

11219



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO E INVESTIGACIÓN
INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGÍA

“CUANTIFICACIÓN DE **IL-6** EN LA RUTA DIAGNÓSTICA DE
SOSPECHA DE SEPSIS DEL INSTITUTO NACIONAL DE
PERINATOLOGÍA”

TESIS DE POSGRADO

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO EN:

INFECTOLOGÍA

PRESENTA:

DRA. MARÍA ISABEL VILLEGAS MOTA

TUTOR: DR. FEDERICO JAVIER ORTIZ IBARRA

PROF. TITULAR DE LA SUBESPECIALIDAD DE INFECTOLOGÍA



MÉXICO, D. F.

2003 - 2004

INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGÍA



DIRECCIÓN DE ENSEÑANZA



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO E INVESTIGACIÓN**

INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA

**“CUANTIFICACIÓN DE IL-6 EN LA RUTA DIAGNÓSTICA DE SOSPECHA DE SEPSIS
DEL INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGÍA”**

PRESENTA:


DRA. MARÍA ISABEL VILLEGAS MOTA


DR. FEDERICO JAVIER ORTIZ IBARRA
PROFESOR TITULAR


DR. FEDERICO JAVIER ORTIZ IBARRA
TUTOR


SUBDIVISION DE ESPECIALIZACIÓN
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE MEDICINA
U.N.A.M.

MEXICO D.F.

2003 -2005

ÍNDICE

	Página
Introducción.....	1
Marco teórico.....	2
Justificación.....	14
Pregunta de investigación.....	16
Objetivo.....	17
Hipótesis.....	18
Material y métodos.....	19
Resultados.....	22
Bibliografía.....	23

INTRODUCCIÓN

La sepsis del recién nacido (RN) es un problema frecuente de las Unidades de Cuidados Intensivos Neonatales (UCIN), sin embargo, el diagnóstico temprano con la finalidad de tomar decisiones terapéuticas que disminuyan las secuelas y mortalidad propias de esta entidad, no es fácil ya que no son suficientes por sí solos ni el cuadro clínico ni los hallazgos de laboratorio. Por un lado, los signos que harían sospechar de sepsis, podrían corresponder a alguna de las múltiples entidades clínicas propias de los RN que ingresan a una UCIN y, por otro, los cambios hematológicos tampoco son específicos ya que dependen de múltiples factores incluyendo la propia edad gestacional, los días de vida extrauterina, efecto de medicamentos, etc.

En el Instituto Nacional de Perinatología (INPer) se sigue una ruta diagnóstica, incluida en las "Normas de Procedimientos de Neonatología", capítulo "Infectología", que sugiere sospecha de sepsis a la presencia de 2 ó más criterios clínicos aunados a 2 ó más criterios hematológicos, estableciendo el diagnóstico definitivo ante la recuperación microbiológica en hemocultivo.

En vista de los antecedentes encontrados en cuanto a la evidencia actual en el diagnóstico preciso y oportuno de sepsis neonatal, éste continúa constituyendo un desafío para los especialistas en Neonatología e Infectología.

MARCO TEÓRICO

El síndrome de sepsis neonatal se define como una infección sistémica en los primeros 30 días de vida extrauterina que se manifiesta con distintos grados de respuesta inflamatoria y puede tener dos patrones de presentación:

1. *Sepsis temprana*: que inicia entre el nacimiento y los tres primeros días de vida, tratándose de una afección con mortalidad de 5 a 10%, fulminante, multisistémica y que sigue a las complicaciones obstétricas como ruptura prematura de membranas (RPM) y/o corioamnioítis.

2. *Sepsis tardía*: Se presenta después de los tres días de vida y los gérmenes causales se adquieren tanto de canal de parto al nacimiento como de superficies contaminadas, con una menor mortalidad, de 2 a 6%.

El establecimiento se lleva a cabo cuando los organismos causales, principalmente bacterias y hongos, alcanzan la circulación pudiendo diseminarse rápidamente a distintos órganos originando manifestaciones clínicas diversas que, de acuerdo a su gravedad, determinan las cuatro fases del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS) que caracteriza a esta enfermedad y que son identificables como: sospecha de sepsis o sepsis clínica, sepsis grave, choque séptico y disfunción orgánica múltiple (1-2).

Los microorganismos predominantes son una característica propia a cada unidad de cuidados intermedios o intensivos neonatales.

Se estima que en países en vías de desarrollo anualmente fallecen cinco millones de recién nacidos, con un 40% de éstas muertes asociadas a infección, es decir, alrededor de dos millones de muertes de recién nacidos por año o cerca de 5000 muertes diarias se relacionan a una causa infecciosa. En

los países más desarrollados, la letalidad por infección neonatal ha disminuído hasta establecerse en 15% y la tasa de morbilidad por sepsis sigue estando entre 8 y 12 por cada 1000 recién nacidos vivos (NV), aunque tratándose específicamente de sepsis de inicio temprano, la incidencia es más baja (1 -5 casos / 1000 NV); en cambio en países en vías de desarrollo la morbilidad también ha bajado a una tasa de 15 a 30 por cada 1000 RN mientras que la mortalidad es más alta, reportada hasta de 25 y 30%, lo cual se puede atribuir a la menor disponibilidad de terapias intensivas pero también a la falta de recursos de apoyo diagnóstico oportuno y al incremento en el número de neonatos de pretérmino que ingresan para su atención a los hospitales (3-4-5). La sepsis puede estar ocurriendo en RN con síntomas o sin síntomas de sepsis y en aquellos que no los han desarrollado pero que tienen un riesgo importante secundario a los factores perinatales. Los signos y síntomas de ninguna manera son específicos y pueden finalmente atribuírse a otras causas; sin embargo, debido a la rapidez en el deterioro de los neonatos con sepsis verdadera y el potencial éxito del tratamiento si se instituye tempranamente, los médicos deben tenerla en cuenta con prontitud con la finalidad de iniciar las pruebas diagnósticas e instaurar una terapia lo más adecuada posible.

Los datos clínicos que se han descrito en sepsis neonatal pueden incluir una variedad tan amplia como: dificultad respiratoria, letargia o irritabilidad, fiebre o hipotermia, hipo- o hiper-glicemia, acidosis, hipotonia, vómito, rechazo al alimento, apnea, cianosis, crisis convulsivas, hipertensión pulmonar persistente, baja perfusión o choque, petequias o púrpura, ictericia, o el también descrito: "no se vé bien". Aunque se ha intentado buscar fuerzas de asociación o determinar signos de mayor sensibilidad, esto no ha sido

suficiente para un diagnóstico definitivo y mucho menos temprano. Y en el caso de sepsis nosocomial, el diagnóstico es más problemático ya que los signos son menos específicos, por ejemplo: sólo apnea o intolerancia a la vía oral (5).

Actualmente se cuenta con las definiciones bien establecidas para la identificación de inflamación sistémica y sepsis en adultos y niños, lo cual en el caso del neonato también es de utilidad y se encuentra adaptado por consenso, de la siguiente manera (2):

Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica (SRIS): Dos o más de los siguientes:

1. Temperatura $>38^{\circ}\text{C}$, ó $<36^{\circ}\text{C}$
2. Frecuencia cardiaca $> 160\text{x}'$
3. Frecuencia respiratoria $> 60\text{x}'$
4. Cuentas de leucocitos $>20 \times 10^9/\text{L}$, ó $5 \times 10^9/\text{L}$

Sepsis: SRIS más hemocultivo positivo.

Sepsis grave: Sepsis más disfunción orgánica, hipotensión o hipoperfusión.

Choque séptico: Sepsis grave con hipotensión que no responde a carga de líquidos.

En el "trabajo de sepsis" o protocolo de sospecha de sepsis, pueden utilizarse *pruebas de escrutinio* para evaluar la presencia de infección, o *pruebas*

específicas de identificación para confirmar la presencia de un patógeno. Idealmente las pruebas para sepsis neonatal deberían contar con altos valores predictivos positivo y negativo; desafortunadamente, esta situación ideal no existe todavía y la mayoría de las pruebas tienen un pobre valor predictivo positivo. El aislamiento microbiológico de líquidos corporales es el estándar y el método más específico para diagnosticar sepsis; sin embargo, aun en el espécimen más utilizado, la sangre, se pueden presentar muchos resultados falsos negativos como para calificarlo como estándar de oro. Al final, se requiere del juicio médico en el que se tiene que tomar en cuenta toda la constelación de signos, síntomas (o la carencia de ellos), pruebas de escrutinio y pruebas específicas, antes de poder establecer o excluir el diagnóstico de sepsis. Aun así, se ha estimado que entre 11 y 23 RN no infectados llegan a recibir tratamiento en las UCIN por cada uno con infección comprobada (6).

Pruebas de identificación

Hemocultivo

La adquisición de 0.5 -1ml de sangre por punción venosa o arterial para colocarla en una botella de cultivo estándar de soya tripticasa, es una técnica fácilmente disponible. La adquisición de la muestra de un catéter umbilical arterial es también aceptable con porcentajes bajos de contaminación. El cultivo es incubado aproximadamente 5 días, aunque con los sistemas de cultivo automatizados, en la actualidad casi todos los patógenos bacterianos causales de sepsis pueden identificarse dentro de las primeras 48 horas. El problema con el hemocultivo en neonatos es que tiene una sensibilidad para

identificar sepsis de solo 50% a 80%. Éste último porcentaje, hablando de hemocultivos tomados pre-mortem a neonatos diagnosticados sépticos por autopsia (7). La falla en la detección de bacteremia en un apreciable número de casos, se debe a que: 1) la bacteremia es transitoria o intermitente, 2) se obtiene una cantidad insuficiente de sangre para el cultivo o, 3) el proceso de los especímenes no es óptimo (5). El porcentaje de detección ya no es confiable en los casos en que a la madre se administran antibióticos profilácticos intraparto; con porcentajes de detección para sepsis de inicio temprano de sólo 2.7% (8).

Si se trata de decidir en qué momento suspender un tratamiento antibiótico, el hemocultivo negativo es generalmente tomado como evidencia suficiente de que el neonato no está infectado, especialmente si el examen físico es normal. De cualquier modo, un hemocultivo requiere 18 a 24 horas para positivizarse y si un niño hace bacteremias en ese tiempo, permanecerá en mal estado.

Detección de antígenos bacterianos

En sepsis de inicio temprano, parecía tener utilidad la detección de antígenos bacterianos, en particular la aglutinación con partículas de látex (LPA) en orina para *Streptococcus agalactiae* (SGB), sin embargo, la sensibilidad de esta prueba es de solo el 67% y su valor predictivo positivo de 56%. Aunque se había considerado como una prueba de escrutinio, existen pruebas más fáciles y menos caras disponibles, por lo que la LPA no puede ser incluida en la evaluación de rutina de sospecha de sepsis y en particular en una epidemiología como la de nuestro país en la que SGB no se encuentra dentro de los principales causales de sepsis neonatal.

Su utilidad se vé limitada y se recomienda solamente en pacientes con meningitis parcialmente tratada (7).

Pruebas de escrutinio

Se ha intentado la identificación del neonato con sepsis mediante pruebas diagnósticas adyuvantes o de escrutinio que indiquen la entidad en forma temprana aunque no se identifique el organismo causal. Debido a que la sepsis neonatal se considera de baja incidencia pero de alta severidad, es más importante que estas pruebas tengan una alta sensibilidad y excluyan convincentemente el diagnóstico de sepsis si no está presente (alto valor predictivo negativo). Debido a que el valor predictivo negativo (VPN) y el valor predictivo positivo (VPP) están inversamente relacionados, las pruebas con un alto VPN tendrán un bajo VPP. De esta forma, los objetivos de las pruebas son servir como parte de la evaluación total de los pacientes al decidir a quien iniciar terapia antimicrobiana y más importante, retirar el tratamiento rápidamente en aquellos en quienes la infección no esté presente.

Muchos reactantes de fase aguda y citocinas han mostrado correlacionar con el diagnóstico de sepsis neonatal. Muchas de estas pruebas tienen una buena sensibilidad pero muy pocas tienen alta especificidad y muy pocas tienen VPP de más de 40% (5).

Algunas se han realizado bien en lugares de investigación, pero requieren manipulaciones especiales o no están disponibles en los laboratorios de hospitales. En la tabla 1 se presentan ejemplos de estas pruebas:

Leucocitos y cuentas diferenciales
Proteína C reactiva (PCR)
Velocidad de sedimentación globular (VSG)
Endotoxina
Haptoglobina
Tinción de naranja de acridina
Fibronectina
Prueba de nitroazul de tetrazolio (NAT)
Orosomucoide
Inhibidor de elastasa de neutrófilos
Factor estimulador de colonias de granulocitos (FECG)
Procalcitonina
Inhibidor de proteínas inter-alfa (Ialp)
Reacción en cadena de polimerasa bacteriana (PCR)
Factor de necrosis tumoral alfa (FNTa)
Neutrófilos CD11, CD64
C3d
Receptores TNF p55 y p75
Moléculas de adhesión ICAM
Receptor soluble de IL-2(SIL-2)
Receptor antagonista del IL-1 (IL-1ra)
Interleucina 6 (IL-6)
Interleucina 8 (IL-8)

Tabla 1: Pruebas adyuvantes en el diagnóstico de sepsis neonatal

Cuenta de leucocitos e índices relacionados

Las pruebas más frecuentemente utilizadas son la cuenta de leucocitos e índices relacionados como la cuenta de neutrófilos totales (NT), de bandas totales (BT) y la relación bandas/neutrófilos (RBN). Los rangos considerados normales de éstos índices, son muy amplios y también muy dependientes del momento en que se toma la muestra. Manroe y colaboradores demostraron que en su población el límite más bajo de NT es $1800/\text{mm}^3$ al nacimiento, se elevan a $7,200/\text{mm}^3$ a las 12 horas de edad y posteriormente disminuyen a $1800/\text{mm}^3$ a las 72 horas de edad. Shelonka y colaboradores, en niños sanos a las 4 horas de vida encontraron el rango del 10% al 90% de NT en $9500/\text{mm}^3$ a $21,500/\text{mm}^3$. Escobar y colaboradores en una población de bajo riesgo encontraron el límite más bajo de 10% de NT en $5580/\text{mm}^3$ (9).

Otro índice comúnmente utilizado es la RBN, definida como las formas en banda más cualquier célula joven como los metamielocitos, divididos entre el total de los neutrófilos (células polimorfonucleares). Manroe y col definieron el límite superior normal de la RBN en 0.16 en los primeros 3 días de vida, y encontraron una alta sensibilidad pero débil especificidad para el diagnóstico de sepsis usando este punto de corte, no obstante, trabajos subsecuentes han determinado un límite más alto para la RBN en neonatos sanos, por arriba de 0.27. Posteriores estudios, han mostrado solo moderada sensibilidad y especificidad para sepsis, utilizando un límite más alto de 0.25 a 0.30 (9).

Con respecto a la cuenta total de leucocitos, cifras $<5,000$ a $7,500/\text{mm}^3$ también se ha correlacionado con el diagnóstico de sepsis; ésta prueba tiene una baja sensibilidad de 29% pero una razonable especificidad de 91% (6). Además

muchos protocolos de sospecha de sepsis toman en cuenta el límite alto de 30,000 a 40,000/mm³ aunque hay poca evidencia en la literatura de que una cuenta elevada de leucocitos en los primeros 3 días de vida pueda utilizarse en el diagnóstico de sepsis (7).

La más reciente información de los rangos normales en los índices leucocitarios, la proveen Shelonka y colaboradores (10) quienes establecen una cuenta total de leucocitos de 24.06 x10⁹ L, DE +- 6.11; neutrófilos totales 15.62 x10⁹, DE +- 4.69; relación bandas/neutrófilos 0.16, DE+- 0.10; además de demostrar una sensibilidad de 100%, especificidad de 83%, VPP de 27% y VPN de 100% para la suma de: leucocitos <5000/mm³, RBN >0.2 y PCR >1.0mg/dL.

Aunque ésta información es valiosa en la evaluación de sepsis neonatal, no se puede dejar de tomar en cuenta que el amplio rango en los valores normales puede deberse a otras características clínicas diferentes a la infección; por ejemplo, la hipertensión materna y la asfixia perinatal pueden causar neutropenia. Aunque la hipertensión materna no altera la RBN, otros insultos como la asfixia, la fiebre materna o un intenso trabajo de parto, sí pueden hacerlo (10). La cuenta total de leucocitos puede ser más alta en muestras capilares que en las arteriales o venosas. También la variabilidad entre observadores es significativa en la diferenciación de formas maduras (neutrófilos) e inmaduras (bandas). Y como se comentó anteriormente, el momento de la toma de muestra es importante ya que en un recién nacido con sepsis la cuenta de leucocitos puede ser normal en la primera evaluación pero anormal de 4 a 12 horas después (7).

Proteína C reactiva

La proteína C reactiva (PCR) es una proteína reactante de fase aguda (RFA) sintetizada por el hígado en respuesta a, o como parte de la respuesta inflamatoria. La interleucina-6 (IL-6) es el mayor estímulo para la producción de PCR, junto con interleucina-1 (IL-1) y factor de necrosis tumoral alfa (FNTa). La PCR es liberada 4 a 6 horas después del inicio del estímulo, con un pico a las 24 a 48 horas, y después disminuye a través del tiempo en tanto se resuelva la inflamación (11). Una vez en la circulación, la PCR participa en la respuesta inmune formando complejos ligandos con las paredes celulares dañadas, activando así al complemento y uniéndose a células fagocíticas amplificando la respuesta (12).

Aunque un número importante de condiciones elevan la PCR en suero; en el neonato la causa número uno de inflamación, es infección. Además, la PCR es una prueba automatizada de laboratorio barata, fácil y rápidamente disponible. Por estas razones, la PCR ha sido muy estudiada como prueba adyuvante en el diagnóstico de sepsis neonatal.

El límite máximo propuesto por muchos estudios es el de 1.0 mg/dL y fué confirmado por Benitz y colaboradores (51) en 1186 niños. Debido a la respuesta lenta en la elevación de PCR, la determinación seriada ha sido más utilizada para la determinación de infección neonatal, con mediciones en al menos 12 a 24 horas de diferencia (52). Con esta condición de determinar la PCR 12 a 24 horas después del inicio de la sospecha de sepsis, los resultados estadísticos reportados son: sensibilidad de 70% a 93%, especificidad de 41% a 98%, VPP 6% a 83%, y VPN 97% a 99% (10, 13, 15).

Entre las razones para la baja especificidad de la PCR están el número de condiciones perinatales que pueden causar una respuesta inflamatoria sin infección probada, como la fiebre materna, la ruptura prolongada de membranas, sufrimiento fetal, distocias del nacimiento, asfixia perinatal, hemorragia intraventricular o aspiración de meconio (57). Estos datos muestran que el uso del límite de 1.0 mg/dL tiene utilidad limitada en la predicción de infección, pero el alto VPN puede ser utilizado en la exclusión de la presencia de sepsis. Benitz y col (13) encontraron sin embargo, que la PCR >5.0 mg/dL, es más útil en predecir sepsis. Posteriormente, la normalización de la PCR puede ser un buen indicador de resolución de la infección después del tratamiento e incluso hay autores que han sugerido que puede ser usada para determinar la duración del tratamiento con antibióticos (17).

Citocinas

La respuesta inflamatoria es parte básica de la defensa del hospedero ante la infección y explica, en base a proteínas que actúan como mediadores y reguladores, la intensidad de la reacción y sus consecuencias. Dichos mediadores se conocen como citocinas, de *cito*: célula y *kiné*: movimiento o comunicación. Las citocinas que participan en la respuesta inflamatoria a la infección se agrupan en tres tipos funcionales: proinflamatorias, inhibitorias y factores de crecimiento y estimulantes de colonias. Algunas citocinas proinflamatorias se elevan en diversos líquidos biológicos y secreciones de manera consistente y durante el tiempo suficiente para ser consideradas como indicadores de infección. El neonato tiene la capacidad de producir citocinas en niveles parecidos a los del adulto en ausencia de enfermedad (18).

La medición de citocinas pro-inflamatorias, como IL-1, FNTa y la IL-6 en plasma de neonatos con infección, ha sido objeto de controversia en cuanto a su consistencia diagnóstica, tal vez debido a las diferentes técnicas utilizadas y a la gran variedad de criterios de inclusión de los grupos de estudio. Sin embargo, muchos informes coinciden en que su incremento refleja la magnitud del proceso inflamatorio durante la infección. Con base en los estudios publicados sobre el tema, se puede considerar que los incrementos de IL-1, FNTa, IL-6, IL-8 y PCR son de utilidad en el apoyo diagnóstico y pronóstico de la sepsis neonatal. Las combinaciones aumentan la potencia de la sensibilidad, especificidad y valores predictivos. Las determinaciones en suero o plasma de IL-6 y PCR parecen ser las más útiles hasta el momento (4).

Interleucina-6

La IL-6 es un polipéptido de 184 aminoácidos, glicosilada en posiciones 73 y 172, y fosforilada, que se produce en los monocitos/macrófagos, endotelio vascular, mastocitos, queratinocitos, linfocitos T y algunas líneas celulares tumorales. La IL-6 es un importante mediador de la respuesta sistémica precoz. Alcanza picos máximos de concentración rápidamente tras el inicio de bacteriemia, varias horas antes de que comience la regulación de la PCR mediada por la propia IL-6 (19).

En la sepsis confirmada (sepsis clínica más hemocultivo positivo) presenta una sensibilidad de 100%. En relación a la existencia de sepsis clínica (circunstancia que determina la instauración de tratamiento antibiótico hoy en día) según estudios, la sensibilidad llega a ser del 90% y la especificidad del 78% al 90%.

JUSTIFICACIÓN

En el Instituto Nacional de Perinatología se tiene una incidencia de sepsis neonatal de 15.4 por cada 1000 nacidos vivos, cifra que va de acuerdo a lo consignado en la literatura internacional para países en vías de desarrollo. Si se considera que esta institución atiende a mujeres embarazadas de alto riesgo, cuyos recién nacidos constituirán también un grupo susceptible y con una gran proporción de neonatos de pretérmino, que requerirán de tiempos prolongados de hospitalización y serán sometidos la mayoría de las veces a procedimientos invasivos, es evidente el alto riesgo de cursar con infección neonatal propio de nuestros pacientes en las unidades de cuidados intensivos e intermedios neonatales.

La sepsis neonatal es susceptible de tratamiento y control cuando se sospecha y se identifica en sus etapas iniciales, aunque con frecuencia el manejo de antibióticos se inicia tardíamente, lo cual contribuye a que las complicaciones, secuelas y mortalidad sean más elevadas en este grupo de edad. Aunado a esto, ninguna de las pruebas adyuvantes tiene valores predictivos suficientes para confirmar o descartar sepsis neonatal en todas las situaciones clínicas a las que los especialistas en Neonatología e Infectología se enfrentan. Para mejorar la capacidad de diagnóstico de las pruebas adyuvantes, se han combinado algunas de éstas en protocolos de escrutinio de sepsis.

En nuestro Instituto, se cuenta con un protocolo de sospecha de sepsis incluido en el capítulo "Infectología" de las "Normas y Procedimientos en Neonatología" que mediante un sistema de puntaje a determinados factores de riesgo y datos de laboratorio ha demostrado una adecuada fuerza de asociación con el

hemocultivo positivo y tiene la finalidad de determinar el inicio de un esquema antimicrobiano o no. Sin embargo, en el mejor de los escenarios, sólo 50% de RN con infección sistémica en el hospital, cuentan con aislamiento microbiano. Es por lo tanto, obvia la necesidad de contar con indicadores tempranos de infección que puedan fortalecer de manera temprana y en pocas horas la impresión clínica del médico tratante y agilizar el establecimiento de una terapéutica antimicrobiana oportuna.

No solo eso, sino que consideramos que como Instituto Nacional estamos comprometidos a conocer la evidencia surgida de la investigación clínica y obligados a contribuir con ella, por lo que elaboramos este estudio con la finalidad de valorar la posibilidad de actualizar y mejorar nuestro procedimiento diagnóstico en cuanto a sepsis neonatal.

En este caso hemos decidido utilizar una de las pruebas inmunológicas que ha demostrado su utilidad: Interleucina-6 que además se encuentra disponible en nuestro Instituto.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Mejora la IL-6 la efectividad diagnóstica del protocolo de sospecha de sepsis neonatal?

OBJETIVO

Determinar si al incluir la cuantificación de IL-6, en la ruta diagnóstica de sospecha de sepsis, es más efectivo el diagnóstico de sepsis neonatal, en relación directa a la recuperación microbiana en hemocultivo.

HIPÓTESIS

H1: La IL-6 mejora la sensibilidad, especificidad, VPP y VPN del diagnóstico clínico de sepsis neonatal.

H0: No existe incremento en la S, E, VPP y VPN cuando se agrega IL-6 al protocolo de diagnóstico establecido.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se realizó en la población de recién nacidos hospitalizados en las unidades de cuidados intensivos neonatales y cuidados intermedios neonatales del Instituto Nacional de Perinatología (INPer).

La recolección de muestras y captación de pacientes se llevó a cabo durante los meses de febrero y marzo del 2004, entre aquellos pacientes menores a 30 días de vida extrauterina, independientemente de la edad gestacional, con diagnóstico de sepsis clínica, ingresados al protocolo de sospecha de sepsis. Se consideró sepsis clínica en aquellos que presentaran al menos un criterio de tres de las siguientes categorías:

1. Palidez, ictericia
2. Letargia, apnea, bradicardia, irritabilidad, convulsiones
3. Taquipnea, disnea
4. Hipotensión, taquicardia, compromiso microcirculatorio
5. Vómitos, distensión abdominal
6. Fiebre, inestabilidad de la temperatura corporal y en su evolución presentaron elevación de algún marcador analítico de infección (leucocitosis, relación bandas/neutrófilos, PCR)(20).

La decisión de ingresar a un paciente a protocolo de sospecha de sepsis fue tomada por el médico tratante de Neonatología.

Los recién nacidos se clasificaron en dos grupos: Grupo 1, sepsis comprobada con hemocultivo y grupo 2, sepsis no comprobada.

Los parámetros analizados en los dos grupos fueron:

1. Relación bandas/neutrófilos
2. Cuenta total de leucocitos
3. Proteína C reactiva
4. Interleucina-6

Para las determinaciones de PCR e IL-6 se requirió una muestra sanguínea de 0.5ml. El suero se separó y se procesó para PCR posterior a lo cual se mantuvo en congelación a una temperatura de -20° C para determinación de IL-6 si se completaban criterios de inclusión

Determinación de IL-6

El procesamiento se llevó a cabo mediante ensayo inmunométrico enzimático secuencial de fase sólida, por quimioluminiscencia realizado en forma automatizada en un equipo de la marca Immulite (DCP Cirrus Inc. Los Angeles, California; E.U.), donde el límite de detección fue de 2pg/ml. El equipo requiere un volumen mínimo de muestra de 350 microlitros. Las muestras se descongelaron a temperatura ambiente, se tomó una cantidad de 400 microlitros y se colocó en los recipientes del sistema los cuales contienen anticuerpo monoclonal murino anti-IL-6. El reactivo que se agrega es fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) conjugada con un segundo anticuerpo policlonal de oveja anti-IL-6 en una solución tampon. La reacción es luminogénica por parte del sustrato, el cual es desfosforilado dando un anión intermedio que emitirá un fotón. La cantidad de luz es directamente proporcional a la cantidad de fosfatasa alcalina unida y se detecta en un fotomultiplicador (21).

En el análisis estadístico se utilizó la prueba U de Mann-Whitney en la comparación de los distintos parámetros en los dos grupos establecidos. Se determinó la sensibilidad y especificidad de estos parámetros utilizando como punto de corte 2 desviaciones estándar (DE) en relación a la normalidad establecida en un grupo control con las mismas técnicas analíticas (22). En relación a IL-6 también se utilizó un punto de corte establecido en la literatura especializada (20) y un corte óptimo según curva ROC. Para la RBN se consideró como punto de corte el establecido en la literatura de 0.2 (23).

RESULTADOS

Se incluyeron 34 recién nacidos, 12 del grupo de sepsis comprobada y 22 del grupo sin sepsis. Al analizar las distintas variables perinatales en los dos grupos en estudio se observa que no existen diferencias significativas entre ambos (TABLA 1).

En relación a las variables hematológicas y bioquímicas no se encontraron diferencias significativas para el recuento leucocitario. Con los dos puntos de corte citados se observa que la RBN posee una mayor sensibilidad que PCR, si bien esta prueba está sometida a la subjetividad del examinador y a errores aleatorios de muestreo. Tanto la RBN como la PCR mostraron una importante especificidad de 83.6% y 90.9% respectivamente. La utilización del punto de corte para IL-6 de 2 DE, si bien posee una sensibilidad del 100%, muestra una escasa especificidad. Hasta unos niveles de 50 pg/ml existe una sensibilidad del 100% con una especificidad creciente (TABLA 2). El punto óptimo de corte, 55 pg/ml, ofrece una sensibilidad del 91.6% y una especificidad del 77.2%. Finalmente niveles superiores a 75 pg/ml muestran una especificidad del 100%. El valor predictivo positivo para 55 pg/ml fue del 64.7% y el valor predictivo negativo del 94.1%.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) Ahued JR y col. Sepsis en: Normas y Procedimientos en Neonatología. Impresores Fernández. 2003:189-197
- 2) Mancilla J. Sepsis neonatal, en: PAC Neonatología-1, Asociación Mexicana de Infectología y Microbiología Clínica. Intersistemas S.A. de C.V. Ed. México. 1ª ed. 2004;7:467-480
- 3) Ortiz FJ. Avances en el diagnóstico y tratamiento de la sepsis neonatal. Rev Enf Inf Ped 2001;15(59):99-105
- 4) Mancilla J. Utilidad de las citocinas en el diagnóstico de sepsis neonatal. Medicina basada en evidencias. Bol Med Hosp. Infant Mex 2000;57(10):581-588
- 5) Polin RA. The "Ins and Outs" of neonatal sepsis. Journal of Pediatrics 2003;143(1):
- 6) Gerdes JS. Clinicopathologic approach to the diagnosis of neonatal sepsis. Clin Perinatol 1991;18(2):361-81
- 7) Gerdes JS. Diagnosis and management of bacterial infections in the neonate. Pediatric Clinics of North America 2004;51(4):
- 8) Ottolini MC, Lundgren K, Mirkinson L, et al. Utility of complete blood count and blood culture screening to diagnose neonatal sepsis in the asymptomatic at risk newborn. Pediatr Infect Dis J 2002;22:430-4.
- 9) Escobar GJ, De-kun L, Armstrong MA, et al. for the Neonatal Infection Study Group. Neonatal sepsis workups in infants ≥ 2000 grams at birth: a population-based study. Pediatrics 2000;106(2):256-63

- 10) Schelonka RL, Bradley YA, desJardins SE, et al. Peripheral leukocyte count and leukocyte indexes in healthy newborn term infants. *J Pediatr* 1994;125:603-6
- 11) Gabay C, Kushner I. Mechanisms of disease: acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N E J M* 1999;340:448-54
- 12) DuClos T. Function of C-reactive protein. *Ann Med* 2000;32:274-8
- 13) Benitz W, Han M, Madan A, et al. Serial serum C-reactive protein levels in the diagnosis of neonatal infection. *Pediatrics* 1998;102(4):e41
- 14) Madan A, Adams MM, Philip AG. Frequency and timing of symptoms in infants screened for sepsis: effectiveness of a sepsis-screening pathway. *Clin Pediatr* 2003;42(1):11-8
- 15) Chiesa C, Pellegrini G, Panero A, et al. C-Reactive protein, interleukin-6, and procalcitonin in the immediate postnatal period: influence of illness severity, risk status, antenatal and perinatal complications, and infection. *Clin Chem* 2003;49:51-9
- 16) Ainbender E, Cabatu E, Guzman D, et al. Serum C-reactive protein and problems of newborn infants. *J Pediatr* 1982;101:438-4
- 17) Philip A, Mills P. Use of C-reactive protein in minimizing antibiotic exposure: experience with infants initially admitted to a well-baby nursery. *Pediatrics* 2000;106(1):e4
- 18) Mancilla J. Ruptura prematura de membranas y parto pretérmino. I. Mediadores inflamatorios en la ruptura prematura de membranas. *Gac Med Mex* 1998;134:423-426
- 19) Matsuda T, Hirano T. IL-6. DOI : 10.1006/rwcy.2000.06001

- 20)Doellner H, Arntzen K, Haereid E, Aag S, Austgulen R. IL-6 concentrations in neonates evaluated for sepsis. J pediatr 1998;132:295-299
- 21)Instructions for the quantitative determination of human Interleukin 6 in plasma, serum, and culture supernatant fluids. Immunotech (MR)
- 22)Grasa UJM, Rite S, Grasa BJM, Marco A, Rite MS. Valores de referencia de (IL-6) y (FNTa) en recién nacidos sanos. An Esp Pediatr 2001;54:526-527
- 23)Philip AGS, Hewith JR. Early diagnosis of neonatal sepsis. Pediatrics 1980;65:1036-1041

	Grupo sepsis n=12	Grupo no sepsis n=22	p
Edad gestacional (semanas)	34.1 +-4.7	32.1+-3.4	0.14
Peso (kg)	2.3+-0.9	1.8+-0.9	0.11
Esteroides anteparto (%)	58.3	68.1	0.57
Apgar al primer minuto (%<5)	33.3	38.1	0.68
Apgar a los 5 minutos (%<7)	16.6	23.8	0.57
Reanimación avanzada (%)	25	40.9	0.36
Ventilación mecánica (%)	75	63.6	0.50
Mortalidad (%)	8.3	13.6	0.63

TABLA 1: Variables perinatales

IL-6 (pg/ml)	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
>17.86	100	40.9
>50	100	72.2
>55	91.6	77.2
>75	83.3	100

TABLA 2: Sensibilidad y especificidad