento antibiótico, n (%)</i>	172 (66.9%)	23 (47.9%)	0.05
<i>Desescalada, n (%)</i>	154 (59.9%)	16 (33.3%)	0.001
<i>Día de desescalada (n=170), median (IQR)</i>	3 (2-4)	5 (2-9)	0.67
<i>Mortalidad, n (%)</i>	25 (9,7%)	6 (12,5%)	0,610
<i>Estancia hospitalaria, mediana (IQR)</i>	10 (6-18)	14 (8-24)	0,041

4.7 Control del foco

Se consideró que 214 (65,4%) pacientes no requerían ninguna intervención para el control de foco. En los 113 (34,6%) pacientes restantes, se realizó un control de foco adecuado dentro de las primeras 72 horas en 85 (26,0%) pacientes y no se realizó en 28 (8,6%).

4.8 Evolución y resultados

De forma global, 96/327 pacientes (29,4%) requirieron ingreso en la UCI debido a sepsis, mientras que 23 (7,0%) fueron rechazados para ingreso en una unidad de cuidados críticos debido a sus comorbilidades. Doce pacientes ya se encontraban en una unidad de cuidados críticos por otro motivo en el momento de la activación del código sepsis.

En el día 30 de evolución, 240/327 pacientes (73,4%) estaban curados, 30 (9,2%) habían desarrollado una recurrencia de la infección, 6 (1,8%) desarrollaron diarrea por *C. difficile* y 51 habían fallecido, lo que supuso una mortalidad global del 15,6%. Esta mortalidad se consideró relacionada con la sepsis en 43 pacientes (13,1%) y no relacionada en 8 (2,4%).

La mediana de estancia hospitalaria fue de 10 días (IQR 5-19).

La mortalidad y la duración media de la estancia fueron mayores en los pacientes que cumplían criterios de sepsis que en los que sólo presentaban infección (18,3% frente a 0%, $p<0,001$ y 11 días frente a 6 días, $p=0,001$). La mortalidad de los pacientes con shock séptico fue del 30,6 %.

Para el análisis de los factores asociados a mortalidad, sólo hemos tenido en cuenta los 265 pacientes con sepsis, encontrando asociación con la edad, la presencia de shock séptico, y la falta de control foco si estaba indicado (Tablas 19 y 20).

Tabla 19. Análisis univariable de factores asociados a mortalidad en 265 pacientes con criterios de sepsis e infección.

<i>Variables</i>	<i>Muertos N=48</i>	<i>Vivos N=217</i>	<i>p</i>
<i>Características basales</i>			
Edad, años, mediana (IQR)	83 (74-87)	69 (56-82)	< 0.001
<i>Sexo (varones), n (%)</i>	28 (58,3%)	124 (57,1%)	0.91
Índice de Charlson, mediana (IQR)	7 (5-8)	5 (2-7)	< 0.001
<i>Presentación clínica</i>			
Shock séptico	33 (68,8%)	75 (34,6%)	<0.001
<i>Ingreso en UCI</i>	13 (27,1%)	72 (33,2%)	0.26
<i>Foco de infección</i>			
<i>Urinario, n (%)</i>	15 (31,3%)	85 (39,2%)	0.19
<i>Respiratorio, n (%)</i>	17 (35,4%)	59 (27,2%)	0.16
<i>Intra-abdominal, n (%)</i>	10 (20,8%)	32 (14,7%)	0.20
<i>Diagnóstico microbiológico</i>			
<i>Diagnóstico etiológico, n (%)</i>	30 (62,5%)	157 (72,4%)	0.12
<i>Bacteriemia, n (%)</i>	15 (31,3%)	75 (34,6%)	0.80
<i>Diagnóstico precoz (<24horas), n (%)</i>	26 (54,2%)	122 (56,2%)	0.45
<i>Manejo</i>			
<i>Antibiótico empírico adecuado, n (%)</i>	45 (93,4%)	192 (88,5%)	0.21
Control de foco adecuado, n (%)	38 (79.2%)	201 (92.6%)	0.01

Tabla 20. Análisis multivariable de mortalidad en 265 pacientes con criterios de sepsis e infección

<i>Variable</i>	<i>OR (95% CI)</i>	<i>p</i>
Edad	1,06 (1.02-1.10)	0.001
<i>Índice de Charlson</i>	1.12 (0.94-1.35)	0.21
Shock séptico	5.31 (2.32-12.12)	<0.001
Control de foco adecuado	0.27 (0.095-0.749)	0.01

5. DISCUSIÓN

Nuestro estudio evalúa los primeros pacientes con activación de código sepsis en nuestro centro encontrando que se trata de pacientes con una mediana de edad elevada, múltiples comorbilidades, y con infecciones mayoritariamente comunitarias, activándose el código sepsis principalmente en el servicio de Urgencias. La adecuación del tratamiento antibiótico fue superior al 90% y la mortalidad atribuible, a pesar de la edad y la comorbilidad, fue de únicamente 15,6%.

Para el laboratorio de microbiología constituyó una carga de trabajo menor ya que sólo el 1% de las muestras recibidas para bacteriología procedieron de estos pacientes, siendo más elevada (3,4%), aunque llamativamente pequeña, la proporción de hemocultivos recibidos de código sepsis con respecto al total. Desde su implantación en nuestro centro, nuestro servicio ha incentivado encarecidamente la llamada urgente al laboratorio para un procesamiento rápido de las muestras y para una valoración de la optimización del diagnóstico microbiológico, principalmente en muestras distintas de los hemocultivos, ya que en esta área ya se realizaba previamente un algoritmo de diagnóstico rápido para todas las bacteriemias. Esta llamada se realizó únicamente en dos tercios de los pacientes, siendo en ellos más frecuente la realización de técnicas de diagnóstico rápido, la obtención de un diagnóstico microbiológico precoz, una desescalada más rápida y una tendencia favorable en la estancia hospitalaria y el consumo de antibióticos que no fue estadísticamente significativa. El porcentaje de pacientes con diagnóstico microbiológico y bacteriemia fue similar en ambos grupos, lo cual probablemente explique parcialmente la ausencia de diferencias más significativas.

En nuestro estudio, aproximadamente un tercio de los pacientes tuvo bacteriemia, cifras acordes con la literatura,²²⁹ mientras que más de un tercio tuvieron un diagnóstico etiológico a través de una muestra diferente del hemocultivo. La mayoría de estudios acerca del diagnóstico microbiológico de la sepsis se centran en muestras de sangre o hemocultivos, y sin embargo estas cifras apoyarían la implantación de algoritmos de diagnóstico rápido en otras muestras para este tipo de pacientes. En nuestro estudio se realizaron 657 técnicas de diagnóstico rápido en muestras distintas de hemocultivo, lo que constituye un 92,1% del total de técnicas rápidas realizadas en estos enfermos.

La repercusión del código sepsis fue mayor en el área de interconsultas de enfermedades infecciosas, donde el código sepsis fue motivo de aproximadamente un 8 % de todas las interconsultas. La valoración por enfermedades infecciosas no fue universal pero no se pudieron extraer conclusiones acerca de su impacto por las importantes diferencias basales y en la gravedad entre los pacientes con y sin valoración, teniendo en cuenta además un sesgo de supervivencia por no poder valorarse los pacientes que fallecieron precozmente debido a que no se dispone de guardia de 24 horas de enfermedades infecciosas en nuestro centro. Viale *et al* ²²⁸ estudiaron el impacto, sobre pacientes con sepsis grave o shock séptico atendidos en urgencias, de la valoración por un especialista en EI en menos de 1h, encontrando una reducción en la mortalidad en el día 14. En nuestro caso, no encontramos este impacto una vez excluido los pacientes con mortalidad precoz, lo que podría deberse a diferentes motivos. En primer lugar, en nuestra institución no existen una guardia de enfermedades infecciosas las 24 horas del día, por lo que consideramos que la valoración precoz se realizaba antes de las 24 horas, pero el tiempo de valoración dista mucho de la primera hora considerada en el estudio referido. En segundo lugar, consideramos pacientes con alerta de sepsis y analizamos el impacto clínico en pacientes que cumplían criterios de sepsis según las definiciones de sepsis 2 y sepsis 3, mientras que Viale *et al* estudiaron el impacto en pacientes con sepsis grave y shock séptico, pacientes con mayor mortalidad y mayor impacto potencial. En tercer lugar, en ese estudio la adecuación del tratamiento antibiótico empírico fue del 54% en general, y del 74% en la cohorte de intervención, significativamente inferior a la encontrada en nuestro estudio, que es llamativamente alta (90,2%). Por último, la mortalidad global en ese estudio (41% en el día 30) fue muy superior a la encontrada en nuestros pacientes (18% global en pacientes con sepsis; 30,6% en el caso shock séptico). En nuestro estudio, los factores asociados a mortalidad en el análisis multivariable fueron la edad, la gravedad de presentación (presencia de shock séptico) y la falta de control del foco de la sepsis, no encontrando relación con el foco, el diagnóstico microbiológico o la adecuación de tratamiento empírico.

Otros estudios no demuestran un impacto de los equipos PROA en la mortalidad de los pacientes con sepsis, sin embargo sí lo tienen en la adecuación de la antibioterapia y el

consumo de antibióticos ^{230,231}, tendencias que hemos visto en nuestro estudio y que apoyan la inclusión de estos equipos en los equipos multidisciplinares de código sepsis. Nuestros resultados sugieren que la mayor parte de los códigos sepsis se activaron correctamente ya que un 81% de los pacientes cumplían los criterios de sepsis y tuvieron diagnóstico de infección. Sin embargo, varios datos sugieren una infra-activación del código sepsis. En primer lugar, las cifras totales, con una media de 45 pacientes al mes, cifra muy baja para un centro con 5 unidades de críticos para pacientes adultos. En segundo lugar, la activación mayoritaria en el servicio de Urgencias frente a la práctica inexistencia de código sepsis en otros servicios médicos y en servicios quirúrgicos, probablemente por una menor concienciación en estas áreas que ya ha sido observada en otros centros con CS²²⁹. En tercer lugar, y en línea de lo anterior, un 75% de código sepsis con adquisición comunitaria de la sepsis, orientan a una infrarrepresentación muy importante de las sepsis nosocomiales. Por último, el porcentaje de hemocultivos procedentes de pacientes con código sepsis constituyó sólo un 3,4% del total de hemocultivos recibidos en el laboratorio; si bien no tenemos cifras del porcentaje de sepsis entre los pacientes en los que se extraen hemocultivos en nuestro centro, en un estudio multicéntrico español se observó que el 66% de los pacientes en los que se extraían hemocultivos en urgencias cumplían criterios de SIRS y un 18% tenía un qSOFA de 2 o más, ²³² con lo que podríamos esperar un porcentaje de pacientes con criterios de sepsis entre 5 y 20 veces mayor que los código sepsis activados. Esta infranotificación podría compensarse mediante alertas automáticas informatizadas de acuerdo a escalas definidas en función de las constantes vitales.

Nuestro estudio tiene varias limitaciones. En primer lugar, se trata de un estudio observacional donde no hemos podido evaluar el impacto real de la intervención por parte de EI. Una aleatorización no sería éticamente aceptable teniendo en cuenta la alta participación del servicio de microbiología y EI en pacientes con bacteriemia y sepsis y la literatura previa favorable a dicha participación. Por este mismo motivo, la alta implicación del laboratorio de microbiología desde la implantación del código sepsis en nuestro centro, hace difícil encontrar un gran impacto entre los pacientes en los que se alertó rápidamente al laboratorio de aquellos que no, ya que en un porcentaje muy

elevado de todos ellos se realizaron técnicas de diagnóstico rápido. En segundo lugar, la rutina del laboratorio varía en función del horario, teniendo su principal actividad en horario laboral de lunes a viernes por la mañana, factor que no ha sido tenido en cuenta a la hora de valorar las técnicas rápidas realizadas y los tiempos de respuesta globales. En tercer lugar, debido a diferencias en el momento de la administración del tratamiento antibiótico y su registro en el sistema informático, no ha sido viable evaluar el tiempo hasta la administración del antibiótico empírico adecuado, lo cual puede haber tenido un impacto en el pronóstico que no hemos podido medir.

En conclusión, encontramos una infranotificación de sepsis nosocomiales en nuestro medio, con una mayoría de activación de código sepsis en el área de Urgencias, correspondientes a sepsis comunitarias en pacientes de edad avanzada, con múltiples comorbilidades, y a pesar de ello con una mortalidad menor a la esperada probablemente asociado a una adecuación muy elevada del tratamiento empírico. La carga de trabajo para el laboratorio de microbiología fue menor, aunque se realizaron técnicas de diagnóstico rápido en numerosas muestras. La realización de técnicas rápidas fue más frecuente cuando se alertó al laboratorio tras la activación del código sepsis, lo cual se asoció a un diagnóstico más rápido y con una tendencia a un menor consumo de antibióticos y menor estancia hospitalaria. Se precisan medidas que aumenten la cantidad de pacientes que puedan beneficiarse de la activación de código sepsis, como la automatización de alertas en función de las constantes vitales, para detectar la sepsis antes del desarrollo de shock séptico, donde la mortalidad es prácticamente del doble.

DISCUSIÓN FINAL

DISCUSIÓN FINAL: RETOS FUTUROS DEL DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO EN LA SEPSIS y PAPEL DEL MICROBIÓLOGO Y DE LA ESPECIALIDAD DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS.

1. La revolución de las ciencias ómicas

En los próximos años continuaremos asistiendo a la revolución tecnológica presente en los laboratorios de Microbiología gracias a los avances exponenciales en el mundo de la secuenciación genómica. Secuenciar el primer genoma humano completo llevó 14 años y costó 3 billones de dólares, mientras que actualmente es posible secuenciar múltiples genomas de forma simultánea por menos de 100 dólares.²³³ La pandemia COVID-19 ha ayudado a expandir las técnicas moleculares en el diagnóstico microbiológico hasta estar presente hasta en los laboratorios más pequeños. Ya en años previos, la tecnología había sustituido a las pruebas bioquímicas para la identificación bacteriana, y aunque el cultivo bacteriano continúa siendo un pilar fundamental de la microbiología, las técnicas moleculares empiezan a sustituirlo en cada vez más ocasiones. Es más, en el auge del estudio del microbioma humano, se ha introducido el concepto de “materia oscura” para referirse a los millones especies de bacterias descubiertas mediante secuenciación que no han podido aislarse en el laboratorio mediante cultivo. Los microorganismos, primeros habitantes de nuestro planeta, se han adaptado a infinitos ambientes, recónditos e inimaginables por el ser humano, imposibles de reproducir en el laboratorio. La interacción entre microorganismos y el microambiente en el que se desarrollan supone también un área de desconocimiento tan compleja que los avances tecnológicos no han conseguido resolver. Este gap ha ido acortándose^{234 235} con un gran desarrollo también de nuevos métodos de cultivo desconocidos hasta el momento, cada vez más automatizados y disponibles²³⁶, en lo que se ha denominado “culturómica”. Se desconoce de momento el papel patogénico de esta materia oscura pero probablemente juegue un papel importante en la respuesta del huésped a diversos patógenos, de vital importancia en el caso de la sepsis. Los avances en el conocimiento del microbioma y de la interacción de el mismo con el ambiente in vivo y ex vivo darán pie a ulteriores investigaciones que puedan tener una aplicación más práctica en el campo de la medicina.

De esta manera, no sólo la tecnología dentro de los laboratorios de microbiología tendrá implicaciones en el pronóstico de la sepsis, sino que también los avances en genómica humana que implican a los servicios de Genética clínica jugarán un papel protagonista, actualmente más focalizados en la oncología y las enfermedades hereditarias. Y junto a la genómica, la inteligencia artificial que nos ayude a interpretar el exceso de información del que ya disponemos actualmente. Informáticos y bioingenieros que actualmente ya están muy presentes en los equipos de investigación, serán muy necesarios también en las áreas clínicas en contacto directo con el paciente.

2. El final del “tratamiento empírico”

Como hemos comentado previamente, el gran desarrollo tecnológico que estamos experimentando, la disponibilidad, abaratamiento y simplificación cada vez mayor de las técnicas moleculares hará posible probablemente universalizar esta tecnología para guiar a los profesionales en la prescripción de tratamientos y disminuir cada vez más el empirismo. Cuesta creer aún en que llegaremos a un momento en el que el concepto de tratamiento empírico haya desaparecido completamente, pero sin duda, la revolución tecnológica jugará un papel fundamental en su consecución. El objetivo de las técnicas será determinar con exactitud el agente causante de una infección en un tiempo tan corto que permita esperar los resultados antes de realizar la elección del tratamiento antibiótico.

Hasta llegar a ese momento en el que dispongamos de técnicas muy sensibles, ultra-rápidas, económicamente asumibles, en el que nuestros conocimientos y experiencia sean tan amplios como para guiarnos completamente por sus resultados, tendremos que conformarnos con “atinar” en el tratamiento empírico, al menos la primera dosis, y apostar más a “lo que no tiene el paciente” más que a saber exactamente lo que tiene. Algunos hospitales utilizan ya sistemas de inteligencia artificial que predicen de forma precisa la posibilidad de que un paciente tenga un microorganismo multi-resistente para guiar el tratamiento empírico. Esta podría ser una primera aproximación que ayudaría a adecuar el tratamiento empírico de una forma más precisa. ²³⁷⁻²⁴¹

Además de las nuevas tecnologías, en el ámbito comunitario, tenemos que destacar los test antigénicos, ampliamente utilizados en el laboratorio, pero en auge tras la pandemia COVID-19. Se trata de test sencillos y baratos que uno puede adquirir en su farmacia habitual para realizar “auto-diagnóstico” y que en situaciones concretas pueden ayudar a disminuir la transmisión,²⁴² además de tener el potencial de reducir consultas en A. Primaria y reducir también la prescripción de antibióticos para infecciones respiratorias en el ámbito comunitario. En el caso de la sepsis y como hemos visto en nuestro proyecto, muchos test de este tipo pueden ser muy útiles para determinar multi-resistencia (detección de BLEE o carbapenemasas) con elevada sensibilidad y especificidad, además de un coste mucho menor que las técnicas moleculares.

3. La relación entre el microbiólogo y el médico prescriptor

Como hemos visto en nuestro proyecto, los resultados positivos tienen un impacto mayor en el ajuste del tratamiento ya que, al menos en parte, un resultado positivo nos da la suficiente confianza para modificar el tratamiento empírico a uno dirigido, mientras que la ausencia de detección de un patógeno nos genera una incertidumbre que favorece la inercia terapéutica. La psicología es un factor vital a la hora de ajustar o no prescribir un tratamiento, y el prescriptor debe tener una confianza total en los resultados de la microbiología o al menos en el consejo dado por un especialista que conozca perfectamente el rendimiento de una técnica y sus puntos débiles. En un mundo donde dispondremos de técnicas como la secuenciación genómica de nueva generación que amplifique el ADN de cualquier microorganismo en un corto espacio de tiempo, será indispensable un amplio conocimiento de las técnicas para poder realizar una interpretación precisa y correcta, ya que error en el ámbito de la sepsis puede tener consecuencias graves. Es interesante ver que estudios preliminares sugieren una alta sensibilidad de algunas técnicas moleculares en sangre incluso en infecciones leves,^{84,85,243} por lo que en el futuro estas técnicas no serán reservadas únicamente para pacientes sépticos, sino para cualquier tipo de infección, siempre que tengan un coste asumible.

La adaptación de los médicos prescriptores a este tipo de técnicas es también de vital importancia, y sin embargo, con el gran desarrollo tecnológico es imposible que especialistas en otras áreas estén familiarizados con todas las técnicas disponibles y sean capaces de interpretar resultados de una manera que les permita confiar y ajustar el tratamiento antimicrobiano. El papel del microbiólogo y de los equipos PROA será vital en este sentido, y la actualización continua indispensable. Pero además de la formación en nuevas tecnologías, será fundamental la formación en la comunicación de resultados, que tenga en cuenta también las características del paciente y su situación clínica. Si nos limitamos a realizar un informe que esté disponible en la historia clínica electrónica del paciente, el esfuerzo de aplicar las nuevas tecnologías no tendrá la misma utilidad.¹⁵²

No es difícil imaginar que en el futuro nos encontraremos con un informe de resultados interpretado por inteligencia artificial, que en el contexto del paciente, proporcione probabilidades de que el resultado sea significativo para el paciente en cuestión y aporte las recomendaciones de tratamiento más oportunas. Hasta entonces, los microbiólogos del futuro tendrán como misión principal de decidir qué prueba realizar y a qué tipo de paciente, además de la interpretación de resultados y la especialización en técnicas concretas debiendo conocer su sensibilidad, especificidad y valores predictivos. La habilidad de una buena comunicación basada en unos conocimientos precisos de la tecnología, deberá acompañar al desarrollo tecnológico.

4. El problema de la multi-resistencia

El abuso de antibióticos que nos ha llevado a la era de la multi-resistencia continúa de momento a pesar del gran desarrollo en antibióticos al que hemos asistido recientemente, estimándose para el año 2050 10 millones de muertes por esta causa (WHO 2019). Existe un gran trabajo en este sentido por parte de los equipos PROA, pero es imprescindible también un cambio cultural a nivel poblacional para superar el sobre-uso de los antibióticos. De momento la inmensa mayoría de antibióticos se prescriben de forma empírica, especialmente fuera del hospital donde se precisa tomar

decisiones rápidas sin disponer prácticamente de técnicas para realizar un diagnóstico microbiológico.

En los últimos años se han desarrollado numerosos antibióticos que a día de hoy facilitan el tratamiento de bacterias multi-resistentes. Sin embargo, también ha complicado considerablemente la elección del tratamiento antibiótico empírico en un contexto de infección nosocomial y presencia de multirresistencia. Tal como la historia nos ha enseñado hasta ahora, con el uso de nuevos antibióticos, aparecen consecuentemente nuevos mecanismos de resistencia frente a ellos, que convendrá conocer en detalle para valorar la mejor estrategia de tratamiento. En este contexto, no podremos deshacernos de antiguos antibióticos que aún podremos utilizar como rescate en situaciones desesperadas a pesar de su potencial toxicidad y, por otro lado, debido al uso de antibióticos de cada vez más amplio espectro, y principalmente de uso intravenoso, la alteración de la microbiota de los pacientes y la infección por *C. difficile* continuará siendo un grave problema. En el futuro próximo, es esperable que tratar la infección nosocomial sea un reto aún mayor que el actual, y que el especialista en enfermedades infecciosas y PROA sea una necesidad cada vez mayor en los hospitales.

5. Desarrollo de nuevos antibióticos y “no antibióticos”

En el momento en que seamos capaces de disponer del diagnóstico microbiológico antes de iniciar el tratamiento antibiótico, será muy interesante disponer de antibióticos que, en lugar de tener un espectro amplio, tuvieran un espectro reducido frente a bacterias concretas, que afectara lo menos posible al resto de la microbiota del paciente. La industria farmacéutica debería estar atenta a esta perspectiva y no centrarse sólo a antibióticos de espectro cada vez más amplio. La administración oral debería ser también una prioridad en el desarrollo de nuevos antibióticos, ya que probablemente en el futuro detectemos la etiología de una forma muy precoz, sin que el paciente precise hospitalización, y este tipo de opciones, añadidas a las que ya tenemos para bacterias “sensibles” tendrán una gran cabida. Por otro lado, cada vez disponemos de más estudios en los que la vía oral muestra ser igual de efectiva que la vía intravenosa incluso en infecciones complicadas. ^{206,244-249}.

También están actualmente en el auge, aunque con un uso muy limitado, otro tipo de antimicrobianos diferentes de los antibióticos. En especial, ha cobrado especial interés la fagoterapia. Los bacteriófagos son virus que matan determinadas bacterias y que se han utilizado para disminuir la carga bacteriana en casos aislados de infección, especialmente para infecciones que no responden al tratamiento antibiótico o para aquellas con resistencia a los mismos. Los fagos tienen diversas ventajas: son muy específicos para una bacteria determinada por lo que su actividad frente al resto del microbioma es escasa ²⁵⁰. Por el contrario, encontrar el fago apropiado, conocer la dosis necesaria y adquirir más experiencia en su efectividad y potenciales efectos adversos son aún importantes limitaciones de esta terapia. ²⁵¹. También existen opciones interesantes de medicamentos utilizados para enfermedades no infecciosas pero que tienen efecto antibacteriano con menor impacto en la microbiota humana. ^{252,253}. Por último, dado que las bacterias requieren de metales para su proliferación, sustancias que tienen como diana los sistemas de transporte de estos metales pueden, como los metalóforos han mostrado ser una opción prometedora para las infecciones causadas por bacterias multi-resistentes. ²⁵⁴ y cada vez se dispone de más estudios que apoyan el uso de iodóforos para disregular el flujo de los metales con la consecuente muerte bacteriana. ²⁵⁵

Al igual que hemos comentado en apartados previos, este desarrollo de nuevos agentes antibacterianos, probablemente más disponibles en un futuro próximo, hará más necesaria la presencia de un experto en todas las opciones disponibles.

6. Duración del tratamiento antibiótico

La duración del tratamiento antibiótico ha ido acortándose con los años y cada vez más estudios apoyan tratamientos cortos para la mayor parte de síndromes, incluyendo sepsis y bacteriemia, todos resumidos y con actualizaciones continuas en la popular página web bradspellberg.com/shorterisbetter. Con este movimiento, que cumple 15 años, el dogma de “completar el ciclo antibiótico” se pone cada vez más en entredicho ²⁵⁶ y cada vez parece más evidente que tratamientos cortos son igual de efectivos y con menor impacto ecológico. Por tanto, es esperable que en el futuro las

duraciones de tratamiento de diversas infecciones cambien en función del conocimiento al respecto. Es de esperar también la adquisición de experiencia con los tratamientos de larga vida media con dosificación única y acción prolongada, con reciente aparición en nuestra armamentística, y que sin embargo en el campo de la sepsis no han tenido tanto desarrollo. La falta de experiencia y los ensayos principales en infecciones leves los hace una opción poco atractiva, y sin embargo, cada vez tenemos más experiencia utilizándolos en infecciones complicadas. Si disponemos de diagnóstico microbiológico precoz, serán una opción muy interesante para el tratamiento de sepsis por gram positivos, y pueden ir asociados a una importante coste-eficiencia.

7. Biomarcadores

Los biomarcadores son indicadores de la situación clínica de un paciente que se pueden determinar con precisión en el laboratorio. En relación con la sepsis, se han valorado numerosos biomarcadores relacionados con la gravedad y el pronóstico que además pueden ayudar a tomar decisiones terapéuticas. Los más conocidos son la procalcitonina, la proteína C reactiva, la enzima lactato deshidrogenasa, la Interleucina 6 y el factor de necrosis tumoral alfa, pero los biomarcadores estudiados en la sepsis son innumerables, aportando la mayoría información útil pero sin grandes repercusiones en el pronóstico del paciente con sepsis. (Pierrakos 2020) De momento no disponemos del biomarcador perfecto y parece más probable que alcancemos más precisión con una combinación de ellos más que con uno en particular, ayudados por fórmulas y algoritmos automatizados que nos permitan diferenciar infección de un proceso no infeccioso, además de orientar hacia la gravedad.

Ligado a un diagnóstico microbiológico preciso, deberemos tener herramientas que nos ayuden a diferenciar infección de colonización. Como hemos visto en nuestro estudio, y especialmente con las muestras de orina, muchas se extraen por la facilidad de obtenerlas, sin que realmente haya sospecha de ser el foco de procedencia de la sepsis. Por tanto, un biomarcador o una combinación de biomarcadores que nos ayuden en el diagnóstico, especialmente en pacientes en los que la clínica es poco

orientativa (ej, neonatos o ancianos), ayudará a una mejor utilización de los antibióticos. Es esperable que en el futuro, detectemos material genético en sangre de microorganismos que no están produciendo realmente una infección, y en este contexto necesitaremos herramientas adicionales, probablemente asociadas a algoritmos e inteligencia artificial que apoyen o descarten su papel patogénico.

También nos podrían ayudar en una fase pre-analítica, a seleccionar el paciente que realmente tiene una infección y precisa de toma de muestras y aplicación de tecnología para el diagnóstico, ayudando al coste-eficiencia de estas técnicas.

8. La especialidad de Enfermedades Infecciosas

En todas las especialidades médicas, el desarrollo del conocimiento y de nuevas tecnologías conlleva cada vez más una sub-especialización que permita adquirir suficiente experiencia para utilizarlas con pericia.

La Microbiología es una más, pero con una expectativa de desarrollo mucho mayor, como hemos desgranado en apartados previos. La disponibilidad de nuevas técnicas será cada vez mayor y la interpretación de los resultados microbiológicos cada vez más compleja.

En nuestro proyecto, los resultados de las nuevas tecnologías han ido siempre combinados con la transmisión de la información por parte de un especialista clínico, ya que un resultado por sí mismo, transmitido mediante un informe, no podrá nunca tener el mismo impacto que una información interpretada y comunicada por un clínico que pueda valorar además la situación del paciente.

Esta es sólo una pequeña parte del papel del experto en enfermedades infecciosas, la de valorar al paciente en conjunto con un resultado microbiológico, pero ha demostrado en muchas entidades concretas, disminuir la mortalidad de los pacientes.^{153,257-263} En un momento en el que muchos profesionales dedicados a las EI ya se han sub-especializado, es realmente sorprendente que no dispongamos aún de la especialidad de EI en España. Pero si miramos al futuro próximo, tal como hemos hecho en esta discusión, la necesidad de la especialidad es apremiante para

acompañar de una forma efectiva a la revolución tecnológica de los laboratorios de Microbiología.

Con este proyecto y esta tesis, queremos contribuir a resaltar el papel del especialista en EI y sumarnos a la reivindicación realizada por muchos profesionales, asociaciones de pacientes y por la Sociedad Española de Microbiología Clínica (SEIMC) de la creación de la especialidad de EI en nuestro país, que esperamos ver como una realidad próximamente.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1. Los paneles sindrómicos de PCR múltiple aportaron un diagnóstico etiológico, adicional al proporcionado por el diagnóstico convencional en casi un 30% de los pacientes con sospecha de infección cubierta por dichos paneles y proporcionaron el mismo resultado que el diagnóstico convencional en el 10 %, adelantando los resultados en más de 72 horas. Es de destacar los hallazgos de falsos negativos para *Listeria monocytogenes* y *H. influenzae* en el panel de meningitis/encefalitis, un factor a considerar a la hora de realizar ajuste de tratamiento antibiótico cuando se sospecha una meningitis bacteriana.
2. El resultado de los paneles de PCR múltiple motivó un ajuste de tratamiento antimicrobiano empírico en casi la mitad de los pacientes (45.1%) en las 24 horas siguientes a la información rápida.
3. El impacto de la intervención fue mayor en aquellos pacientes con un resultado positivo en la PCR múltiple: mayor ajuste de tratamiento, menor consumo de antimicrobianos, menor realización de pruebas complementarias y menor estancia hospitalaria.
4. La combinación de la incubación de la muestra de orina en Alfred 60/AST junto con la identificación mediante MALDI-TOF-MS y la detección de mecanismos de resistencia, del pellet obtenido tras la detección de crecimiento, fue capaz de adelantar la identificación del microorganismo causante de infección urinaria en el 92.8% de los casos. En el caso de las enterobacterias, causa mayoritaria de la infección urinaria, Alfred 60/AST proporcionó la sensibilidad a antibióticos en el 93.2% de los pacientes, con una buena concordancia con respecto al diagnóstico convencional, en un tiempo de unas 7.20 horas desde la recepción de la muestra, frente a las más de 72 horas mediante el diagnóstico convencional. En más del 90% de los casos pudo ser informado en el mismo turno en el que se recibió la muestra.
5. El algoritmo de diagnóstico rápido, propuesto en nuestro estudio, sobre muestra de orina de pacientes con sospecha de sepsis urinaria, seguido de la comunicación inmediata de resultados y de consejo terapéutico por parte de un experto al médico responsable del paciente, conlleva una reducción en el consumo, el coste

- de antibióticos, la necesidad de ingreso en UCI y la mortalidad global, con una tendencia además a la reducción en la estancia hospitalaria y la estancia en UCI
6. Los primeros pacientes con activación de código sepsis (CS) en nuestro centro son pacientes de edad avanzada, con múltiples comorbilidades, que se encuentran principalmente en el servicio de Urgencias con infecciones mayoritariamente comunitarias, las más frecuentes de foco urinario y respiratorio. La adecuación del tratamiento antibiótico fue muy elevada (mayor al 90%) y la mortalidad baja pesar de la edad y la comorbilidad (15.6%).
 7. El impacto del CS para el laboratorio de microbiología fue pequeño ya que sólo el 1% de las muestras recibidas para bacteriología procedieron de estos pacientes, siendo más elevada (3.4%), aunque llamativamente pequeña, la proporción de hemocultivos recibidos de CS con respecto al total. Estos datos indican una baja activación del CS sobre el total de pacientes con sospecha de sepsis.
 8. La llamada urgente al laboratorio de Microbiología tras la activación del código sepsis se realizó únicamente en dos tercios de los pacientes, siendo en ellos más frecuente la realización de técnicas de diagnóstico rápido, la obtención de un diagnóstico microbiológico precoz, una desescalada más rápida y una tendencia a una menor estancia hospitalaria y a menor consumo de antibióticos que no fue estadísticamente significativa.
 9. La repercusión del CS en el área de interconsultas de Enfermedades Infecciosas (EI) fue mayor que en el laboratorio, siendo el motivo de aproximadamente un 8 % de todas las interconsultas.
 10. La valoración por enfermedades infecciosas no fue universal y comparando los pacientes valorados frente a los no valorados encontramos un mayor ajuste de tratamiento antibiótico, una desescalada más frecuente, menor consumo de antibióticos y menor estancia hospitalaria. Sin embargo, existían importantes diferencias basales y en la gravedad entre los grupos que podrían explicar estas diferencias.
 11. Como factores relacionados con la mortalidad en los pacientes con CS encontramos: edad, comorbilidad, presencia de shock séptico, y falta de control de foco adecuada.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

1. Sandulescu O, Streinu-Cercel A, Motoi MM, Preotescu LL. Syndromic Testing in Infectious Diseases: From Diagnostic Stewardship to Antimicrobial Stewardship. *Antibiotics (Basel)*. Dec 21 2022;12(1).
2. Rudd KE, Johnson SC, Agesa KM, et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990-2017: analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet*. Jan 18 2020;395(10219):200-211.
3. Geroulanos S, Douka ET. Historical perspective of the word "sepsis". *Intensive Care Med*. Dec 2006;32(12):2077.
4. Funk DJ, Parrillo JE, Kumar A. Sepsis and septic shock: a history. *Crit Care Clin*. Jan 2009;25(1):83-101, viii.
5. Julius Cohnheim (1839-1884) experimental pathologist. *JAMA*. Nov 11 1968;206(7):1561-1562.
6. Rosengart MR. Critical care medicine: landmarks and legends. *Surg Clin North Am*. Dec 2006;86(6):1305-1321.
7. Magner LN. *A history of infectious diseases and the microbial world*. Westport, Conn. ; London: Praeger Publishers; 2009.
8. Tavassoli M. Selected items form the history of pathology -- Robert Koch (1843-1910). *Am J Pathol*. Oct 1980;101(1):78.
9. Pasteur L, Faulkner F, Robb DC. *Studies on fermentation ... : a translation ... of "Études sur la bié\0300re"*. [S.l.]: [s.n.]; 1879.
10. Rietschel ET, Cavaillon JM. Endotoxin and anti-endotoxin. The contribution of the schools of Koch and Pasteur: life, milestone-experiments and concepts of Richard Pfeiffer (Berlin) and Alexandre Besredka (Paris). *J Endotoxin Res*. 2002;8(2):71-82.
11. Osler WS. *The evolution of modern medicine*. New Haven: Yale Univ. Press; 1923.
12. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med*. Apr 17 2003;348(16):1546-1554.
13. Jaimes F. A literature review of the epidemiology of sepsis in Latin America. *Rev Panam Salud Publica*. Sep 2005;18(3):163-171.
14. Bone RC, Fisher CJ, Jr., Clemmer TP, Slotman GJ, Metz CA, Balk RA. A controlled clinical trial of high-dose methylprednisolone in the treatment of severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med*. Sep 10 1987;317(11):653-658.
15. Bone RC, Sibbald WJ, Sprung CL. The ACCP-SCCM consensus conference on sepsis and organ failure. *Chest*. Jun 1992;101(6):1481-1483.
16. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest*. Jun 1992;101(6):1644-1655.
17. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med*. Apr 2003;31(4):1250-1256.
18. Lai NA, Kruger P. The predictive ability of a weighted systemic inflammatory response syndrome score for microbiologically confirmed infection in hospitalised patients with suspected sepsis. *Crit Care Resusc*. Sep 2011;13(3):146-150.
19. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. Feb 23 2016;315(8):801-810.
20. Dellinger RP, Carlet JM, Masur H, et al. Surviving Sepsis Campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med*. Mar 2004;32(3):858-873.

21. Levy MM, Evans LE, Rhodes A. The Surviving Sepsis Campaign Bundle: 2018 Update. *Crit Care Med.* Jun 2018;46(6):997-1000.
22. Levy MM, Evans LE, Rhodes A. The Surviving Sepsis Campaign Bundle: 2018 update. *Intensive Care Med.* Jun 2018;44(6):925-928.
23. Shorr AF, Micek ST, Jackson WL, Jr., Kollef MH. Economic implications of an evidence-based sepsis protocol: can we improve outcomes and lower costs? *Crit Care Med.* May 2007;35(5):1257-1262.
24. Suarez D, Ferrer R, Artigas A, et al. Cost-effectiveness of the Surviving Sepsis Campaign protocol for severe sepsis: a prospective nation-wide study in Spain. *Intensive Care Med.* Mar 2011;37(3):444-452.
25. Azkarate I, Choperena G, Salas E, et al. Epidemiology and prognostic factors in severe sepsis/septic shock. Evolution over six years. *Med Intensiva.* Jan-Feb 2016;40(1):18-25.
26. Abad CL, Kumar A, Safdar N. Antimicrobial therapy of sepsis and septic shock--when are two drugs better than one? *Crit Care Clin.* Apr 2011;27(2):e1-27.
27. Kumar A. Optimizing antimicrobial therapy in sepsis and septic shock. *Crit Care Clin.* Oct 2009;25(4):733-751, viii.
28. Kumar A, Ellis P, Arabi Y, et al. Initiation of inappropriate antimicrobial therapy results in a fivefold reduction of survival in human septic shock. *Chest.* Nov 2009;136(5):1237-1248.
29. Kumar A, Haery C, Paladugu B, et al. The duration of hypotension before the initiation of antibiotic treatment is a critical determinant of survival in a murine model of Escherichia coli septic shock: association with serum lactate and inflammatory cytokine levels. *J Infect Dis.* Jan 15 2006;193(2):251-258.
30. Pruinelli L, Westra BL, Yadav P, et al. Delay Within the 3-Hour Surviving Sepsis Campaign Guideline on Mortality for Patients With Severe Sepsis and Septic Shock. *Crit Care Med.* Apr 2018;46(4):500-505.
31. Tiru B, DiNino EK, Orenstein A, et al. The Economic and Humanistic Burden of Severe Sepsis. *Pharmacoeconomics.* Sep 2015;33(9):925-937.
32. Fleischmann C, Scherag A, Adhikari NK, et al. Assessment of Global Incidence and Mortality of Hospital-treated Sepsis. Current Estimates and Limitations. *Am J Respir Crit Care Med.* Feb 1 2016;193(3):259-272.
33. Fleischmann C, Thomas-Rueddel DO, Hartmann M, et al. Hospital Incidence and Mortality Rates of Sepsis. *Dtsch Arztebl Int.* Mar 11 2016;113(10):159-166.
34. Blanco J, Muriel-Bombin A, Sagredo V, et al. Incidence, organ dysfunction and mortality in severe sepsis: a Spanish multicentre study. *Crit Care.* 2008;12(6):R158.
35. Esteban A, Frutos-Vivar F, Ferguson ND, et al. Sepsis incidence and outcome: contrasting the intensive care unit with the hospital ward. *Crit Care Med.* May 2007;35(5):1284-1289.
36. Inigo J, Sendra JM, Diaz R, Bouza C, Sarria-Santamera A. [Epidemiology and costs of severe sepsis in Madrid. A hospital discharge study]. *Med Intensiva.* Jun-Jul 2006;30(5):197-203.
37. Sendra JM, Sarria-Santamera A, Inigo J, Regidor E. [Factors associated with acute myocardial infarction in-hospital mortality. Results of an observational study]. *Med Clin (Barc).* Nov 12 2005;125(17):641-646.
38. Sakr Y, Jaschinski U, Wittebole X, et al. Sepsis in Intensive Care Unit Patients: Worldwide Data From the Intensive Care over Nations Audit. *Open Forum Infect Dis.* Dec 2018;5(12):ofy313.
39. Sakr Y, Moreira CL, Rhodes A, et al. The impact of hospital and ICU organizational factors on outcome in critically ill patients: results from the Extended Prevalence of Infection in Intensive Care study. *Crit Care Med.* Mar 2015;43(3):519-526.

40. Morrell M, Fraser VJ, Kollef MH. Delaying the empiric treatment of candida bloodstream infection until positive blood culture results are obtained: a potential risk factor for hospital mortality. *Antimicrob Agents Chemother.* Sep 2005;49(9):3640-3645.
41. Ferrer R, Artigas A, Levy MM, et al. Improvement in process of care and outcome after a multicenter severe sepsis educational program in Spain. *JAMA.* May 21 2008;299(19):2294-2303.
42. Ferrer R, Martin-Loeches I, Phillips G, et al. Empiric antibiotic treatment reduces mortality in severe sepsis and septic shock from the first hour: results from a guideline-based performance improvement program. *Crit Care Med.* Aug 2014;42(8):1749-1755.
43. Mittal Y, Sankar J, Dhochak N, Gupta S, Lodha R, Kabra SK. Decreasing the Time to Administration of First Dose of Antibiotics in Children With Severe Sepsis. *J Healthc Qual.* Apr 5 2018.
44. Paul M, Shani V, Muchtar E, Kariv G, Robenshtok E, Leibovici L. Systematic review and meta-analysis of the efficacy of appropriate empiric antibiotic therapy for sepsis. *Antimicrob Agents Chemother.* Nov 2010;54(11):4851-4863.
45. Seymour CW, Gesten F, Prescott HC, et al. Time to Treatment and Mortality during Mandated Emergency Care for Sepsis. *N Engl J Med.* Jun 8 2017;376(23):2235-2244.
46. Gaieski DF, Mikkelsen ME, Band RA, et al. Impact of time to antibiotics on survival in patients with severe sepsis or septic shock in whom early goal-directed therapy was initiated in the emergency department. *Crit Care Med.* Apr 2010;38(4):1045-1053.
47. Adrie C, Garrouste-Orgeas M, Ibn Essaïed W, et al. Attributable mortality of ICU-acquired bloodstream infections: Impact of the source, causative micro-organism, resistance profile and antimicrobial therapy. *J Infect.* Feb 2017;74(2):131-141.
48. Shorr AF, Micek ST, Welch EC, Doherty JA, Reichley RM, Kollef MH. Inappropriate antibiotic therapy in Gram-negative sepsis increases hospital length of stay. *Crit Care Med.* Jan 2011;39(1):46-51.
49. Antequera MA, Saez BC, Ciudad SM, et al. [Epidemiology, treatment and mortality in infection by carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: retrospective study]. *Rev Chilena Infectol.* Jun 2020;37(3):295-303.
50. Balkan, II, Aygun G, Aydin S, et al. Blood stream infections due to OXA-48-like carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: treatment and survival. *Int J Infect Dis.* Sep 2014;26:51-56.
51. Horcajada JP, Torre-Cisneros J, Pena C, Farinas MC. Future alternatives for the treatment of infections caused by carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: what is in the pipeline? *Enferm Infecc Microbiol Clin.* Dec 2014;32 Suppl 4:56-60.
52. Tamma PD, Goodman KE, Harris AD, et al. Comparing the Outcomes of Patients With Carbapenemase-Producing and Non-Carbapenemase-Producing Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Bacteremia. *Clin Infect Dis.* Feb 1 2017;64(3):257-264.
53. Xu L, Sun X, Ma X. Systematic review and meta-analysis of mortality of patients infected with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* Mar 29 2017;16(1):18.
54. Du X, Xu X, Yao J, et al. Predictors of mortality in patients infected with carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*: A systematic review and meta-analysis. *Am J Infect Control.* Sep 2019;47(9):1140-1145.
55. Rodriguez-Bano J, Gutierrez-Gutierrez B, Machuca I, Pascual A. Treatment of Infections Caused by Extended-Spectrum-Beta-Lactamase-, AmpC-, and Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae. *Clin Microbiol Rev.* Apr 2018;31(2).
56. Ohnuma T, Chihara S, Costin B, et al. Association of Appropriate Empirical Antimicrobial Therapy With In-Hospital Mortality in Patients With Bloodstream Infections in the US. *JAMA Netw Open.* Jan 3 2023;6(1):e2249353.

57. Rodriguez-Bano J, Cisneros JM, Gudiol C, Martinez JA. Treatment of infections caused by carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. Dec 2014;32 Suppl 4:49-55.
58. Tacconelli E, De Angelis G, Cataldo MA, Pozzi E, Cauda R. Does antibiotic exposure increase the risk of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) isolation? A systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother*. Jan 2008;61(1):26-38.
59. Patangia DV, Anthony Ryan C, Dempsey E, Paul Ross R, Stanton C. Impact of antibiotics on the human microbiome and consequences for host health. *Microbiologyopen*. Feb 2022;11(1):e1260.
60. Freeman J, Bauer MP, Baines SD, et al. The changing epidemiology of Clostridium difficile infections. *Clin Microbiol Rev*. Jul 2010;23(3):529-549.
61. Ou Q, Cai G, Zhou Y, Wen M. [Analysis of clinical features and risk factors for mortality in patients with culture-negative sepsis: a single-center retrospective cohort study based on MIMIC-IV]. *Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue*. Oct 2021;33(10):1181-1186.
62. Larrosa Escartin MN, Martinez-Lopez MA, Nadal-Baron P. The microbiology of sepsis is more than the application of new technologies in diagnosis. *Rev Esp Quimioter*. Nov 2023;36 Suppl 1(Suppl 1):5-8.
63. Scheer CS, Fuchs C, Grundling M, et al. Impact of antibiotic administration on blood culture positivity at the beginning of sepsis: a prospective clinical cohort study. *Clin Microbiol Infect*. Mar 2019;25(3):326-331.
64. Snyder SR, Favoretto AM, Baetz RA, et al. Effectiveness of practices to reduce blood culture contamination: a Laboratory Medicine Best Practices systematic review and meta-analysis. *Clin Biochem*. Sep 2012;45(13-14):999-1011.
65. Halstead DC, Sautter RL, Snyder JW, Crist AE, Nachamkin I. Reducing Blood Culture Contamination Rates: Experiences of Four Hospital Systems. *Infect Dis Ther*. Jun 2020;9(2):389-401.
66. Uffen JW, Oosterheert JJ, Schweitzer VA, Thursky K, Kaasjager HAH, Ekkelenkamp MB. Interventions for rapid recognition and treatment of sepsis in the emergency department: a narrative review. *Clin Microbiol Infect*. Feb 2021;27(2):192-203.
67. Jacobs MR, Mazzulli T, Hazen KC, et al. Multicenter Clinical Evaluation of BacT/Alert Virtuo Blood Culture System. *J Clin Microbiol*. Aug 2017;55(8):2413-2421.
68. Peri AM, Harris PNA, Paterson DL. Culture-independent detection systems for bloodstream infection. *Clin Microbiol Infect*. Feb 2022;28(2):195-201.
69. Ziegler I, Fagerstrom A, Stralin K, Molling P. Evaluation of a Commercial Multiplex PCR Assay for Detection of Pathogen DNA in Blood from Patients with Suspected Sepsis. *PLoS One*. 2016;11(12):e0167883.
70. Zboromyrska Y, Cilloniz C, Cobos-Trigueros N, et al. Evaluation of the Magicplex Sepsis Real-Time Test for the Rapid Diagnosis of Bloodstream Infections in Adults. *Front Cell Infect Microbiol*. 2019;9:56.
71. Fuchs S, Lass-Flörl C, Posch W. Diagnostic Performance of a Novel Multiplex PCR Assay for Candidemia among ICU Patients. *J Fungi (Basel)*. Sep 17 2019;5(3).
72. Mylonakis E, Clancy CJ, Ostrosky-Zeichner L, et al. T2 magnetic resonance assay for the rapid diagnosis of candidemia in whole blood: a clinical trial. *Clin Infect Dis*. Mar 15 2015;60(6):892-899.
73. De Angelis G, Posteraro B, De Carolis E, et al. T2Bacteria magnetic resonance assay for the rapid detection of ESKAPEc pathogens directly in whole blood. *J Antimicrob Chemother*. Mar 1 2018;73(suppl_4):iv20-iv26.

74. Kalligeros M, Zacharioudakis IM, Tansarli GS, Tori K, Shehadeh F, Mylonakis E. In-depth analysis of T2Bacteria positive results in patients with concurrent negative blood culture: a case series. *BMC Infect Dis.* May 7 2020;20(1):326.
75. Paggi R, Cenci E, De Socio GV, et al. Accuracy and Impact on Patient Management of New Tools for Diagnosis of Sepsis: Experience with the T2 Magnetic Resonance Bacteria Panel. *Pathogens.* Sep 2 2021;10(9).
76. Giannella M, Pankey GA, Pascale R, Miller VM, Miller LE, Seitz T. Antimicrobial and resource utilization with T2 magnetic resonance for rapid diagnosis of bloodstream infections: systematic review with meta-analysis of controlled studies. *Expert Rev Med Devices.* May 2021;18(5):473-482.
77. Chang SS, Hsieh WH, Liu TS, et al. Multiplex PCR system for rapid detection of pathogens in patients with presumed sepsis - a systemic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2013;8(5):e62323.
78. Dark P, Wilson C, Blackwood B, et al. Accuracy of LightCycler(R) SeptiFast for the detection and identification of pathogens in the blood of patients with suspected sepsis: a systematic review protocol. *BMJ Open.* 2012;2(1):e000392.
79. Dark P, Blackwood B, Gates S, et al. Accuracy of LightCycler((R)) SeptiFast for the detection and identification of pathogens in the blood of patients with suspected sepsis: a systematic review and meta-analysis. *Intensive Care Med.* Jan 2015;41(1):21-33.
80. Bloos F, Sachse S, Kortgen A, et al. Evaluation of a polymerase chain reaction assay for pathogen detection in septic patients under routine condition: an observational study. *PLoS One.* 2012;7(9):e46003.
81. Ozenci V, Patel R, Ullberg M, Stralin K. Demise of Polymerase Chain Reaction/Electrospray Ionization-Mass Spectrometry as an Infectious Diseases Diagnostic Tool. *Clin Infect Dis.* Jan 18 2018;66(3):452-455.
82. Stevenson M, Pandor A, Martyn-St James M, et al. Sepsis: the LightCycler SeptiFast Test MGRADE(R), SepsiTtest and IRIDICA BAC BSI assay for rapidly identifying bloodstream bacteria and fungi - a systematic review and economic evaluation. *Health Technol Assess.* Jun 2016;20(46):1-246.
83. Parize P, Muth E, Richaud C, et al. Untargeted next-generation sequencing-based first-line diagnosis of infection in immunocompromised adults: a multicentre, blinded, prospective study. *Clin Microbiol Infect.* Aug 2017;23(8):574 e571-574 e576.
84. Blauwkamp TA, Thair S, Rosen MJ, et al. Analytical and clinical validation of a microbial cell-free DNA sequencing test for infectious disease. *Nat Microbiol.* Apr 2019;4(4):663-674.
85. Hogan CA, Yang S, Garner OB, et al. Clinical Impact of Metagenomic Next-Generation Sequencing of Plasma Cell-Free DNA for the Diagnosis of Infectious Diseases: A Multicenter Retrospective Cohort Study. *Clin Infect Dis.* Jan 27 2021;72(2):239-245.
86. Zhang H, Liang R, Zhu Y, et al. Metagenomic next-generation sequencing of plasma cell-free DNA improves the early diagnosis of suspected infections. *BMC Infect Dis.* Feb 12 2024;24(1):187.
87. Alexander BD, Ashley ED, Reller LB, Reed SD. Cost savings with implementation of PNA FISH testing for identification of *Candida albicans* in blood cultures. *Diagn Microbiol Infect Dis.* Apr 2006;54(4):277-282.
88. Deck MK, Anderson ES, Buckner RJ, et al. Rapid detection of *Enterococcus* spp. direct from blood culture bottles using *Enterococcus* QuickFISH method: a multicenter investigation. *Diagn Microbiol Infect Dis.* Apr 2014;78(4):338-342.
89. Deck MK, Anderson ES, Buckner RJ, et al. Multicenter evaluation of the *Staphylococcus* QuickFISH method for simultaneous identification of *Staphylococcus aureus* and coagulase-

- negative staphylococci directly from blood culture bottles in less than 30 minutes. *J Clin Microbiol.* Jun 2012;50(6):1994-1998.
90. Stone NR, Gorton RL, Barker K, Ramnarain P, Kibbler CC. Evaluation of PNA-FISH yeast traffic light for rapid identification of yeast directly from positive blood cultures and assessment of clinical impact. *J Clin Microbiol.* Apr 2013;51(4):1301-1302.
 91. Holtzman C, Whitney D, Barlam T, Miller NS. Assessment of impact of peptide nucleic acid fluorescence in situ hybridization for rapid identification of coagulase-negative staphylococci in the absence of antimicrobial stewardship intervention. *J Clin Microbiol.* Apr 2011;49(4):1581-1582.
 92. Marschal M, Bachmaier J, Autenrieth I, Oberhettinger P, Willmann M, Peter S. Evaluation of the Accelerate Pheno System for Fast Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing from Positive Blood Cultures in Bloodstream Infections Caused by Gram-Negative Pathogens. *J Clin Microbiol.* Jul 2017;55(7):2116-2126.
 93. Charnot-Katsikas A, Tesic V, Love N, et al. Use of the Accelerate Pheno System for Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing of Pathogens in Positive Blood Cultures and Impact on Time to Results and Workflow. *J Clin Microbiol.* Jan 2018;56(1).
 94. Ben-Zvi H, Drozdinsky G, Kushnir S, et al. Influence of GeneXpert MRSA/SA test implementation on clinical outcomes of Staphylococcus aureus bacteremia - a before-after retrospective study. *Diagn Microbiol Infect Dis.* Feb 2019;93(2):120-124.
 95. Laudat P, Demondion E, Jouannet C, et al. [Detection of Staphylococcus aureus resistant to methicillin (MRSA) by molecular biology (Cepheid GeneXpert IL, GeneOhm BD, Roche LightCycler, Hyplex Evigene I2A) versus screening by culture: Economic and practical strategy for the laboratory]. *Pathol Biol (Paris).* Jun 2012;60(3):208-213.
 96. Lepointeur M, Delattre S, Cozza S, Lawrence C, Roux AL, Rottman M. Comparative Evaluation of Two PCR-Based Methods for Detection of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA): Xpert MRSA Gen 3 and BD-Max MRSA XT. *J Clin Microbiol.* Jun 2015;53(6):1955-1958.
 97. Spencer DH, Sellenriek P, Burnham CA. Validation and implementation of the GeneXpert MRSA/SA blood culture assay in a pediatric setting. *Am J Clin Pathol.* Nov 2011;136(5):690-694.
 98. Davies J, Gordon CL, Tong SY, Baird RW, Davis JS. Impact of results of a rapid Staphylococcus aureus diagnostic test on prescribing of antibiotics for patients with clustered gram-positive cocci in blood cultures. *J Clin Microbiol.* Jun 2012;50(6):2056-2058.
 99. De La Villa S, Sanchez-Carrillo C, Sanchez-Martinez C, et al. Clinical impact of time to results from the microbiology laboratory in bloodstream infections caused by carbapenemase-producing Enterobacterales (TIME-CPE STUDY). *J Antimicrob Chemother.* Aug 2023;78(8):1948-1954.
 100. Beal SG, Thomas C, Dhiman N, et al. Antibiotic utilization improvement with the Nanosphere Verigene Gram-Positive Blood Culture assay. *Proc (Bayl Univ Med Cent).* Apr 2015;28(2):139-143.
 101. Bork JT, Leekha S, Heil EL, Zhao L, Badamas R, Johnson JK. Rapid testing using the Verigene Gram-negative blood culture nucleic acid test in combination with antimicrobial stewardship intervention against Gram-negative bacteremia. *Antimicrob Agents Chemother.* Mar 2015;59(3):1588-1595.
 102. Claeys KC, Schlaffer KE, Heil EL, Leekha S, Johnson JK. Validation of an Antimicrobial Stewardship-Driven Verigene Blood-Culture Gram-Negative Treatment Algorithm to Improve Appropriateness of Antibiotics. *Open Forum Infect Dis.* Oct 2018;5(10):ofy233.
 103. Hayakawa K, Mezaki K, Kobayakawa M, et al. Impact of rapid identification of positive blood cultures using the Verigene system on antibiotic prescriptions: A prospective study of community-onset bacteremia in a tertiary hospital in Japan. *PLoS One.* 2017;12(7):e0181548.

104. Pardo J, Klinker KP, Borgert SJ, Butler BM, Giglio PG, Rand KH. Clinical and economic impact of antimicrobial stewardship interventions with the FilmArray blood culture identification panel. *Diagn Microbiol Infect Dis*. Feb 2016;84(2):159-164.
105. MacVane SH, Nolte FS. Benefits of Adding a Rapid PCR-Based Blood Culture Identification Panel to an Established Antimicrobial Stewardship Program. *J Clin Microbiol*. Oct 2016;54(10):2455-2463.
106. McCarty TP, Cumagun P, Meeder J, et al. Test Performance and Potential Clinical Utility of the GenMark Dx ePlex Blood Culture Identification Gram-Negative Panel. *Microbiol Spectr*. Feb 14 2023;11(1):e0409222.
107. Burrack-Lange SC, Personne Y, Huber M, et al. Multicenter assessment of the rapid Unyvero Blood Culture molecular assay. *J Med Microbiol*. Sep 2018;67(9):1294-1301.
108. Galiana A, Coy J, Gimeno A, et al. Evaluation of the Sepsis Flow Chip assay for the diagnosis of blood infections. *PLoS One*. 2017;12(5):e0177627.
109. Coppens J, Van Heirstraeten L, Ruzin A, et al. Comparison of GeneXpert MRSA/SA ETA assay with semi-quantitative and quantitative cultures and nuc gene-based qPCR for detection of *Staphylococcus aureus* in endotracheal aspirate samples. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2019;8:4.
110. Maluf MM, Bauab K, Boettger BC, Pignatari ACC, Carvalhaes CG. Evaluation of XGEN Multi Sepsis Flow Chip Molecular Assay for Early Diagnosis of Bloodstream Infection. *Curr Microbiol*. Jun 1 2023;80(7):231.
111. Chandrasekaran S, Abbott A, Campeau S, et al. Direct-from-Blood-Culture Disk Diffusion To Determine Antimicrobial Susceptibility of Gram-Negative Bacteria: Preliminary Report from the Clinical and Laboratory Standards Institute Methods Development and Standardization Working Group. *J Clin Microbiol*. Mar 2018;56(3).
112. Lamy B, Sundqvist M, Idelevich EA. Bloodstream infections - Standard and progress in pathogen diagnostics. *Clin Microbiol Infect*. Feb 2020;26(2):142-150.
113. Banerjee R, Humphries R. Rapid Antimicrobial Susceptibility Testing Methods for Blood Cultures and Their Clinical Impact. *Front Med (Lausanne)*. 2021;8:635831.
114. Calderaro A, Buttrini M, Martinelli M, et al. Rapid microbial identification and phenotypic antimicrobial susceptibility testing directly from positive blood cultures: a new platform compared to routine laboratory methods. *Diagn Microbiol Infect Dis*. Mar 2020;96(3):114955.
115. Sanchez-Carrillo C, Pescador P, Ricote R, et al. Evaluation of the Alfred AST(R) system for rapid antimicrobial susceptibility testing directly from positive blood cultures. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. Sep 2019;38(9):1665-1670.
116. Ruggiero P, McMillen T, Tang YW, Babady NE. Evaluation of the BioFire FilmArray respiratory panel and the GenMark eSensor respiratory viral panel on lower respiratory tract specimens. *J Clin Microbiol*. Jan 2014;52(1):288-290.
117. Giordano C, Piccoli E, Brucculeri V, Barnini S. A Prospective Evaluation of Two Rapid Phenotypical Antimicrobial Susceptibility Technologies for the Diagnostic Stewardship of Sepsis. *Biomed Res Int*. 2018;2018:6976923.
118. Lahanas S, Stathopoulos G, Chan RC, van Hal SJ. Evaluation of the Alfred 60/AST device as a screening test for urinary tract infections. *J Clin Microbiol*. Oct 2013;51(10):3406-3408.
119. Peter G, Smith AL. Group A streptococcal infections of the skin and pharynx (first of two parts). *N Engl J Med*. Aug 11 1977;297(6):311-317.
120. Mahony JB, Blackhouse G, Babwah J, et al. Cost analysis of multiplex PCR testing for diagnosing respiratory virus infections. *J Clin Microbiol*. Sep 2009;47(9):2812-2817.

121. Rappo U, Schuetz AN, Jenkins SG, et al. Impact of Early Detection of Respiratory Viruses by Multiplex PCR Assay on Clinical Outcomes in Adult Patients. *J Clin Microbiol.* Aug 2016;54(8):2096-2103.
122. Brendish NJ, Malachira AK, Armstrong L, et al. Routine molecular point-of-care testing for respiratory viruses in adults presenting to hospital with acute respiratory illness (ResPOC): a pragmatic, open-label, randomised controlled trial. *Lancet Respir Med.* May 2017;5(5):401-411.
123. Goldenberg SD, Bacelar M, Brazier P, Bisnauthsing K, Edgeworth JD. A cost benefit analysis of the Luminex xTAG Gastrointestinal Pathogen Panel for detection of infectious gastroenteritis in hospitalised patients. *J Infect.* May 2015;70(5):504-511.
124. Rand KH, Tremblay EE, Hoidal M, Fisher LB, Grau KR, Karst SM. Multiplex gastrointestinal pathogen panels: implications for infection control. *Diagn Microbiol Infect Dis.* Jun 2015;82(2):154-157.
125. Bouza E, Aguado JM, Alcalá L, et al. Recommendations for the diagnosis and treatment of *Clostridioides difficile* infection: An official clinical practice guideline of the Spanish Society of Chemotherapy (SEQ), Spanish Society of Internal Medicine (SEMI) and the working group of Postoperative Infection of the Spanish Society of Anesthesia and Reanimation (SEDAR). *Rev Esp Quimioter.* Apr 2020;33(2):151-175.
126. Leber AL, Everhart K, Balada-Llasat JM, et al. Multicenter Evaluation of BioFire FilmArray Meningitis/Encephalitis Panel for Detection of Bacteria, Viruses, and Yeast in Cerebrospinal Fluid Specimens. *J Clin Microbiol.* Sep 2016;54(9):2251-2261.
127. Ramanan P, Bryson AL, Binnicker MJ, Pritt BS, Patel R. Syndromic Panel-Based Testing in Clinical Microbiology. *Clin Microbiol Rev.* Jan 2018;31(1).
128. Bouza E, Onori R, Semiglia-Chong MA, Alvarez-Uria A, Alcalá L, Burillo A. Fast track SSTI management program based on a rapid molecular test (GeneXpert((R)) MRSA/SA SSTI) and antimicrobial stewardship. *J Microbiol Immunol Infect.* Aug 31 2018.
129. Cercenado E, Marin M, Burillo A, Martín-Rabadan P, Rivera M, Bouza E. Rapid detection of *Staphylococcus aureus* in lower respiratory tract secretions from patients with suspected ventilator-associated pneumonia: evaluation of the Cepheid Xpert MRSA/SA SSTI assay. *J Clin Microbiol.* Dec 2012;50(12):4095-4097.
130. Burillo A, Marin M, Cercenado E, et al. Evaluation of the Xpert Carba-R (Cepheid) Assay Using Contrived Bronchial Specimens from Patients with Suspicion of Ventilator-Associated Pneumonia for the Detection of Prevalent Carbapenemases. *PLoS One.* 2016;11(12):e0168473.
131. Calderaro A, Chezzi C. MALDI-TOF MS: A Reliable Tool in the Real Life of the Clinical Microbiology Laboratory. *Microorganisms.* Feb 3 2024;12(2).
132. Burillo A, Rodríguez-Sánchez B, Ramiro A, Cercenado E, Rodríguez-Creixems M, Bouza E. Gram-stain plus MALDI-TOF MS (Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry) for a rapid diagnosis of urinary tract infection. *PLoS One.* 2014;9(1):e86915.
133. Wimmer JL, Long SW, Cernoch P, et al. Strategy for rapid identification and antibiotic susceptibility testing of gram-negative bacteria directly recovered from positive blood cultures using the Bruker MALDI Biotyper and the BD Phoenix system. *J Clin Microbiol.* Jul 2012;50(7):2452-2454.
134. Neuenschwander FR, Gross B, Schubert S. Rapid Antibiotic Susceptibility Testing of Gram-Negative Bacteria Directly from Urine Samples of UTI Patients Using MALDI-TOF MS. *Antibiotics (Basel).* Jun 12 2023;12(6).
135. Goff DA, Jankowski C, Tenover FC. Using rapid diagnostic tests to optimize antimicrobial selection in antimicrobial stewardship programs. *Pharmacotherapy.* Aug 2012;32(8):677-687.
136. Messacar K, Parker SK, Todd JK, Dominguez SR. Implementation of Rapid Molecular Infectious Disease Diagnostics: the Role of Diagnostic and Antimicrobial Stewardship. *J Clin Microbiol.* Mar 2017;55(3):715-723.

137. Avdic E, Carroll KC. The role of the microbiology laboratory in antimicrobial stewardship programs. *Infect Dis Clin North Am*. Jun 2014;28(2):215-235.
138. Zhi M, Ding EL, Theisen-Toupal J, Whelan J, Arnaout R. The landscape of inappropriate laboratory testing: a 15-year meta-analysis. *PLoS One*. 2013;8(11):e78962.
139. Morgan DJ, Malani P, Diekema DJ. Diagnostic Stewardship-Leveraging the Laboratory to Improve Antimicrobial Use. *JAMA*. Aug 15 2017;318(7):607-608.
140. Pandolfo AM, Horne R, Jani Y, et al. Intensivists' beliefs about rapid multiplex molecular diagnostic testing and its potential role in improving prescribing decisions and antimicrobial stewardship: a qualitative study. *Antimicrob Resist Infect Control*. Jun 29 2021;10(1):95.
141. Zakhour J, Haddad SF, Kerbage A, et al. Diagnostic stewardship in infectious diseases: a continuum of antimicrobial stewardship in the fight against antimicrobial resistance. *Int J Antimicrob Agents*. Jul 2023;62(1):106816.
142. Patel R, Fang FC. Diagnostic Stewardship: Opportunity for a Laboratory-Infectious Diseases Partnership. *Clin Infect Dis*. Aug 16 2018;67(5):799-801.
143. Thakur L, Singh S, Singh R, Kumar A, Angrup A, Kumar N. The potential of 4D's approach in curbing antimicrobial resistance among bacterial pathogens. *Expert Rev Anti Infect Ther*. Nov 2022;20(11):1401-1412.
144. Rhee C, Dantes R, Epstein L, et al. Incidence and Trends of Sepsis in US Hospitals Using Clinical vs Claims Data, 2009-2014. *JAMA*. Oct 3 2017;318(13):1241-1249.
145. Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016. *Intensive Care Med*. Mar 2017;43(3):304-377.
146. Palencia Herrejon E, Gonzalez Del Castillo J, Ramasco Rueda F, et al. [Consensus document for sepsis code implementation and development in the Community of Madrid]. *Rev Esp Quimioter*. Aug 2019;32(4):400-409.
147. Babowicz F, LaPlante R, Mitchell C, et al. Impact of Accelerate Pheno and BacT/Alert Virtuo on Clinical Processes and Outcomes in Patients with Sepsis and Concurrent Gram-Negative Bacteremia. *Antimicrob Agents Chemother*. May 18 2021;65(6).
148. Mangioni D, Peri AM, Rossolini GM, et al. Toward Rapid Sepsis Diagnosis and Patient Stratification: What's New From Microbiology and Omics Science. *J Infect Dis*. Mar 16 2020;221(7):1039-1047.
149. Walker T, Dumadag S, Lee CJ, et al. Clinical Impact of Laboratory Implementation of Verigene BC-GN Microarray-Based Assay for Detection of Gram-Negative Bacteria in Positive Blood Cultures. *J Clin Microbiol*. Jul 2016;54(7):1789-1796.
150. Ray ST, Drew RJ, Hardiman F, Pizer B, Riordan A. Rapid Identification of Microorganisms by FilmArray Blood Culture Identification Panel Improves Clinical Management in Children. *Pediatr Infect Dis J*. May 2016;35(5):e134-138.
151. Mazzulli T, Ratkov D, Guglielmin K, et al. Impact of Implementation of BacT/Alert Virtuo on Blood Culture Time to Positivity in Sepsis Patients. *Microbiol Spectr*. Feb 7 2023;11(2):e0500322.
152. Bunsow E, Vecchio MG, Sanchez C, Munoz P, Burillo A, Bouza E. Improved Sepsis Alert With a Telephone Call From the Clinical Microbiology Laboratory: A Clinical Trial. *Medicine (Baltimore)*. Sep 2015;94(39):e1454.
153. Brotherton AL, Rab S, Kandiah S, Kriengkauykiat J, Wong JR. The impact of an automated antibiotic stewardship intervention for the management of *Staphylococcus aureus* bacteraemia utilizing the electronic health record. *J Antimicrob Chemother*. Apr 1 2020;75(4):1054-1060.
154. Falcone M, Tiseo G, Dentali F, et al. Early alert from the microbiology laboratory improves the outcome of elderly patients with *Enterococcus* spp. bloodstream infection: Results from a multicentre prospective study. *J Glob Antimicrob Resist*. Sep 2019;18:139-144.

155. Mahrous AJ, Thabit AK, Elarabi S, Fleisher J. Clinical impact of pharmacist-directed antimicrobial stewardship guidance following blood culture rapid diagnostic testing. *J Hosp Infect.* Nov 2020;106(3):436-446.
156. Friedman ND, Kaye KS, Stout JE, et al. Health care--associated bloodstream infections in adults: a reason to change the accepted definition of community-acquired infections. *Ann Intern Med.* Nov 19 2002;137(10):791-797.
157. Charlson M, Szatrowski TP, Peterson J, Gold J. Validation of a combined comorbidity index. *J Clin Epidemiol.* Nov 1994;47(11):1245-1251.
158. Austrian JS, Jamin CT, Doty GR, Blecker S. Impact of an emergency department electronic sepsis surveillance system on patient mortality and length of stay. *J Am Med Inform Assoc.* May 1 2018;25(5):523-529.
159. Xu M, Qin X, Astion ML, et al. Implementation of filmarray respiratory viral panel in a core laboratory improves testing turnaround time and patient care. *Am J Clin Pathol.* Jan 2013;139(1):118-123.
160. Wootton SH, Aguilera E, Salazar L, Hemmert AC, Hasbun R. Enhancing pathogen identification in patients with meningitis and a negative Gram stain using the BioFire FilmArray((R)) Meningitis/Encephalitis panel. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* Apr 21 2016;15:26.
161. Wahrenbrock MG, Matushek S, Boonlayangoor S, Tesic V, Beavis KG, Charnot-Katsikas A. Comparison of Cepheid Xpert Flu/RSV XC and BioFire FilmArray for Detection of Influenza A, Influenza B, and Respiratory Syncytial Virus. *J Clin Microbiol.* Jul 2016;54(7):1902-1903.
162. Tarai B, Das P. FilmArray(R) meningitis/encephalitis (ME) panel, a rapid molecular platform for diagnosis of CNS infections in a tertiary care hospital in North India: one-and-half-year review. *Neurol Sci.* Sep 25 2018.
163. Spina A, Kerr KG, Cormican M, et al. Spectrum of enteropathogens detected by the FilmArray GI Panel in a multicentre study of community-acquired gastroenteritis. *Clin Microbiol Infect.* Aug 2015;21(8):719-728.
164. Soucek DK, Dumkow LE, VanLangen KM, Jameson AP. Cost Justification of the BioFire FilmArray Meningitis/Encephalitis Panel Versus Standard of Care for Diagnosing Meningitis in a Community Hospital. *J Pharm Pract.* Jan 1 2017;897190017737697.
165. Sakata KK, Azadeh N, Brighton A, et al. Impact of Nasopharyngeal FilmArray Respiratory Panel Results on Antimicrobial Decisions in Hospitalized Patients. *Can Respir J.* 2018;2018:9821426.
166. Piralla A, Lunghi G, Percivalle E, et al. FilmArray(R) respiratory panel performance in respiratory samples from neonatal care units. *Diagn Microbiol Infect Dis.* Jun 2014;79(2):183-186.
167. Farfan M, Piemonte P, Labra Y, Henriquez J, Candia E, Torres JP. [Filmarray GI TM panel for detection of enteric pathogens in stool samples: preliminary experience]. *Rev Chilena Infectol.* Feb 2016;33(1):89-91.
168. Calderaro A, Martinelli M, Buttrini M, et al. Contribution of the FilmArray((R)) Gastrointestinal Panel in the laboratory diagnosis of gastroenteritis in a cohort of children: a two-year prospective study. *Int J Med Microbiol.* Jul 2018;308(5):514-521.
169. Buss SN, Leber A, Chapin K, et al. Multicenter evaluation of the BioFire FilmArray gastrointestinal panel for etiologic diagnosis of infectious gastroenteritis. *J Clin Microbiol.* Mar 2015;53(3):915-925.
170. Ambrosius-Eichner J, Hogardt M, Berger A, et al. Comparative evaluation of the detection rate, workflow and associated costs of a multiplex PCR panel versus conventional methods in diagnosis of infectious gastroenteritis. *J Med Microbiol.* Feb 2024;73(2).
171. Alejo-Cancho I, Fernandez Aviles F, Capon A, et al. Evaluation of a multiplex panel for the diagnosis of acute infectious diarrhea in immunocompromised hematologic patients. *PLoS One.* 2017;12(11):e0187458.

172. Trujillo-Gomez J, Tsokani S, Arango-Ferreira C, et al. Biofire FilmArray Meningitis/Encephalitis panel for the aetiological diagnosis of central nervous system infections: A systematic review and diagnostic test accuracy meta-analysis. *EClinicalMedicine*. Feb 2022;44:101275.
173. Manatrey-Lancaster JJ, Bushman AM, Caligiuri ME, Rosa R. Impact of BioFire FilmArray respiratory panel results on antibiotic days of therapy in different clinical settings. *Antimicrob Steward Healthc Epidemiol*. 2021;1(1):e4.
174. Bergese S, Fox B, Garcia-Allende N, et al. Impact of the multiplex molecular FilmArray Respiratory Panel on antibiotic prescription and clinical management of immunocompromised adults with suspected acute respiratory tract infections: A retrospective before-after study. *Rev Argent Microbiol*. Oct-Dec 2023;55(4):337-344.
175. Yang S, Li H, Tang Y, et al. Multiplex Tests for Respiratory Tract Infections: The Direct Utility of the FilmArray Respiratory Panel in Emergency Department. *Can Respir J*. 2020;2020:6014563.
176. Torres-Miranda D, Akselrod H, Karsner R, et al. Use of BioFire FilmArray gastrointestinal PCR panel associated with reductions in antibiotic use, time to optimal antibiotics, and length of stay. *BMC Gastroenterol*. Jul 29 2020;20(1):246.
177. Sever A, Ben Zvi H, Melamed SB, Sachs N, Krause I, Bilavsky E. Clinical impact of biofire gastrointestinal panel testing for hospitalised children with acute gastroenteritis. *Acta Paediatr*. Mar 2023;112(3):505-509.
178. Berkhout A, Cheng DR, McNab S, Lee LY, Daley AJ, Clifford V. Clinical and Health System Impact of Biofire Filmarray Meningitis/Encephalitis Routine Testing of CSF in a Pediatric Hospital: An Observational Study. *Pediatr Infect Dis J*. Apr 1 2023;42(4):281-285.
179. Markovich K, Wingler MJB, Stover KR, Barber KE, Wagner JL, Cretella DA. Analysis of the Clinical Impact of the BioFire FilmArray Meningitis Encephalitis Panel on Antimicrobial Use and Duration of Therapy at an Academic Medical Center. *Diseases*. Nov 20 2022;10(4).
180. Carmon D, Rohana H, Azrad M, Peretz A. The Impact of a Positive Biofire((R)) FilmArray((R)) Gastrointestinal Panel Result on Clinical Management and Outcomes. *Diagnostics (Basel)*. Mar 14 2023;13(6).
181. Dahan Nassy S, Azrad M, Abozaid S, et al. Assessing the impact of a positive Biofire(R) FilmArray(R) Meningitis/Encephalitis Panel result on clinical management and outcomes. *Diagn Microbiol Infect Dis*. Nov 2022;104(3):115769.
182. Ferronato AE, Gilio AE, Ferraro AA, Paulis M, Vieira SE. Etiological diagnosis reduces the use of antibiotics in infants with bronchiolitis. *Clinics (Sao Paulo)*. Sep 2012;67(9):1001-1006.
183. Ngo Nsoga MT, Perez-Rodriguez FJ, Mamin A, et al. Rational Use of Microbiological Tests in the Diagnosis of Central Nervous System Infections Using Restrictive Criteria: a Retrospective Study. *Microbiol Spectr*. Mar 27 2023;11(2):e0317922.
184. Stevenson LG, Drake SK, Murray PR. Rapid identification of bacteria in positive blood culture broths by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J Clin Microbiol*. Feb 2010;48(2):444-447.
185. Ruiz-Aragon J, Ballester-Tellez M, Gutierrez-Gutierrez B, de Cueto M, Rodriguez-Bano J, Pascual A. Direct bacterial identification from positive blood cultures using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometry: A systematic review and meta-analysis. *Enferm Infecc Microbiol Clin (Engl Ed)*. Oct 2018;36(8):484-492.
186. Lehmann LE, Hunfeld KP, Emrich T, et al. A multiplex real-time PCR assay for rapid detection and differentiation of 25 bacterial and fungal pathogens from whole blood samples. *Med Microbiol Immunol*. Sep 2008;197(3):313-324.
187. Jordana-Lluch E, Carolan HE, Gimenez M, et al. Rapid diagnosis of bloodstream infections with PCR followed by mass spectrometry. *PLoS One*. 2013;8(4):e62108.
188. Riedel S, Carroll KC. Laboratory detection of sepsis: biomarkers and molecular approaches. *Clin Lab Med*. Sep 2013;33(3):413-437.

189. Ginn AN, Halliday CL, Douglas AP, Chen SC. PCR-based tests for the early diagnosis of sepsis. Where do we stand? *Curr Opin Infect Dis.* Dec 2017;30(6):565-572.
190. Lewinski MA, Alby K, Babady NE, et al. Exploring the Utility of Multiplex Infectious Disease Panel Testing for Diagnosis of Infection in Different Body Sites: A Joint Report of the Association for Molecular Pathology, American Society for Microbiology, Infectious Diseases Society of America, and Pan American Society for Clinical Virology. *J Mol Diagn.* Dec 2023;25(12):857-875.
191. Hitchcock MM, Gomez CA, Banaei N. Low Yield of FilmArray GI Panel in Hospitalized Patients with Diarrhea: an Opportunity for Diagnostic Stewardship Intervention. *J Clin Microbiol.* Mar 2018;56(3).
192. Escudero D, Fernandez-Suarez J, Forcelledo L, et al. Evaluation and Clinical Impact of Biofire FilmArray Pneumonia Panel Plus in ICU-Hospitalized COVID-19 Patients. *Diagnostics (Basel).* Dec 12 2022;12(12).
193. Debbagh F, Ben Houmich T, Guennouni M, et al. Evaluation PCR panel of the FilmArray(R) pneumonia plus for pathogen detection of ventilator-associated pneumonia in children and its impact on therapeutic management. *Iran J Microbiol.* Feb 2023;15(1):19-26.
194. Chen H, Weng H, Lin M, et al. The Clinical Significance of FilmArray Respiratory Panel in Diagnosing Community-Acquired Pneumonia. *Biomed Res Int.* 2017;2017:7320859.
195. Azadeh N, Sakata KK, Saeed A, et al. Comparison of Respiratory Pathogen Detection in Upper versus Lower Respiratory Tract Samples Using the BioFire FilmArray Respiratory Panel in the Immunocompromised Host. *Can Respir J.* 2018;2018:2685723.
196. Ning Y, Hu R, Yao G, Bo S. Time to positivity of blood culture and its prognostic value in bloodstream infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* Apr 2016;35(4):619-624.
197. Gupta S, Sakhuja A, Kumar G, McGrath E, Nanchal RS, Kashani KB. Culture-Negative Severe Sepsis: Nationwide Trends and Outcomes. *Chest.* Dec 2016;150(6):1251-1259.
198. Farinas-Alvarez C, Farinas MC, Fernandez-Mazarrasa C, Llorca J, Casanova D, Delgado-Rodriguez M. Analysis of risk factors for nosocomial sepsis in surgical patients. *Br J Surg.* Aug 2000;87(8):1076-1081.
199. Zilberberg MD, Nathanson BH, Sulham K, Fan W, Shorr AF. 30-day readmission, antibiotics costs and costs of delay to adequate treatment of Enterobacteriaceae UTI, pneumonia, and sepsis: a retrospective cohort study. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2017;6:124.
200. Rodriguez-Manas L. Urinary tract infections in the elderly: a review of disease characteristics and current treatment options. *Drugs Context.* 2020;9.
201. Holmbom M, Andersson M, Grabe M, et al. Community-onset urosepsis: incidence and risk factors for 30-day mortality - a retrospective cohort study. *Scand J Urol.* Oct-Dec 2022;56(5-6):414-420.
202. Yang X, Chen H, Zheng Y, Qu S, Wang H, Yi F. Disease burden and long-term trends of urinary tract infections: A worldwide report. *Front Public Health.* 2022;10:888205.
203. Tandogdu Z, Wagenlehner FM. Global epidemiology of urinary tract infections. *Curr Opin Infect Dis.* Feb 2016;29(1):73-79.
204. Llor C, Hernandez S. [Infectious disease in primary care: 1-year prospective study]. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* Apr 2010;28(4):222-226.
205. Sijbom M, Buchner FL, Saadah NH, Numans ME, De Boer MGJ. Trends in antibiotic selection pressure generated in primary care and their association with sentinel antimicrobial resistance patterns in Europe. *J Antimicrob Chemother.* May 3 2023;78(5):1245-1252.
206. Frimodt-Moller N, Bjerrum L. Treating urinary tract infections in the era of antibiotic resistance. *Expert Rev Anti Infect Ther.* Jul-Dec 2023;21(12):1301-1308.

207. Mantzana P, Netsika F, Arhonti M, et al. Performance evaluation of Alfred(60)AST rapid susceptibility testing directly from positive blood cultures in the routine laboratory workflow. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. Jul 2021;40(7):1487-1494.
208. Cupaiolo R, Cherkaoui S, Serrano G, et al. Antimicrobial susceptibility testing determined by Alfred 60/AST (Alifax(R)) in a multi-sites lab: performance's evaluation and optimization of workflow. *J Microbiol Methods*. Mar 2022;194:106433.
209. Herraes Carrera O, Huertas Vaquero M, Asencio Egea MA, Gaitan Pitera J, Carranza Gonzalez R. [Economic evaluation of the Alfred 60/AST device implantation for bacterial growth detection with automatic sewing machine]. *Rev Esp Quimioter*. Feb 2019;32(1):73-77.
210. Spezzotti G. Technical notes on the correct configuration of the Alfred 60/AST device for the detection of urinary tract infections. *J Clin Microbiol*. May 2014;52(5):1805-1806.
211. Huang B, Zhang L, Zhang W, et al. Direct Detection and Identification of Bacterial Pathogens from Urine with Optimized Specimen Processing and Enhanced Testing Algorithm. *J Clin Microbiol*. May 2017;55(5):1488-1495.
212. Athamna A, Zbriger A, Avadov S, Shapira M, Tal Y, Freimann S. Rapid identification of uropathogens by combining Alfred 60 system with matrix-assisted laser desorption/ionization-time-of-flight mass spectrometry technology. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. Oct 2020;39(10):1855-1863.
213. Durkin MJ, Schmitz V, Hsueh K, Troubh Z, Politi MC. Older adults' and caregivers' perceptions about urinary tract infection and asymptomatic bacteriuria guidelines: a qualitative exploration. *Antimicrob Steward Healthc Epidemiol*. 2023;3(1):e224.
214. Durkin MJ, Keller M, Butler AM, et al. An Assessment of Inappropriate Antibiotic Use and Guideline Adherence for Uncomplicated Urinary Tract Infections. *Open Forum Infect Dis*. Sep 2018;5(9):ofy198.
215. Shallcross LJ, Rockenschaub P, McNulty D, Freemantle N, Hayward A, Gill MJ. Diagnostic uncertainty and urinary tract infection in the emergency department: a cohort study from a UK hospital. *BMC Emerg Med*. May 19 2020;20(1):40.
216. Berger T, Birnbaum A, Bijur P, Kuperman G, Gennis P. A Computerized Alert Screening for Severe Sepsis in Emergency Department Patients Increases Lactate Testing but does not Improve Inpatient Mortality. *Appl Clin Inform*. 2010;1(4):394-407.
217. Southern TR, Racsa LD, Albarino CG, et al. Comparison of FilmArray and Quantitative Real-Time Reverse Transcriptase PCR for Detection of Zaire Ebolavirus from Contrived and Clinical Specimens. *J Clin Microbiol*. Sep 2015;53(9):2956-2960.
218. Kumar A. Optimizing antimicrobial therapy in sepsis and septic shock. *Crit Care Nurs Clin North Am*. Mar 2011;23(1):79-97.
219. Huang XX, Urosevic N, Inglis TJJ. Accelerated bacterial detection in blood culture by enhanced acoustic flow cytometry (AFC) following peptide nucleic acid fluorescence in situ hybridization (PNA-FISH). *PLoS One*. 2019;14(2):e0201332.
220. Messacar K, Hamilton SL, Prinzi AM, et al. Rapid identification of nonblood sterile site broth cultures using the FilmArray blood culture identification panel. *Diagn Microbiol Infect Dis*. Jan 2019;93(1):22-23.
221. Brenner T, Decker SO, Grumaz S, et al. Next-generation sequencing diagnostics of bacteremia in sepsis (Next GeneSiS-Trial): Study protocol of a prospective, observational, noninterventional, multicenter, clinical trial. *Medicine (Baltimore)*. Feb 2018;97(6):e9868.
222. Simor AE, Porter V, Mubareka S, et al. Rapid Identification of Candida Species from Positive Blood Cultures by Use of the FilmArray Blood Culture Identification Panel. *J Clin Microbiol*. Dec 2018;56(12).

223. Payne M, Champagne S, Lowe C, Leung V, Hinch M, Romney MG. Evaluation of the FilmArray Blood Culture Identification Panel compared to direct MALDI-TOF MS identification for rapid identification of pathogens. *J Med Microbiol*. Sep 2018;67(9):1253-1256.
224. Pulido MR, Moreno-Martinez P, Gonzalez-Galan V, et al. Application of BioFire FilmArray Blood Culture Identification panel for rapid identification of the causative agents of ventilator-associated pneumonia. *Clin Microbiol Infect*. Nov 2018;24(11):1213 e1211-1213 e1214.
225. Klingspor L, Lindback E, Ullberg M, Ozenci V. Seven years of clinical experience with the Yeast Traffic Light PNA FISH: Assay performance and possible implications on antifungal therapy. *Mycoses*. Mar 2018;61(3):179-185.
226. Verhoeven PO, Haddar CH, Rigai J, et al. Comparison of the Fully Automated FilmArray BCID Assay to a 4-Hour Culture Test Coupled to Mass Spectrometry for Day 0 Identification of Microorganisms in Positive Blood Cultures. *Biomed Res Int*. 2018;2018:7013470.
227. Van Der Westhuyzen M, Samodien N, Brink AJ, Moodley C. Utility of the BioFire((R)) FilmArray((R)) Pneumonia Panel plus assay for syndromic testing of lower respiratory tract infections in a low/middle-income setting. *JAC Antimicrob Resist*. Feb 2023;5(1):dlac139.
228. Viale P, Tedeschi S, Scudeller L, et al. Infectious Diseases Team for the Early Management of Severe Sepsis and Septic Shock in the Emergency Department. *Clin Infect Dis*. Oct 15 2017;65(8):1253-1259.
229. Mendez R, Figuerola A, Ramasco F, et al. Decrease in Mortality after the Implementation of a Hospital Model to Improve Performance in Sepsis Care: Princess Sepsis Code. *J Pers Med*. Jan 29 2024;14(2).
230. Saito N, Tsuchiya J, Itoga M, et al. Multiple Blood Culture Sampling, Proper Antimicrobial Choice, and Adequate Dose in Definitive Therapy Supported by the Antimicrobial Stewardship Team Could Decrease 30-Day Sepsis Mortality Rates. *Infect Drug Resist*. 2024;17:207-219.
231. Rashidzade Z, Cairns KA, Peel TN, et al. Early antimicrobial stewardship team intervention on appropriateness of antimicrobial therapy in suspected sepsis: a randomized controlled trial. *JAC Antimicrob Resist*. Sep 2021;3(3):dlab097.
232. Julian-Jimenez A, Garcia-Lamberechts EJ, Gonzalez Del Castillo J, et al. Validation of a predictive model for bacteraemia (MPB5-Toledo) in the patients seen in emergency departments due to infections. *Enferm Infecc Microbiol Clin (Engl Ed)*. Mar 2022;40(3):102-112.
233. Singh S. The hundred-dollar genome: a health care cart before the genomic horse. *CMAJ*. Apr 23 2018;190(16):E514.
234. Diakite A, Dubourg G, Dione N, et al. Extensive culturomics of 8 healthy samples enhances metagenomics efficiency. *PLoS One*. 2019;14(10):e0223543.
235. Zou Y, Xue W, Luo G, et al. 1,520 reference genomes from cultivated human gut bacteria enable functional microbiome analyses. *Nat Biotechnol*. Feb 2019;37(2):179-185.
236. Kumar R, Sood U, Kaur J, et al. The rising dominance of microbiology: what to expect in the next 15 years? *Microb Biotechnol*. Jan 2022;15(1):110-128.
237. Aygun U, Yagin FH, Yagin B, et al. Assessment of Sepsis Risk at Admission to the Emergency Department: Clinical Interpretable Prediction Model. *Diagnostics (Basel)*. Feb 20 2024;14(5).
238. Zhang G, Shao F, Yuan W, et al. Predicting sepsis in-hospital mortality with machine learning: a multi-center study using clinical and inflammatory biomarkers. *Eur J Med Res*. Mar 6 2024;29(1):156.
239. Lin X, Geng R, Menke K, et al. Machine learning to predict risk for community-onset *Staphylococcus aureus* infections in children living in southeastern United States. *PLoS One*. 2023;18(9):e0290375.

240. Linnen DT, Hu X, Stephens CE. Postimplementation Evaluation of a Machine Learning-Based Deterioration Risk Alert to Enhance Sepsis Outcome Improvements. *Nurs Adm Q.* Oct/Dec 2020;44(4):336-346.
241. Yu J, Lin HH, Tseng KH, et al. Prediction of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* from flagged blood cultures by combining rapid Sepsityper MALDI-TOF mass spectrometry with machine learning. *Int J Antimicrob Agents.* Dec 2023;62(6):106994.
242. Chevalier JM, Han AX, Hansen MA, et al. Impact and cost-effectiveness of SARS-CoV-2 self-testing strategies in schools: a multicountry modelling analysis. *BMJ Open.* Feb 27 2024;14(2):e078674.
243. Shishido AA, Noe M, Saharia K, Luethy P. Clinical impact of a metagenomic microbial plasma cell-free DNA next-generation sequencing assay on treatment decisions: a single-center retrospective study. *BMC Infect Dis.* Apr 13 2022;22(1):372.
244. Bock M, Theut AM, van Hasselt JGC, et al. Attainment of Target Antibiotic Levels by Oral Treatment of Left-Sided Infective Endocarditis: A POET Substudy. *Clin Infect Dis.* Jul 26 2023;77(2):242-251.
245. Iversen K, Ihlemann N, Gill SU, et al. Partial Oral versus Intravenous Antibiotic Treatment of Endocarditis. *N Engl J Med.* Jan 31 2019;380(5):415-424.
246. Klein K, Veulemanns V, Kelm M, Nitschmann S. [Antibiotic treatment of endocarditis : Partial Oral Treatment of Endocarditis Trial (POET)]. *Internist (Berl).* Jul 2019;60(7):769-772.
247. Ruan H, Ryan K, Sosa N, Walraven C. Missed Opportunities: Intravenous versus Oral Antibiotic De-escalation for Treatment of Lower Extremity Osteoarticular Infections. *J Clin Pharmacol.* Jan 2024;64(1):137-138.
248. Sendi P, Lora-Tamayo J, Cortes-Penfield NW, Uckay I. Early switch from intravenous to oral antibiotic treatment in bone and joint infections. *Clin Microbiol Infect.* Sep 2023;29(9):1133-1138.
249. Tamma PD, Cosgrove SE. Which trial do we need? Early oral antibiotic therapy for the treatment of gram-negative bloodstream infections. *Clin Microbiol Infect.* Jun 2023;29(6):670-672.
250. Mulani MS, Kamble EE, Kumkar SN, Tawre MS, Pardesi KR. Emerging Strategies to Combat ESKAPE Pathogens in the Era of Antimicrobial Resistance: A Review. *Front Microbiol.* 2019;10:539.
251. Lin DM, Koskella B, Lin HC. Phage therapy: An alternative to antibiotics in the age of multi-drug resistance. *World J Gastrointest Pharmacol Ther.* Aug 6 2017;8(3):162-173.
252. Miro-Canturri A, Ayerbe-Algaba R, Smani Y. Drug Repurposing for the Treatment of Bacterial and Fungal Infections. *Front Microbiol.* 2019;10:41.
253. De Oliveira DMP, Forde BM, Kidd TJ, et al. Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. *Clin Microbiol Rev.* Jun 17 2020;33(3).
254. Frei A, Verderosa AD, Elliott AG, Zuegg J, Blaskovich MAT. Metals to combat antimicrobial resistance. *Nat Rev Chem.* Mar 2023;7(3):202-224.
255. O'Brien H, Davoodian T, Johnson MDL. The promise of copper ionophores as antimicrobials. *Curr Opin Microbiol.* Oct 2023;75:102355.
256. Spellberg B, Rice LB. The Shorter Is Better movement: past, present, future. *Clin Microbiol Infect.* Feb 2023;29(2):141-142.
257. Burnham JP, Olsen MA, Stwalley D, Kwon JH, Babcock HM, Kollef MH. Infectious Diseases Consultation Reduces 30-Day and 1-Year All-Cause Mortality for Multidrug-Resistant Organism Infections. *Open Forum Infect Dis.* Mar 2018;5(3):ofy026.

258. Chesdachai S, Kline S, Helmin D, Rajasingham R. The Effect of Infectious Diseases Consultation on Mortality in Hospitalized Patients With Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*, *Candida*, and *Pseudomonas* Bloodstream Infections. *Open Forum Infect Dis*. Jan 2020;7(1):ofaa010.
259. Dalai S, Bai AD. Enter *Enterococcus*: should we add it to the list of bloodstream infection pathogens for which infectious diseases consultation improves mortality? *Clin Microbiol Infect*. Aug 2023;29(8):963-965.
260. Lahey T, Shah R, Gittzus J, Schwartzman J, Kirkland K. Infectious diseases consultation lowers mortality from *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Medicine (Baltimore)*. Sep 2009;88(5):263-267.
261. Lee RA, Vo DT, Zurko JC, Griffin RL, Rodriguez JM, Camins BC. Infectious Diseases Consultation Is Associated With Decreased Mortality in Enterococcal Bloodstream Infections. *Open Forum Infect Dis*. Mar 2020;7(3):ofaa064.
262. Robinson JO, Pozzi-Langhi S, Phillips M, et al. Formal infectious diseases consultation is associated with decreased mortality in *Staphylococcus aureus* bacteraemia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. Sep 2012;31(9):2421-2428.
263. Tissot F, Calandra T, Prod'homme G, et al. Mandatory infectious diseases consultation for MRSA bacteremia is associated with reduced mortality. *J Infect*. Sep 2014;69(3):226-234.

ANEXOS

ANEXOS

ANEXO I. TRABAJO ACEPTADO COMO SESIÓN ORAL EN EL CONGRESO ECCMID 2020



Basel, February 4, 2020

Abstract no.: 3778
Abstract title: High clinical impact on antimicrobial stewardship using multiplex PCR syndromic panels for severe community-acquired infections: a real-life experience
Session title: Optimised prescribing through diagnostics
Session date: 20.04.2020
Session time: 13:30h - 14:30h
Session type: Mini-oral Flash Session

Dear Ana Alvarez-Uria,
As your above-mentioned abstract has been accepted at this year's ECCMID in Paris, you – as the presenting author – were required to register before 15 February 2020.

High clinical impact on antimicrobial stewardship using multiplex PCR syndromic panels for severe community acquired infections: a real life experience

Álvarez-Uría, M. Valerio, M. Kestler, C. Sánchez-Carrillo, S. de la Villa, C.
Veintimilla, M. Machado, P. Muñoz, E. Bouza

Background: The different PCR panels of Biofire FilmArray have been individually studied with a focus on etiological diagnosis accuracy. Our study evaluates the clinical impact of using several FilmArray panels for severe community acquired infections (CAI) as a part of an antimicrobial stewardship program run by a Clinical Microbiology Department.

Materials/methods: Prospective study in a 1349-bed tertiary hospital from October 2018 to September 2019. Patients with CAI requiring admission in which sepsis was suspected (blood cultures obtained) with additional samples available in the

Laboratory, were included. Meningitis/Encephalitis, Respiratory and Gastrointestinal FilmArray panels were performed in Cerebrospinal fluid (CSF), nasopharyngeal swabs (NPS) and feces respectively. Rapid results were informed to physicians in charge of each patient and antimicrobial adjustment was advised by a clinical microbiologist within the working shift. Conventional methods and FilmArray panels were compared regarding diagnostic yield and turnaround time (TAT). Antimicrobial adjustment within 24 hours after rapid results was recorded.

Results: During the study period, 146 samples from 142 patients were included.

Filmarray panels were applied to the following samples: 46 fecal samples, 51 NPS and 49 CSF. Overall, 119/142 patients (83.5%) were clinically diagnosed with an infection.

Of them, 102 were diagnosed with an infection covered by the three panels:

respiratory infection in 50, gastrointestinal infection in 25 and central nervous system infection in 27. Seventeen cases had infection of other location and the remaining 23

were finally diagnosed with a non-infectious process. Of the 102 patients with an

infection covered by the panels, an etiological diagnosis was obtained in 64 (62.7%): 54 (52.9%) by FilmArray panels and 25 (24.5%) by conventional methods (both yielded

positive results in 13, 12.7%). Mean TAT was 2.4 hours for FA vs 94 hours for

conventional methods. Antimicrobial adjustment within 24 h of rapid results was made

in 64/142 patients (45%): de-escalation in 50 (35.2%), escalation in 14 (19.8%).

Conclusions: Filmarray panels provide higher diagnostic performance than

conventional methods in a TAT as short as 2 hours. A high impact on antimicrobial

stewardship was observed, leading to an early adjustment of empirical treatment in

almost half of the patients.

34th ECCMID **Barcelona, Spain**
27 – 30 April 2024

The congress of  **ESCMID**

Basel, 29/01/2024

Dear Ana Alvarez-Uría Miyares,

Thank you for submitting an abstract to the 34th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases - [ECCMID 2024](#).

Abstract number: 05850

Title: **Can a fast call to the microbiology laboratory improve the diagnosis and management of patients with sepsis alert?**

The ECCMID 2024 Programme Committee is pleased to inform you that your abstract has been accepted for a paper poster presentation and allocated to the following session:

Can a fast call to the microbiology laboratory improve the diagnosis and management of patients with sepsis alert?

Ana Álvarez-Uría, Almudena Burillo, Alicia Galar, Agustín Estévez Prieto, Belén Rodríguez Márquez, Emilio Bouza, Patricia Muñoz García

INTRODUCTION: Sepsis alerts have been implemented worldwide to improve sepsis outcomes. However, to obtain an optimal result the timely collaboration of multiple people and professional bodies (nurses, physicians, Microbiology, radiology, etc.) is required. “Sepsis alert” was implemented in our center in November 2022. An urgent call to the Microbiology laboratory was encouraged as part of the protocol, so the samples are immediately processed and rapid tests are performed. Unfortunately, this call was not always carried out in routine practice. In the present study we aim to

evaluate whether this call had any impact on the diagnosis, treatment or outcomes of the patients.

METHODS: Calls made to the Microbiology laboratory for "sepsis alert" in our center during the study period (November 2022-June 2023) were prospectively recorded. Data on baseline conditions, presentation, microbiological diagnosis, antibiotic treatment and outcome of adult patients with sepsis alert activation were retrospectively collected. Patients with and without this call were compared.

RESULTS: During the study period, 327 patients had a "sepsis alert". A call to the Microbiology laboratory was made in 213 (65.1%). Results and comparisons are summarized in table 1. We found no differences in baseline conditions or severity of presentation between groups. We were also unable to find any differences between the services where the alert was triggered. A high proportion of patients had adequate empirical treatment in both groups and adjustment of antibiotics following empirical treatment was similar. While a similar proportion of patients had an etiological pathogen identified, early diagnosis (<24hours) was more frequent in those with a Microbiology alert. We found a trend toward lower mortality and shorter hospital stay in patients with the microbiological alert that were not statistically significant.

CONCLUSIONS: Patients with sepsis alert and a Microbiology laboratory rapid call had a faster microbiological diagnosis. Although we found a trend toward a better outcome in cases in which the call was made, the differences were not significant. These results support a fast call to the microbiology laboratory in patients with sepsis alert.

34th **ECCMID**

Barcelona, Spain
27 – 30 April 2024

The congress of  **ESCMID**

Basel, 29/01/2024

Dear Ana Alvarez-Uría Miyares,

Thank you for submitting an abstract to the 34th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases - [ECCMID 2024](#).

Abstract number: 05728

Title: **Does infectious disease consultation have any impact on patients with sepsis alert?**

The ECCMID 2024 Programme Committee is pleased to inform you that your abstract has been accepted for a paper poster presentation and allocated to the following session:

Does infectious disease consultation have any impact on patients with sepsis alert?

Ana Álvarez-Uría, Alejandro Cobos, Sofía De La Villa, David Alonso Menchén, Emilio Bouza, Patricia Muñoz García

INTRODUCTION: Sepsis alerts have been implemented worldwide to improve sepsis outcomes. However, interventions following these alerts are not uniform. In our center, ID consultants evaluate all bacteremias occurring in the hospital. The rest of patients with sepsis that do not have significant microbiological results are evaluated at the discretion of the responsible physician. In the present study we aim to evaluate the impact an infectious diseases (ID) specialist intervention.

METHODS: retrospective study in a tertiary care hospital in which adult patients with sepsis alert activation were evaluated (November 2022 -June 2023).Patients with ID intervention were compared to those without it. We excluded patients who died in the first hours or were discharged early so they could not be evaluated for these reasons.

RESULTS: During the study period, 327 patients had a “sepsis alert”. Twenty-two were excluded due to early death or early discharge. Results of the remaining 305 patients are summarized in table 1. Significant differences in baseline conditions and severity of sepsis were found. We identified that there was a higher proportion of patients who were not evaluated by ID specialists in critical care units than in other services where the alert was activated. Patients with ID intervention had a higher proportion of bacteremia and microbiological diagnosis but less severity of sepsis and less admission to the ICU. Both groups had a high proportion of adequate empirical treatment but adjustment and de-escalation was more frequent in the ID intervention group. No differences in mortality were found. We found a significantly shorter hospital stay in the ID intervention group.

CONCLUSIONS: Adjustment of treatment and de-escalation was more frequent in patients evaluated by ID specialists, probably influenced by a higher proportion of microbiological diagnosis. No differences in mortality were found and a shorter length of stay in the ID intervention group could be partially explained by a less severe presentation of sepsis and less ICU admission. These results have motivated a systematic ID evaluation in patients with sepsis alert, regardless of the microbiological findings, especially in critical care units.

34th ECCMID

Barcelona, Spain
27 – 30 April 2024

The congress of  ESCMID

Basel, 29/01/2024

Dear Ana Alvarez-Uría Miyares,

Thank you for submitting an abstract to the 34th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases - [ECCMID 2024](#).

Abstract number: 08062

Title: **Clinical impact of a rapid diagnostic bundle for the management of patients with suspected sepsis of urinary origin**

The ECCMID 2024 Programme Committee is pleased to inform you that your abstract has been accepted for a paper poster presentation and allocated to the following session:

Clinical impact of a rapid diagnostic bundle for the management of patients with suspected sepsis of urinary origin

Belén Rodríguez-Márquez, Ana Álvarez-Uría, Lara Vesperinas, Alejandro Cobos, Patricia Muñoz García, Emilio Bouza, Almudena Burillo

INTRODUCTION: In adult patients with both blood cultures (BCs) and urine cultures (UCs) simultaneously sent to the Microbiology laboratory, information regarding a rapid examination of the urine sample to assess the etiologic diagnosis and patient management is very limited.

Our study evaluated the impact of a rapid diagnostic bundle (RDB) applied to UCs in such patients followed by antimicrobial stewardship counselling.

METHODS: Observational cohort study conducted from April 15, 2022, to October 30, 2023. A total of 297 patients were included in the intervention group. The RDB involved incubating the urine in a light scattering system (Alfred AST®). Direct MALDI-TOF identification was carried out on positive samples, and a preliminary antibiogram (P-AST) was conducted for Enterobacterales using Alfred AST®. An infectologist provided this information and advice to the responsible clinician regarding necessary antibiotic treatment modifications. For the control group, only the conventional routine information was used. A bootstrapping cluster analysis was performed on paired patients who were matched for age, sex, department, type of patient, Charlson score, and qSOFA.

RESULTS: Results are summarized in table 1. We observed no significant differences in the baseline conditions and severity of presentation between the two groups. However, the patients who underwent intervention showed a significant improvement in several aspects such as reduced duration of admission, fewer days of antibiotic treatment, lower expenditure on antibiotics, need for ICU admission, and lower mortality rate. There were no significant differences in the duration of admission to the ICU or the incidence of CDAD.

CONCLUSIONS: In adult patients with suspected SUO and simultaneous urine and blood cultures collected, a rapid diagnostic bundle directly on urine samples coupled with AMS proved accurate and useful for adequate and early management.

Immediate communication of results to physicians may help adjust antibiotic treatment when inappropriate and reduce the use of antibiotics, AB costs, LOS, ICU stay and mortality.

Table 1. Comparison of patients with and without an RDB and antimicrobial stewardship counselling

<i>Variables</i>	<i>Intervention cohort N=297</i>	<i>Comparison cohort N=297</i>	<i>p</i>
<i>General conditions, median (IQR)</i>			
<i>Age (years)</i>	74 (60-85)	73 (60-83)	0.652
<i>Charlson comorbidity index</i>	5 (3-5)	5 (3-7)	0.592
<i>Type of patient, n (%)</i>			
<i>Medical</i>	217 (73)	217 (73)	0.998
<i>Surgical</i>	18 (6)	19 (6)	
<i>Immunosuppressed</i>	27 (9)	27 (9)	
<i>Oncohematologic</i>	35 (12)	34 (11)	
<i>qSOFA (n, %)</i>			0.205
<i>0</i>	179 (60.3)	193 (65.0)	
<i>1</i>	111 (34.0)	95 (32.0)	
<i>2</i>	17 (5.7)	9 (3.0)	
<i>Reason for admission, n (%)</i>			0.001
<i>Urinary tract infection</i>	118 (39.7)	106 (35.7)	
<i>Other type of infection</i>	93 (31.3)	63 (21.2)	
<i>Unrelated to infection</i>	86 (28.9)	128 (43.1)	
<i>Microorganism in urine (n, %)</i>			0.003
<i>Enterobacterales</i>	205 (69.0)	175 (58.9)	

<i>Non fermenting GNB</i>	5 (1.7)	21 (7.1)	
<i>MDR</i>	40 (13.5)	32 (10.8)	
<i>Gram positive cocci</i>	19 (6.4)	32 (10.8)	
<i>Yeasts</i>	10 (3.4)	16 (5.4)	
<i>Microorganism in blood (n, %)</i>			0.513
<i>Enterobacterales</i>	39 (13.1)	39 (13.1)	
<i>Non fermenting GNB</i>	3 (1.0)	8 (2.7)	
<i>MDR</i>	8 (2.7)	4 (1.4)	
<i>Gram positive cocci</i>	17 (5.7)	21 (7.1)	
<i>Yeasts</i>	1 (0.3)	0	
<i>Outcome</i>			
<i>Length of stay (median, IQR; days)</i>	9 (6-18)	12 (7-30)	<0.001
<i>Days of therapy (median, IQR; days)</i>	8 (5-12.5)	10 (6-16)	0.008
<i>Antibiotic cost (median, IQR; €)</i>	101.4 (40.1-277.0)	155.3 (52-8-402.1)	0.002
<i>Mortality (n, %)</i>	18 (6.1)	33 (11.1)	0.028
<i>CDAD (n, %)</i>	8 (2.7)	12 (4.0)	0.363
<i>Admission ICU (n, %)</i>	22 (7.4)	40 (13.5)	0.016

ANEXO V. INFORMES DE LOS DIRECTORES DE LA TESIS DOCTORAL

Documento 1 Informe del Director/a de la Tesis Doctoral *PhD Thesis Supervisor Report*

DATOS DE LA TESIS DOCTORAL / PhD THESIS DATA			
Apellidos del Doctorando/a <i>Student Surnames</i>	ALVAREZ-URÍA MIYARES	Nombre del Doctorando/a <i>Student Name</i>	ANA MARIA
Título de la Tesis <i>Thesis title</i>	ESTUDIO DEL IMPACTO DE LAS NUEVAS TECNOLOGÍAS Y TÉCNICAS RÁPIDAS EN EL DIAGNÓSTICO DE SEPSIS (PROYECTO SÍNTESIS)		
Programa de Doctorado <i>PhD Programme</i>	INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS MÉDICO-QUIRÚRGICAS		

DATOS DEL DIRECTOR/A DE LA TESIS DOCTORAL / PhD THESIS SUPERVISOR DATA			
Apellidos <i>Surnames</i>	BOUZA SANTIAGO	Nombre <i>Name</i>	EMILIO
Centro al que pertenece y dirección <i>University or Centre and address</i>	FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID		
D.N.I./Pasaporte <i>ID/Passport</i>	02481833H	Nacionalidad <i>Nationality</i>	ESPAÑOLA
Correo electrónico <i>E-mail</i>	Emilio.Bouza@gmail.com	Teléfono <i>Phone</i>	609012196
Indique si es el/la tutor/a <i>Mark if you are the tutor</i>	Sí / Yes	X	No / No

(1) Las actividades desarrolladas por el/la doctorando/a, incluidas en su “Documento de Actividades”, han sido revisadas y cumple con las exigencias establecidas en el R.D. 99/2011 y en la Normativa de Doctorado de la UCM? <i>(1)The activities carried out by the PhD candidate, recorded in the “activities document”, have been reviewed and meet the established requirements in R.D. 99/2011 and in the UCM PhD regulations</i>			
SÍ / YES	X	NO / NO	

	VALORACIÓN DE LA TESIS / THESIS ASSESSMENT			
	Muy Buena <i>Very Good</i>	Buena <i>Good</i>	Suficiente <i>Adequate</i>	Deficiente <i>Poor</i>
Originalidad <i>Originality</i>	X			
Definición de Objetivos <i>Definition of Objectives</i>	X			

Metodología <i>Methodology</i>	X			
Relevancia de los Resultados <i>Relevance of Results</i>	X			
Discusión y Conclusiones <i>Discussion y Conclusions</i>	x			

INFORME RAZONADO EN RELACIÓN CON CADA UNO DE LOS APARTADOS VALORADOS, TENIENDO EN CUENTA LOS TÉRMINOS INICIALMENTE ESTABLECIDOS EN EL PLAN DE INVESTIGACIÓN.

REASONED REPORT IN RELATION TO EACH OF THE ASSESSED SECTIONS, CONSIDERING THE INITIALLY ESTABLISHED TERMS IN THE RESEARCH PLAN.

Originalidad / Originality

Esta tesis arroja luz en un área donde las conjeturas tienen que ser sustituidas por los datos. Se trata de evaluar en cifras el impacto real que la realización de técnicas microbiológicas de diagnóstico etiológico rápido tienen en la evolución clínica de los pacientes. Se trata de un documento con estudios llevados a cabo en la realidad de un hospital general donde se conjugan los esfuerzos de laboratorio y del consejo clínico en los resultados de pacientes con sepsis.

A mi juicio, todos los estudios son originales y aportan información en un campo donde es urgentemente necesaria

2. Definición de Objetivos / Definition of Objectives

Los distintos estudios que componen esta memoria de tesis doctoral tienen unos objetivos claramente establecidos. Los criterios y las definiciones son claras y se ajustan al estado internacional del arte en sus materias correspondientes.

3. Metodología / Methodology

Los métodos en los distintos trabajos están bien descritos y se ajustan a modelos bien reputados y establecidos en el mundo científico.

4. Relevancia de los resultados / Relevance of Results

El primer estudio evalúa el impacto de la utilización de los nuevos paneles sindrómicos en pacientes ingresados con infecciones graves de distinta naturaleza.

En el segundo estudio el objetivo es evaluar el papel de un examen rápido de la orina en pacientes con cuadros de sepsis de origen urinario

El tercero evalúa las implicaciones de esta dinámica de actuación para un servicio de Microbiología

Los tres estudios sugieren la necesidad de cambios muy importantes en la estructura y disponibilidad de los servicios de Microbiología y E. Infecciosas si se pretende cambiar sustancialmente la dinámica de trabajo actual en pacientes con sospecha de sepsis

5. Discusión y Conclusiones / Discussion and Conclusions

La autora discute adecuadamente la aportación y estado del arte de cada una de las áreas en las que se lleva a cabo su trabajo.

Además, en un último apartado, hace una demostración de su conocimiento y madurez en este campo ofreciendo su visión global del presente y sobre todo del futuro del diagnóstico rápido del paciente infectado grave en los hospitales del mañana. Esta parte de su tesis es, a mi juicio, particularmente brillante ya que la doctoranda tiene que moverse en un terreno donde la ausencia de datos dejan espacio a la ideación y a la creatividad.

Valoración global / Global Assessment

Me parece una tesis excelente en la que he tenido el privilegio de observar muy directamente y a pie de obra su concepción, ejecución y construcción.

Me parece que la información producida responde perfectamente a los criterios que para obtener el título de Doctor exige la Universidad Complutense de Madrid.

Fecha / Date:

(2) Fdo. / Sgd.: Emilio Bouza Santiago

**BOUZA
EMILIO -
02481833H**

Firmado digitalmente
por BOUZA EMILIO -
02481833H
Fecha: 2024.04.18
10:11:44 +02'00'

(1) Antes de firmar este documento deberá revisar en RAPI si el Plan de Investigación está aceptado y hay actividades aceptadas en el Documento de Actividades del doctorando.

(2) Este documento deberá ser firmado con firma manuscrita original o la firma electrónica de acuerdo con el art. 10 de la ley 39/2015. No se considera válida la inserción de imágenes de firmas al no poder garantizar su autenticidad.

(1) Before signing this document, please check in the RAPI platform whether the Research Plan has been accepted and if there are any accepted activities in the PhD Candidate Activities Document.

(2) This document must be signed with original handwritten signature or electronic signature in accordance with art. 10 o

Documento 1
Informe del Director/a de la Tesis Doctoral
PhD Thesis Supervisor Report

DATOS DE LA TESIS DOCTORAL / PhD THESIS DATA			
Apellidos del Doctorando/a <i>Student Surnames</i>	ALVAREZ-URÍA MIYARES	Nombre del Doctorando/a <i>Student Name</i>	ANA MARIA
Título de la Tesis <i>Thesis title</i>	ESTUDIO DEL IMPACTO DE LAS NUEVAS TECNOLOGÍAS Y TÉCNICAS RÁPIDAS EN EL DIAGNÓSTICO DE SEPSIS (PROYECTO SÍNTESIS)		
Programa de Doctorado <i>PhD Programme</i>	INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS MÉDICO-QUIRÚRGICAS		

DATOS DEL DIRECTOR/A DE LA TESIS DOCTORAL / PhD THESIS SUPERVISOR DATA			
Apellidos <i>Surnames</i>	MUÑOZ GARCÍA	Nombre <i>Name</i>	PATRICIA
Centro al que pertenece y dirección <i>University or Centre and address</i>	FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID		
D.N.I./Pasaporte <i>ID/Passport</i>	00801361H	Nacionalidad <i>Nationality</i>	ESPAÑOL
Correo electrónico <i>E-mail</i>	pacmunoz@pdi.ucm.es	Teléfono <i>Phone</i>	914265184
Indique si es el/la tutor/a <i>Mark if you are the tutor</i>	Sí / Yes		No / No X

(1) Las actividades desarrolladas por el/la doctorando/a, incluidas en su “Documento de Actividades”, han sido revisadas y cumple con las exigencias establecidas en el R.D. 99/2011 y en la Normativa de Doctorado de la UCM? <i>(1)The activities carried out by the PhD candidate, recorded in the “activities document”, have been reviewed and meet the established requirements in R.D. 99/2011 and in the UCM PhD regulations</i>			
SÍ / YES	X	NO / NO	

	VALORACIÓN DE LA TESIS / THESIS ASSESSMENT			
	Muy Buena <i>Very Good</i>	Buena <i>Good</i>	Suficiente <i>Adequate</i>	Deficiente <i>Poor</i>
Originalidad <i>Originality</i>	x			
Definición de Objetivos <i>Definition of Objectives</i>		x		
Metodología <i>Methodology</i>	x			
Relevancia de los Resultados <i>Relevance of Results</i>	x			

Discusión y Conclusiones Discussion y Conclusions	x			
---	----------	--	--	--

INFORME RAZONADO EN RELACIÓN CON CADA UNO DE LOS APARTADOS VALORADOS, TENIENDO EN CUENTA LOS TÉRMINOS INICIALMENTE ESTABLECIDOS EN EL PLAN DE INVESTIGACIÓN.

REASONED REPORT IN RELATION TO EACH OF THE ASSESSED SECTIONS, CONSIDERING THE INITIALLY ESTABLISHED TERMS IN THE RESEARCH PLAN.

1. Originalidad / Originality <i>El proyecto SINTESIS, en el que se basa la presente tesis doctoral, constituye un proyecto pionero en el ámbito de la microbiología ya que el impacto clínico de múltiples técnicas novedosas basadas en la biología molecular, la espectrometría de masas o la nefelometría-láser, evaluadas en este trabajo, no está bien establecido.</i> <i>Además, la aplicación de este tipo de técnicas a pacientes graves y con sepsis no ha sido bien evaluada previamente.</i> <i>Por otro lado, no existen además trabajos similares que estudien un conjunto de medidas como el expuesto, que implique la interpretación de los resultados por un especialista en enfermedades infecciosas y la comunicación y el consejo al médico responsable del paciente.</i>
2. Definición de Objetivos / Definition of Objectives <i>Los objetivos del proyecto son claros y medibles, están bien definidos por las variables del estudio.</i>
3. Metodología / Methodology <i>La metodología es adecuada al planteamiento del estudio y a los objetivos, se trata de un trabajo prospectivo y de intervención, con una adecuada selección de los pacientes y un adecuado tamaño muestral. La recogida de datos ha sido también adecuada y el proyecto ha sido aprobado por el comité de ética de nuestro centro en cada parte.</i>

4. Relevancia de los resultados / Relevance of Results

El proyecto apoya la utilización de nuevas tecnologías en la sepsis, lo cual no había sido bien establecido en la literatura. En concreto, el algoritmo de diagnóstico rápido realizado en pacientes con sospecha de sepsis urinaria ha tenido un impacto favorable en la mortalidad de los pacientes, lo cual apoya su implementación en los laboratorios de microbiología y constituye un resultado muy relevante.

5. Discusión y Conclusiones / Discussion and Conclusions

La presente tesis consta de 3 partes, cada una con su propia discusión de los resultados obtenidos, sus implicaciones, la literatura previa disponible, las limitaciones del estudio y las conclusiones, todas ellas adecuadas a los objetivos. Incluye además una interesante discusión final sobre el papel futuro de la microbiología y las enfermedades infecciosas en la sepsis, con potenciales ideas para proyectos futuros.

Valoración global / Global Assessment

Globalmente, la presente tesis se considera MUY BUENA, por su diseño y metodología, por su gran aplicabilidad a la práctica clínica habitual y por aportar datos muy importantes sobre el impacto clínico de paquetes de medidas y de algoritmos de diagnóstico rápido, de los que carece la literatura. Esta tesis se ha realizado con un trabajo diario de varios años, con un gran desarrollo profesional de la doctoranda, y que además ha ayudado a muchos pacientes

Fecha / Date:

MUÑOZ GARCIA
PATRICIA CARMEN
- 00801361H

Firmado digitalmente por
MUÑOZ GARCIA PATRICIA
CARMEN - 00801361H
Fecha: 2024.04.18
10:10:29 +02'00'

(2) Fdo. / Sgd.:

(1) Antes de firmar este documento deberá revisar en RAPI si el Plan de Investigación está aceptado y hay actividades aceptadas en del Documento de Actividades del doctorando.

(2) Este documento deberá ser firmado con firma manuscrita original o la firma electrónica de acuerdo con el art. 10 de la ley 39/2015. No se considera válida la inserción de imágenes de firmas al no poder garantizar su autenticidad.

- (1) Before signing this document, please check in the RAPI platform whether the Research Plan has been accepted and if there are any accepted activities in the PhD Candidate Activities Document.*
- (2) This document must be signed with original handwritten signature or electronic signature in accordance with art. 10 of Law 39/2015. The insertion of images of signatures is not considered valid given that their authenticity cannot be guaranteed.*