

Covián Molina María Emilia \*  
 Limón Rojas Ana Elena \*  
 Valenzuela Méndez Ema \*\*  
 Ortiz Ibarra Federico Javier\*\*  
 Reyna Figueroa Jesús\*

## Identificación de bacteremia oculta del lactante utilizando la prueba de Septifast: a propósito de un caso

Identification of occult bacteremia in infants using SeptiFast: Case Report

Fecha de aceptación: fecha 2014

### Resumen

Un lactante de dos años de edad con fiebre de 10 días de evolución, sin foco infeccioso evidente y cultivos negativos, recibió diferentes esquemas antimicrobianos sin mostrar mejoría. Debido a lo anterior, utilizamos una prueba de biología molecular, la cual reportó *Streptococcus pneumoniae*, con respuesta al manejo con ceftriaxona.

**Palabras clave:** fiebre, lactante, Septifast, diagnóstico, biología molecular

### Abstract

A molecular biology technique was used in one infant with fever without infection site evidence and negative cultures, in which broad -spectrum antibiotics were administered without a visible improvement. The test showed *Streptococcus pneumoniae* and the patient reacted well to the treatment with ceftriaxone.

**Keywords:** fever, infant, Septifast, diagnosis, molecular biology.

### Introducción

La fiebre es considerada uno de los motivos de consulta más frecuentes en la edad pediátrica.<sup>1</sup> Establecer el diagnóstico y la etiología se dificulta en los menores de tres años por las condiciones propias de la edad. Cuando el foco infeccioso no es evidente, un porcentaje entre el 2-29% de los niños con fiebre desarrollan infecciones graves entre las que se incluye: sepsis, meningitis neumonías, infecciones urinarias, etcétera.<sup>2</sup>

El término de bacteremia oculta del lactante (BOL) se refiere a la presencia de bacterias en el hemocultivo de niños con fiebre sin foco evidente y sin aspecto tóxico.<sup>3</sup> Las ocurrencia corresponde al 1.5-2.3% de los niños de entre 3-36 meses con fiebre prolongada, siendo el neumococo el microorganismo más comúnmente aislado en la etapa post-vacunal en el 82-90% de los casos.<sup>3</sup> En general la bacteremia oculta no presenta complicaciones graves, su evolución es transitoria y la resolución, en la mayoría de los casos, es espontánea sin usar antibióticos, pero el 11.7% puede dar lugar a infecciones graves.<sup>4</sup>

Algunos biomarcadores alternativos para la identificación del niño con BOL es la elevación significativa de la

proteína C reactiva (440 mg/dl), la procalcitonina (PCT), la IL-6 y la IL-8 se han utilizado pero existe poca experiencia en la edad pediátrica, y con la desventaja del desconocimiento del agente causal.<sup>5</sup> Hoy en día, la introducción de nuevas técnicas de biología molecular para la identificación del material genético de microorganismos, permite la obtención de resultados en unas cuantas horas, es decir que ha aumentado de manera notable la velocidad de identificación de los microorganismos aislados.<sup>6</sup> La identificación de secuencias conservadas de los genes bacterianos del ácido ribonucleico ribosomal (rRNA) 16S, 23S, y las regiones intermedias entre ambos, se han empleado para el diagnóstico de bacterias específicas de cada especie.<sup>7</sup>

La prueba de SeptiFast® permite identificar 25 microorganismos, (Cuadro 1) que representan 90% de las especies aisladas en pacientes sépticos.<sup>8</sup> Se la ha utilizado para mejorar, con resultados muy alentadores, los porcentajes de aislamiento de bacterias causantes de enfermedades tales como endocarditis infecciosa, sepsis en pacientes neutropénicos con neoplasias hematológicas, bacteriemias o fungemias.<sup>9-12</sup>

\*Servicio de Pediatría, Hospital Central Sur Petróleos Mexicanos

\*\*Laboratorio Diagnomol S.A. de C.V.

Correspondencia: M. en C. Jesús Reyna Figueroa  
 Hospital Central Sur de Alta Especialidad Petróleos Mexicanos

Blvd. Adolfo Ruíz Cortines Número 4091, Col. Fuentes del Pedregal, Delegación Tlalpan, CP 14140, México DF.

Dirección electrónica: jesusreynaf@prodigy.net.mx  
 Tel. 52 (55) 5645 6338

**Cuadro 1**  
**Especies microbianas que detecta la prueba molecular SeptiFast**

Gram (-)	Gram (+)	Hongos
<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Klebsiella (pneumoniae/oxytoca)</i>	<i>Staphylococcus coagulasa negativo</i>	<i>Candida tropicalis</i>
<i>Serratia marcencens</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Candida parapsilosis</i>
<i>Enterobacter (cloacae/aerogenes)</i>	<i>Streptococcus sp</i>	<i>Candida krusei</i>
<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Candida glabrata</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>
<i>Acinetobacter baumanii</i>		
<i>Sternotrophomonas maltophilia</i>		

## Presentación del caso

Masculino de 2 años 8/12, originario y residente de México, Distrito Federal, producto de la gesta dos de un embarazo normo evolutivo, peso de 2800 g. Con diagnóstico de enfermedad por reflujo gastroesofágico, manejado con cisaprida y ranitidina. Inició padecimiento un mes previo a su hospitalización con presencia de cuadros infecciosos recurrentes de las vías aéreas superiores, siendo tratado por facultativo con múltiples esquemas antimicrobianos a base de cefalosporinas y penicilina, con mejoría parcial. Quince días previos al ingreso hospitalario, inició con rinitis hialina, tos productiva e irritabilidad, motivo por el cual acude a urgencias, donde fue valorado encontrándolo febril y sin otro dato clínico evidente, la biometría hemática con 18,880, neutrófilos del 67%, linfocitos del 21%, monocitos del 10.8%, eosinófilos del 0.05%, hemoglobina de 12.93, hematocrito 36.31%, plaquetas de 438 000, velocidad de sedimentación globular 45 y proteína C reactiva 45.8. Se decidió su ingreso a hospitalización para su estudio. Se solicitaron cultivos de sangre, exudado faríngeo y urocultivo, los cuales se reportaron sin desarrollo de microorganismos y se inició cefuroxima. Persistió febril y al tercer día de estancia se solicitó la prueba de Septifast con reporte al día siguiente de *Streptococcus pneumoniae*; se cambió el manejo a ceftriaxona mejorando clínicamente con egreso hospitalario al quinto día de tratamiento antimicrobiano, para después continuar con tratamiento ambulatorio.

Para la prueba de Septifast,<sup>13,14</sup> el ADN se extrajo de una muestra de 1 mL de sangre total en un tubo con anticoagulante EDTA tomada del paciente con técnica estéril. La muestra fue lisada de forma mecánica con el equipo MagNA Lyser (Roche). Se utilizó el Kit SeptiFast Prep® MGRADE y se incubaron las muestras a 56 °C con proteasa y un tampón de lisis caotrópico para liberar y proteger al ADN de las enzimas contra ADN. Después se adicionó a las muestras un tampón de unión y se transfirió

la solución a una columna de fibra de vidrio donde ADN genómico humano, bacteriano y fúngico fueron retenidos, el resto del material se eliminó mediante un par de lavados. Al final se eluyeron los ácidos nucleicos en 300 µL de solución y el material obtenido se utilizó para la reacción de amplificación.

**Reacción de amplificación.** Se utilizó el kit LightCycler® SeptiFast Test MGRADE, para lo que se prepararon las mezclas de reacción que contenían la enzima Taq polimerasa y primers/sondas específicas para la detección de microorganismos Gram positivos, Gram negativos y hongos.

Se agregaron las muestras procesadas con las mezclas de reacción en los capilares de LightCycler® (100 µL) MGRADE, donde la reacción de amplificación (PCR) se realizó con el equipo LightCycler® 2.0 (Roche).

Después de finalizar la PCR se generaron los análisis de la curva de fusión de los controles y las muestras amplificadas. Este análisis fue de forma automática con el software de identificación especial (SeptiFast Identification Software).

## Discusión

La bacteriemia oculta (BO) es la presencia de bacterias en el hemocultivo de niños con fiebre sin foco y sin aspecto tóxico.<sup>5</sup> Se presenta en un 1.5-2.3% (1.9 IC 95%) de los niños entre 3-36 meses con fiebre sin foco aparente.<sup>4</sup>

El neumococo es el microrganismo más comúnmente aislado en la etapa posvacunal con el 82-90% de los casos; los otros gérmenes implicados varían en frecuencia según las diferentes series: *Neisseria meningitidis*, *Salmonella*, *Moraxella catarrhalis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus*

*aureus* y el *Haemophilus influenzae*, el cual es cada vez menos frecuente. El 1.8% de los niños con bacteriemia oculta por *S. pneumoniae* desarrolla meningitis; el riesgo es 15 veces mayor para niños con bacteriemia por *H. influenzae* y 81 veces mayor por *N meningitidis*.<sup>13</sup>

La detección temprana de los microorganismos con una técnica basada en la identificación de ácidos nucleicos asegura el uso rápido y apropiado de antimicrobianos. Las ventajas de la prueba de Septifast se han evaluado en diversos estudios, estableciendo entre las más importantes:

1. La detección rápida del agente causal, que favorece el tratamiento correcto de los pacientes<sup>14</sup>
2. Los niveles de concordancia con los hemocultivos es de hasta 89%<sup>14</sup>
3. En pacientes con bacteriemia, el volumen de sangre a obtenerse se ha estandarizado hasta en 6 ml (dependiendo del equipo utilizado y del número de muestras tomadas) lo cual representa arriba del

4.5% del volumen total del lactante para detectar al patógeno,<sup>4</sup> mientras que la cantidad de sangre a obtener para la prueba de Septifast se ha estandarizado en 1 mL

4. Indirectamente favorece el uso racional de antimicrobianos, en pacientes con síntomas pero sin cultivos positivos

Las principales desventajas, sin embargo, se establecen a nivel microbiológico, una vez detectado el microorganismo, ante la ausencia de estudios de susceptibilidad antimicrobiana. Aunque la prueba es relativamente desconocida en México, la prueba se ha incluido en protocolos de investigación en diferentes instituciones del mundo, y paulatinamente se obtiene experiencia acerca del papel que puede jugar esta u otra prueba de biología molecular como auxiliar diagnóstico de pacientes con enfermedades infecciosas bacterianas y micóticas de manera oportuna y rápida.<sup>15,16</sup>

## Referencia

1. Raya PC, Reyna FJ, Padilla RM, Medina DP, Maldonado RC, Limón RAE. "Abuso de antibióticos en la edad pediátrica como consecuencia del error materno en la identificación de fiebre". *Enfermedades Infecciosas y Microbiología*. 2012; 32(3): 94-99.
2. Finkelstein JA, Christiansen CL, Platt R. "Fever in pediatric primary care: occurrence, management, and outcomes". *Pediatrics* 2000;105:260-266.
3. Schwartz RH, Wientzen RL Jr. "Occult bacteremia in toxic appearing, febrile infant. A prospective clinical study in an office setting". *Clin Pediatr (Phila)* 1982;21(11): 659-663.
4. Kellogg J, Ferrentino Frank , Goodstein M, Liss Jonathan, Shapiro S, Bankert D. "Frequency of low level bacteremia in infants from birth to two months of age". *Pediatric Infectious Disease Journal*. 1997; 16: 381-385.
5. Jaskiewicz JA, McCarthy CA, Richardson AC, White KC, Fisher DJ, Dagan R, et al. "Febrile infants at low risk for serious bacterial infection—an appraisal of the Rochester criteria and implications for management. Febrile Infants Collaborative Study Group". *Pediatrics* 1994;94(3):390-396.
6. Tenover F, Arbeit R, Goering R, Mickelsen P, Murray B, Persing D. "Interpreting chromosomal ADN restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: Criteria for bacterial strain typing." *J Clin Microbiol* 1995;33(9): 2233- 2239.
7. Kost GJ, Tran NK, Louie RF, et al. "Rapid diagnosis of sepsis:point of care testing, nucleic acid testing, and the value model". *J Near Patient Test Technol* 2003; 2:163-171.
8. Reyna FJ, Richardson LCV, Vidal VP. "De las definiciones, las vacunas y la identificación del paciente séptico en pediatría". *Rev Panam Salud Pública* 2010;27: 469-470.
9. Lisby G, Westh H. "Evaluation of SeptiFast-a new commercially available broad-range real-time PCR assay for detection of bacteria and fungi in blood". Presented at the 16<sup>th</sup> European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases; April 2006; Nice, France.
10. Mancini N, Clerici D, Diotti R, Perotti M, Ghidoli N, De Marco D, et al. "Molecular diagnosis of sepsis in neutropenic patients with haematological malignancies". *J Med Microbiol* 57(5):601-604.
11. Louie RF, Tang Z, Albertson TE, et al. "Multiplex polymerase chain reaction detection enhancement of bacteremia and fungemia". *Crit Care Med* 2008;36:1487-1492.
12. Emrich T, Moczkó M, Lohmann S, et al. *LightCycler Septi-Fast Test. Roche Molecular Diagnostics*, Roche DiagnosticsGmbH, Penzberg, Germany.
13. Londoño C, Ortegón L, Céspedes J. "Enfoque diagnóstico del lactante febril y bacteriemia oculta". Programa de educación continua en Pediatría, Sociedad Colombiana de Pediatría, Volumen 6, Número 3, 39:47. Disponible en: [http://www.scp.com.co/precop/precop\\_files/modulo\\_6\\_vin\\_3/lactante\\_febril.pdf](http://www.scp.com.co/precop/precop_files/modulo_6_vin_3/lactante_febril.pdf).
14. Maldonado SK, Reyna FJ, Ortiz FJ, Valenzuela ME, Limón RAE. "Uso de la prueba LightCycler® SeptiFast en un recién nacido y un lactante para el diagnóstico etiológico rápido de sepsis nosocomial por *Candida* parapsilosis". *Revista de Enfermedades Infecciosas en Pediatría* 2011;25(98):75-78.
15. Reyna J, Ortiz J, Morales I. "Use of the LightCycler SeptiFast Test for Rapid Etiologic Diagnosis of Nosocomial Infection in Gynecological Sepsis". *Gynecol Obstet Invest* 2010;70:215-216.
16. Treviño-Valdez PD, Reyna-Figueroa J, Ortiz-Ibarra FJ, Morales-Méndez. "Detección de *Streptococcus pneumoniae* por medio de la tecnología LightCycler SeptiFast®: Reporte de un caso". Abstract del 28<sup>o</sup> Congreso Interamericano de Infectología Pediátrica, Zacatecas, Zacatecas Noviembre 2009.